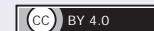


<https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-123-137>



ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К КЛИНИЧЕСКИМ ПРОЯВЛЕНИЯМ ОСТРОЙ ПЕРЕМЕЖАЮЩЕЙСЯ ПОРФИРИИ

Пшеничникова О. С.*, Гончарова М. В., Пустовойт Я. С., Карпова И. В., Сурин В. Л.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Острая перемежающаяся порфирия (ОПП) — наиболее распространенная и тяжело протекающая форма острых печеночных порфирий. ОПП обусловлена дефицитом третьего фермента системы биосинтеза гема — гидроксиметилбилан синтазы (HMBS) и имеет доминантный тип наследования, однако вероятность ее клинического проявления у носителей мутации в гене *HMBS* составляет лишь 10–20 %. Это позволяет предположить, что наличие такой мутации является необходимым, но недостаточным условием для развития заболевания.

Цель исследования: поиск дополнительных генетических факторов, предопределяющих клиническую пенетрантность ОПП, с использованием полноэкзомного секвенирования.

Материалы и методы. Секвенирование полного экзома было проведено с набором TruSeq Exome Library Prep kit (Illumina) на приборе Illumina HiSeq4000 для 6 женщин, больных ОПП, с известными мутациями в гене *HMBS*, у которых заболевание протекало в тяжелой форме. В качестве референсного использовали версию генома человека hg19.

Результаты. Общих мутаций у обследованных больных не выявлено, однако для каждой из них найдены функциональные вариации в генах, относящихся к системам детоксикации, регуляции каскада биосинтеза гема и экспрессии синтазы дельта-аминолевулиновой кислоты (*ALAS1*) и в генах белков-регуляторов нервной системы. Эти варианты требуют дальнейшего изучения на расширенных выборках больных с манифестацией ОПП и их родственников, являющихся бессимптомными носителями нарушений в гене *HMBS*.

Заключение. Полученные результаты позволили высказать гипотезу о возможной роли в пенетрантности ОПП генетических дефектов, определяющих развитие других неврологических патологий, о чем свидетельствует наличие у 5 из 6 обследованных больных патогенных вариаций в генах, дефекты в которых ассоциированы с наследственной миастенией и мышечной атрофией.

Ключевые слова: острая перемежающаяся порфирия, молекулярно-генетический анализ, наследственные заболевания, бессимптомное носительство

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: данное исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 17-04-01605.

Для цитирования: Пшеничникова О.С., Гончарова М.В., Пустовойт Я.С., Карпова И.В., Сурин В.Л. Пилотное исследование генетической предрасположенности к клиническим проявлениям острой перемежающейся порфирии. *Гематология и трансфузиология*. 2019; 64(2):123–137. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-123-137>

PILOT RESEARCH OF A GENETIC PREDISPOSITION FOR CLINICAL MANIFESTATIONS OF ACUTE INTERMITTENT PORPHYRIA

Pshenichnikova O. S.*, Goncharova M. V., Pustovoit Y. S., Karpova I. V., Surin V. L.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Acute intermittent porphyria (AIP) is the most common and severe form of acute hepatic porphyria. AIP is caused by a deficiency in the third enzyme of the heme biosynthesis system — hydroxymethylbilanin synthase (HMBS) — and has a dominant inheritance type. However, the probability of the clinical manifestation of this condition in carriers of the mutation in the *HMBS* gene constitutes only 10–20 %. This suggests that the presence of such a mutation can be a necessary but not a sufficient condition for the development of the disease.

Aim. To search for additional genetic factors, which determine the clinical penetrance of AIP using Whole-Exome Sequencing.

Materials and methods. Sequencing of the whole exome was performed using a TruSeqExomeLibraryPrepkit (Illumina) kit by an Illumina HiSeq4000 instrument for 6 women with AIP with known mutations in the *HMBS* gene. All the patients suffered from a severe form of the disease. As a reference, a version of the hg19 human genome was used.

Results. No common mutations were found in the examined patients. However, in each patient, functional variations were found in the genes related to detoxification systems, regulation of the heme biosynthesis cascade and expression of delta-aminolevulinic acid synthase (*ALAS1*) and in genes of proteins regulating nervous system. These variations require further study involving an extended number of patients with AIP manifestations and their relatives, who are asymptomatic carriers of disorders in the gene *HMBS*.

Conclusions. The results obtained have allowed us to formulate a hypothesis about a possible role of genetic defects in the penetrance of AIP, which determine the development of other neurological pathologies. This is evidenced by the presence of gene pathogenic variations in 5 out of 6 examined patients, defects in which are associated with hereditary myasthenia and muscle atrophy.

Keywords: acute intermittent porphyria, molecular genetic analysis, hereditary diseases, asymptomatic carriage

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study was supported by the RFBR grant No. 17-04-01605.

For citation: Pshenichnikova O. S., Goncharova M. V., Pustovoit Y. S., Karpova I. V., Surin V. L. Pilot research of a genetic predisposition for clinical manifestations of acute intermittent porphyria. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2019; 64(2):123–137 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-123-137>

Введение

Гем выступает в качестве простетической группы для многочисленных гем-содержащих белков, включающих цитохромы, каталазы, синтазу оксида азота, гемоглобин и миоглобин, и участвует в многочисленных регуляторных системах, управляющих процессами транскрипции, трансляции, процессинга микроРНК и циркадными ритмами [1–4]. Избыток гема и его предшественников приводит к образованию реактивных форм кислорода. Биосинтез гема в эукариотических организмах осуществляется в 8 стадий, и нарушения в любом из участвующих в них ферментов приводят к развитию различных вариантов порфирии, обусловленных накоплением в организме токсичных предшественников гема. Острая перемежающаяся порфирия (ОПП) связана с дефицитом третьего фермента биосинтеза гема — гидроксиметилбилан синтазы (HMBS), или другое название — порфобилиноген дезаминазы (PBGD) [5, 6]. Заболевание имеет приступообразное течение, сопровождающееся прогрессирующим поражением нервной системы, что обусловлено воздействием токсичных порфириновых предшественников (δ -аминолевулиновой кислоты и порфобилиногена) на висцеральную, периферическую, автономную и центральную нервную системы (ЦНС). Приступ проявляется болями в животе, тошнотой, рвотой, тахикардией и гипертонией. Нарушения ЦНС проявляются в виде тревожности, бессонницы, галлюцинаций, депрессии, паранойи, дезориентации. Периферическая невралгия вызывает боль и слабость и может прогрессировать до тетрапареза и затруднения дыхания [7–10]. К факторам, провоцирующим развитие приступа, относятся лекарственные препараты (барбитураты, антиконвульсанты, рифампицин и сульфаниламидные антибиотики), лютеальная фаза менструального цикла, гормональные контрацептивы, голодание и низкокалорийная диета, алкоголь, стресс, инфекции и др. [8, 9, 11]. Все провоцирующие экзогенные и эндогенные факторы стимулируют экспрессию синтазы дельта-аминолевулиновой кислоты (ALAS1), стартового фермента цикла биосинтеза гема [2, 4].

ОПП имеет доминантный тип наследования, и почти все больные являются гетерозиготными носителями патогенного варианта в гене *HMBS*. Этот ген расположен на хромосоме 11 (11q24.1–24.2) и имеет длину около 10 000 п. н., из которых 1300 п. н. представляют собой кодирующую часть, состоящую из 15 экзонов. Белок HMBS имеет две изоформы, одна экспрессируется только в эритроидных клетках, а другая повсеместно [12]. Эти изоформы кодируются двумя независимыми мРНК, транскрибирующимися с разных промоторов одного гена. В настоящее время в разных странах зафиксировано свыше 400 мутаций в гене *HMBS* [13, 14] (база данных HGMD: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>).

Однако далеко не все носители патогенных вариантов в этом гене имеют клинические проявления заболевания. В большинстве стран пенетрантность составляет 10–20 % [8, 13, 15]. В ходе наших многолетних исследований и в работах зарубежных лабораторий [13, 14, 17, 18] ассоциации между типом мутации в гене *HMBS* и проявлением заболевания выявлено не было. Высказывалось предположение о том, что пенетрантность ОПП может определяться сочетанием патологической мутации в одном из аллелей гена *HMBS* с гипоморфным аллелем (аллелем «дикого типа» этого гена со сниженной экспрессией фермента [19]. Такая взаимосвязь была выявлена для эритропоэтической протопорфирии, при которой найдена очевидная корреляция между клиническим фенотипом и сочетанием мутантного и слабоэкспрессирующегося аллелей гена феррохелатазы. Аллель «дикого типа» со сниженной экспрессией был найден также для копропорфириногенаоксидазы. Однако авторы данного исследования не нашли подобной связи для ОПП [19]. В настоящей работе, в которой была определена полная первичная структура гена *HMBS* для двух больных ОПП, также не было найдено гипоморфных аллельных вариантов, сочетание которых с мутантным аллелем могло бы определять клинические проявления заболевания [17]. Таким образом, более вероятной выглядит гипотеза о существовании дополнительных генетических детерминант пенетрантности ОПП [13, 14, 16, 17]. О наличии генетической предрасположенности к клиническому проявлению ОПП свидетельствует схожесть картины заболевания (возраст при первой манифестации, периодичность и тяжесть приступов, симптоматика) у женщин-близнецов [18].

В нашем предыдущем исследовании [20] были выборочно изучены гены различных метаболических и регуляторных систем (всего 24 гена, в том числе гены систем детоксикации), нарушения в которых могут приводить к клиническому проявлению ОПП. Работа была основана на поиске различий в частотах встречаемости полиморфных аллельных вариантов этих генов в группах больных и бессимптомных носителей. Предположительная ассоциация с клиническим проявлением заболевания была показана только для глутатионтрансфераз (GSTT, GSTM), сочетание гомозиготности по нулевым делеционным вариантам которых выявлялось только у больных и ни разу не встретилось у пожилых бессимптомных носителей мутации в гене *HMBS* [20].

Целью данного исследования был поиск дополнительных генетических факторов, определяющих клиническую пенетрантность ОПП, с использованием современной технологии высокопроизводительного секвенирования (next-generation sequencing, NGS).

Материалы и методы

Данная работа является пилотным исследованием, так как для изучения молекулярно-генетических основ порфирий технология NGS до сих пор не применялась.

Больные

Для проведения секвенирования полного экзона (Whole Exome Sequencing, WES) были отобраны образцы ДНК 6 женщин, больных ОПП, с известными мутациями в гене *HMBS*, у которых заболевание протекало в тяжелой форме с неоднократными приступами. От всех больных получено добровольное информированное согласие на обработку и публикацию данных молекулярно-генетического исследования на условиях анонимности. Научная тема, в рамках которой проводилась данная работа, одобрена локальным этическим комитетом ФГБУ НМИЦ гематологии Минздрава России.

Выделение ДНК и установление мутаций в гене *HMBS*

ДНК выделяли из ядерных клеток периферической крови после селективного лизиса эритроцитов в 0,8 % растворе хлорида аммония по стандартной методике, включающей обработку додецилсульфатом натрия (0,5 %) и протеиназой К (200 мкг/мл) в течение ночи при 37 °С или 2 часов при 65 °С с последующей фенол-хлороформной экстракцией.

Концентрацию выделенной ДНК определяли на спектрофотометре Ultrospec 3000 (Pharmacia Biotech), чистоту контролировали по отношению поглощения света 260/280 нм. ДНК всех выбранных для исследования больных подходила по качеству для NGS.

Ранее для всех исследуемых больных амплифицировали и секвенировали по методу Сэнгера все функционально значимые участки гена *HMBS*: 5'-UTR, 3'-UTR, 15 экзонов с прилегающими достаточно протяженными интронными участками. У каждой больной были выявлены следующие патогенные варианты (нумерация аминокислот начинается со стартового кодона (+1 позиция), в качестве референсной последовательности использованы NG_008093.1 для геномных позиций и NP_000181.2 для нумерации кДНК):

- Пп442: с.53delT (p.Met18Argfs*3);
- Пп530: с.575G>A (p.Gly192Asp) (SIFT: 0,912 D; PolyPhen-2: 0,899 D; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,931 D);
- Пп533: с.652G>T (p.Gly218Trp) (SIFT: 0,912 D; PolyPhen-2: 0,899 D; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,728 D);
- Пп537: с.731T>C (p.Leu244Pro) (SIFT: 0,142 T; PolyPhen-2: 0,116 B; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,506 N);
- Пп570: с.436_437AG>CC (p.Ser146Pro) (SIFT: 0,912 D; PolyPhen-2: 0,899 D; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,8 D);
- Пп597: с.448C>T (p.Arg149X).

Используемая номенклатура генетических вариантов соответствует рекомендациям HGVS вер. 15.11 (<http://varnomen.hgvs.org/>).

Полноэкзомное секвенирование (whole exome sequencing — WES) и биоинформатическая обработка

Полный экзом секвенировали в лаборатории российской инновационной биотехнологической компании «Евроген» (Москва) с набором TruSeq Exome Library Prep kit (Illumina) на приборе Illumina HiSeq4000 с длиной прочтения 2x75 пн. В результате мы получили 777 млн прочтений отличного качества. Более 99 % прочтений прошли фильтрацию по качеству, длине и были использованы в работе (от 104 млн до 144 млн для каждого образца).

В качестве референсного использовали версию генома человека hg19. Картирование прочтений проводилось в программе bwa mem, эффективность картирования была более 99 %. Варианты, отличающиеся от референсного, детектировались с помощью программы GATK для каждого образца отдельно с перекалибровкой на известные варианты базы dbSNP138_hg19. Весь полученный массив данных был использован для дальнейшей биоинформатической обработки.

Первая часть анализа была основана на функциональном подходе, при котором выполнена попытка выявить для больных с манифестировавшим заболеванием общие функциональные полиморфизмы в генах, продукты экспрессии которых участвуют в метаболизме гема или в регуляции этого процесса.

Во второй части исследования был проведен поиск патогенных вариантов. При этом учитывали только генетические варианты, не зарегистрированные в базах данных SNP. Среди вариаций учитывали stopgain, frameshift, 5-UTR (ближняя область до позиции около -200), nonframe, нарушение сплайсинга и несинонимичные замены. Из несинонимичных замен оставили только те, которые идентифицировались как патогенные четырьмя программами анализа белковых структур, наиболее часто используемыми для характеристики влияния генных дефектов (SIFT [21], PolyPhen-2 [22], MutationTaster [23], Provean [24]). Оставшиеся после такой фильтрации варианты с наибольшей вероятностью могут рассматриваться как патогенные варианты. На последнем этапе анализа к найденным патогенным вариантам добавили SNP в тех же генах, зарегистрированных в базах данных, но с очень низкой частотой встречаемости.

Результаты

В среднем для каждой из 6 больных ОПП было получено около 37 000 различных вариантов, отличающихся от референсной геномной последовательности.

В первую очередь рассмотрели вариации в генах, которые на основании функций кодируемых ими

Таблица 1. Функциональные полиморфизмы, выявленные у больных ОПП, и их частота встречаемости (f) в мировой популяции
Table 1. Functional polymorphisms, detected in API patients, and their occurrence frequency (f) in the global population

Ген Gene	Генный вариант Gene variant	rs	f	Пп442 Pp442	Пп530 Pp530	Пп533 Pp533	Пп537 Pp537	Пп570 Pp570	Пп597 Pp597
LONP1	NM_001276480:c.G134A:p.Arg-45Gln	11085147	0,06	V/N	V/N	V/N	N/N	N/N	N/N
	NM_001276480:c.G2143A:p.Val715Ile	1062373	0,02	N/N	N/N	N/N	V/N	N/N	N/N
HNF4G	NM_004133:c.G86A:p.Ser29Asn	2943549	0,44	V/N	V/N	V/V	V/N	N/N	V/V
	NM_004133:c.G681A:p.Met227Ile	1805098	0,44	V/N	V/N	V/V	V/N	N/N	V/V
HNF4A	NM_000457:c.G505A:p.Val169Ile	142204928	0,002	N/N	N/N	V/N	N/N	N/N	N/N
PPARGC1A	NM_013261:c.G1444A:p.Gly482Ser	8192678	0,43	V/N	V/N	N/N	V/N	N/N	V/N
CYP1B1	NM_000104:c.G1294C:p.Val432Leu	1056836	0,4	V/V	V/N	V/V	V/V	V/V	V/N
CYP2B6	NM_000767:c.G516T:p.Gln172His	3745274	0,27	V/N	V/V	V/N	N/N	N/N	N/N
CYP2C9	NM_000771:c.A1075C:p.Ile359Leu	1057910	0,06	V/N	N/N	N/N	N/N	V/N	V/N
CYP2D6	NM_000106:c.C100T:p.Pro34Ser	1065852	0,2	N/N	V/N	N/N	N/N	N/N	N/N
CYP2D6	NM_001025161:c.C1304G:p.Thr435Ser	1135840	0,4	N/N	V/N	V/N	V/N	V/N	V/N
CYP2D6	NM_001025161:c.T733C:p.Cys245Arg	16947	0,3	N/N	V/N	V/N	V/N	V/N	V/N
CYP4F2	NM_001082:c.G1297A:p.Val-433Met	2108622	0,3	V/V	V/N	N/N	N/N	V/N	N/N
CYP4F11	NM_021187:c.*4T>C	1060467	0,3	N/N	N/N	V/N	N/N	N/N	V/N

Примечание. V — генный вариант, N — норма (референсный геном человека hg19), V/N — гетерозигота по варианту, V/V — гомозигота по варианту, N/N — гомозигота по норме.

Note. V — gene variant, N — norm (reference human genome hg19), V/N — variant heterozygote, V/V — variant homozygote, N/N — normal homozygote.

белков были выбраны в качестве кандидатных и частично исследовались ранее, но только точно по отдельным полиморфизмам. На наличие мутаций или редких полиморфных вариаций были проанализированы гены, относящиеся к системам детоксикации, регуляции каскада биосинтеза гема и экспрессии *ALAS1*. Ни в одном из генов не выявлено вариаций, которые можно было бы с большой вероятностью отнести к мутациям, но для ряда генов у двух и более больных были найдены достаточно редкие функциональные (гипоморфные) аллельные варианты (табл. 1).

Полноэкзомное секвенирование выявило у каждой больной около 275–309 (в среднем 290) генных вариантов, не зарегистрированных в базах данных SNP. У каждой больной эти варианты приходились на 177–227 (в среднем на 200) различных генов, в сумме в общей выборке генные дефекты такого типа были найдены в 970 генах.

Полученные после жесткой фильтрации генные варианты (не зарегистрированные в базах данных по SNP и определяемые протеомными программами как патогенные) приведены в таблице 2. Следует учи-

тывать, что результаты, получаемые при помощи этих аналитических программ, достаточно часто противоречат друг другу, что отмечалось и другими исследователями [25–27]. Например, в таблицу вошли только 5 из 6 вариантов в гене *HMB5*, найденных ранее с использованием секвенирования по методу Сэнгера. Мутация c.731T>C (p.Leu244Pro) (Пп537) признана патогенной только программой MutationTaster, хотя у данной больной она была единственным отличием от референсной последовательности.

Для оставшихся после жесткой фильтрации вариантов был проведен функциональный анализ (табл. 2), который начали с генов, вариации которых встретились у нескольких больных. Далее оценивали возможную причастность к клиническому проявлению ОПП дефектов в остальных генах, основываясь на известных функциях кодируемых ими белков и характере связанных с ними наследственных патологий. У 4 больных была найдена одна и та же инсерция — NM_001007026:c.1461_1462insCAG:p.Gln487delinsGlnGln в гене атрофина 1 (*ATN1*). Патогенные нарушения в этом гене вызывают нейродегенеративное наследственное заболевание — дентато-

Таблица 2. Результаты фильтрации данных WES

Table 2. WES data filtering results

Хромосома Chromosome	Пн442 Pp442	Пн530 Pp530	Пн533 Pp533	Пн537 Pp537	Пн570 Pp570	Пн597 Pp597
1	PTBP2	CCDC17	PRKCZ	PLEKHN1	CLCN6	GRHL3
	TOR3A	MIER1	POU3F1	CFAP57	HHAT	SHCBP1L
	RRP15	SPAG17		OTUD7B		PLEKHA6
	TMEM63A	LIN9		ARNT		LIN9
				ALDH9A1		
2	ADCY3	MSH6	LRP2	TMEM214	UGT1A4	ARL5A
	VIT	<u>ALMS1*</u>	HOXD4	<u>ALMS1</u>		COL4A3
	PNPT1	KCNIP3	ACSL3	TRABD2A		
	NCK2	PPIG	PASK	TMEM87B		
	CYP27C1					
	ZNF385B					
3	MST1	KIF9	FRMD4B			SLC38A3
	KIAA2018		VWA5B2			
			FAM131A			
4	UGT2A3	CPZ	DOK7**	TMEM33	MAN2B2	CWH43
		CPEB2	ABLIM2		NCAPG	FRG1
		SYNPO2			NOA1	
5	SREK1IP1	FBXO38	RANBP17			DNAH5
		LCP2				CDH12
						RUFY1
6	DCDC2	NQO2		<u>ATXN1</u>	<u>ATXN1</u>	HIST1H1A
	CDSN	<u>ATXN1</u>		HIST1H3J	MAPK13	SMLR1
	MTCH1	C6orf226		DNAH8	GPR6	SMOC2
		ADGB			IGF2R	TBP
					LPA	
7	SSPO	ZNF679	POR		UBE2D4	SLC13A1
		PTPRN2				
8			WRN	AP3M2		
			YTHDF3			
9	UBAP2	CNTLN	UNC13B	CORO2A	DNAJC25	
	OMD	MAMDC2	GSN	POMT1	CCDC183	
		SLC27A4				
10	<u>AGAP6</u>	FAM208B	UNC5B	ZEB1	CUBN	LOXL4
		P4HA1	NOLC1	<u>AGAP6</u>		
			PLEKHA1	C10orf12		
			TUBGCP2			
11	CYP2R1	IFITM10	TM7SF2	OR10A3	ANO9	AP2A2
	MS4A6A	DNHD1	ALG8		VPS51	GLYATL1
	HMBS	PHLDB1	HMBS		ALG8	HMBS
		HMBS	ACAD8		TRIM77	
12					HMBS	
	PWP1	<u>ATN1</u>	<u>ATN1</u>	WNK1	BCL2L14	<u>ATN1</u>
	TCHP	CELA1	ISCU	<u>ATN1</u>	PUS7L	ARNTL2
	CCDC60	ALDH1L2		FBXW8		SP1
	CAMKK2	EP400		B3GNT4		DIABLO
	NCOR2					LRCOL1
	EP400					

Продолжение таблицы 2 на с. 129

Продолжение таблицы 2

Хромосома Chromosome	Пп442 Pp442	Пп530 Pp530	Пп533 Pp533	Пп537 Pp537	Пп570 Pp570	Пп597 Pp597
13				KATNAL1	WASF3	
				MYCBP2	NUFIP1	
					PIBF1	
14	SNX6	SERPINA4		CFL2	PNN	CMA1
	EXOC5				SERPINA9	ALDH6A1
15	TTBK2	RYS3		NIPA2	GOLGA6L2	TRIM69
				TYRO3	HERC2	DNAJA4
					IGDCC4	WDR61
					THSD4	
					MEF2A	
16	TMEM170A	RPL3L	ABCC11	CETP		SSTR5
		NOXO1	MLKL	CDH3		PRSS41
		C16orf82				HSF4
		HSDL1				PRDM7
17	SMTNL2	B9D1	TMEM11	MPP2	KRTAP4-6	RAI1
	PELP1	<u>MYADML2</u>	EFCAB5			
	ABCC3		HNF1B			
	ACTG1		VEZF1			
	<u>MYADML2</u>					
18					SERPINB5	
19	DPP9-AS1	APBA3	MAST3	CREB3L3	PRDX2	STX10
		ANKLE1	ZNF792	CAPN12	MYO9B	RASAL3
		RNF225	NFKB1B	TTYH1	ZNF816	PHLDB3
			KLK8			POLD1
20	TUBB1	SLC24A3				CSE1L
						FAM65C
21		PCNT				C21orf91
22	LZTR1		MN1			HIRA
	MFNG					LOC391322
	APOBEC3D					MKL1
	TRMU					PANX2
X		TAF9B				SUPT20HL2
Всего Total	45	47	38	36	37	48

Примечание. Подчеркиванием отмечены гены, вариации в которых найдены у 2 и более больных.

Жирным шрифтом отмечены патогенные варианты генов, которые могут быть связаны с клиническим проявлением ОПП.

Note. Underline denotes genes with variations found in 2 or more patients.

Pathogenic gene variants, which can be associated with the clinical manifestation of AIP are marked in bold.

рубро-паллидолюисову атрофию, ассоциированную с экспансией CAG-повтора в гене *ATNI* и симптоматически отчасти сходную с ОПП (полинейропатия, выражающаяся в спинально-мышечной атаксии, эпилепсии, деменции) [28, 29]. Патология проявляется при увеличении числа триплетов CAG до 49–88 при норме в менее чем 36. Наблюдающееся в данном исследовании отличие от референсной последовательности всего на один мотив CAG свидетельствует о том, что в данном случае имеет место не мутация, а обычный полиморфизм. Такой же вывод можно сделать на основании анализа вариации NM_001128164:

c.626_627insGCA:p.His209delinsGlnHis (CAG) в гене *ATXN1* (атаксин 1), встретившуюся у 3 больных, дефекты которого приводят к аутосомной доминантной церебральной атаксии [30]. Среди генов, вариации которых обнаружены у 2 больных (*LIN9*, *ALMS1*, *AGAP6*, *ALG8*, *MYADML2*), на основании анализа функций, кодируемых ими белков и ассоциации с наследственными патологиями только ген альфа-1,3-глюкозилтрансферазы (*ALG8*), участвующей в гликозилировании белков, с определенными оговорками, может рассматриваться как кандидатный, поскольку его дефекты также связаны с целым рядом нейродегенеративных

наследственных заболеваний, некоторые из которых по своей симптоматике отчасти сходны с ОПП [31].

Далее проанализировали вариации для всех известных на данный момент генов (31), нарушения в которых ассоциируются с развитием наследственного миастенического синдрома (НМС) [32], однако в большинстве этих генов отличий от референсного генома не было или же были отмечены часто встречающиеся в мировой популяции варианты. Выявленные в этих генах патогенные варианты приведены в таблице 3. В этой таблице приведены также данные по редким аллелям генов — регуляторов нервной системы, которые могут быть гипоморфными, т.е. иметь сниженную активность. В целом, патогенные варианты генов, нарушения в которых могут ассоциироваться с нейродегенеративными заболеваниями, обнаружены у 5 из 6 больных, а редкие гипоморфные аллели — у всех 6 больных.

Обсуждение

Функциональный анализ вариаций в генах, продукты которых участвуют в метаболизме гема

Клинические проявления ОПП обусловлены воздействием предшественников гема, которые накапливаются в организме и не успевают выводиться из него [7–10]. Это может быть связано с тем, что синтезируется слишком большое количество продукта на стадиях, предшествующих работе гидроксиметилбилин синтазы, то есть в результате чрезмерной активности синтазы или дегидратазы δ -аминолевулиновой кислоты, и/или происходят нарушения в процессе деградации гема. Показано, что экзогенные и эндогенные факторы, провоцирующие развитие острого приступа, стимулируют экспрессию *ALAS1* и *ароCYP*, являясь лигандами для целого ряда транскрипционных факторов и их медиаторов [2, 4, 33–38]. Неконтролируемая индукция *ALAS1* в сочетании с дефицитом ферментов последующих стадий биосинтеза гема может приводить к созданию избыточного пула токсичных порфириновых предшественников и клиническому проявлению заболевания. Таким образом, именно *ALAS1* является основной потенциальной мишенью, которую рассматривают в качестве провокатора манифестации ОПП и других острых порфирий. В связи с этим на первом этапе были проанализированы вариации в гене *ALAS1* и в генах, кодирующих другие ферменты биосинтеза гема (*ALAD*, *UROD*, *FECH*, *PPOX*, *CPOX*), а также ферменты, участвующие в деградации гема, к которым относятся *HMOX1* и *HMOX2*, кодирующие гемоксигеназы 1 и 2 [7], *LONP1*, *CLPX* и *CLPP*, кодирующие митохондриальные АТФ-зависимые протеазы [4, 39]. В ходе широкомасштабного анализа экспрессии генов были найдены еще 5 потенциальных участников биосинтеза

гема — три гена (*SLC25A39*, *SLC22A4* и *TMEM14C*), кодирующие предполагаемые митохондриальные транспортеры, и два гена (*Clorf69* и *ISCA1*), кодирующие белки Fe-S кластеров [36]. Эти гены также проверяли на наличие вариаций.

В гене *ALAS1* ни у одной из 6 больных ОПП не было выявлено вариаций. У одной из исследованных больных (Пп537) был выявлен вариант в гене *ALAD* (несинонимичная замена NM_000031:c.T574G:p.Ser192Ala, (SIFT: 0,022 T; PolyPhen-2: 0,208 B; MutationTaster: 0,81 D; Provean: 0,249 N) в гетерозиготном состоянии. Такое двойное нарушение в цикле биосинтеза гема теоретически могло бы иметь прямо противоположные последствия. С одной стороны, дополнительный дефект во второй стадии цикла может в определенных условиях спровоцировать клиническое проявление ОПП, а с другой — наоборот, послужить защитным механизмом за счет снижения нагрузки на третью стадию цикла. У больной есть родные брат и сестра, оба старше 30 лет, также являющиеся носителями нарушений в генах *HMBBS* и *ALAD*, но у них никаких проявлений заболевания до сих пор не было, у самой же больной ОПП манифестировала в 21 год. Из чего следует, что дополнительное нарушение в гене *ALAD* вряд ли оказывает существенное влияние на пенетрантность ОПП.

Вариаций в генах *HMOX1* и *HMOX2*, а также в генах, кодирующих субъединицы ClpXP, ни у одной из 6 больных выявлено не было. Зато у трех из них (Пп442, Пп530 и Пп533) в гене *LONP1* была найдена редкая ($f = 0,06$) несинонимичная замена rs11085147 (NM_001276480:c.G134A:p.Arg45Gln, табл. 1), и у одной (Пп537) — еще более редкая ($f = 0,02$) замена rs1062373 (NM_001276480:c.G2143A:p.Val715Ile, табл. 1). Обе эти замены могли бы оказаться функциональными. Однако по результатам дальнейшего исследования на выборке еще из 20 больных ОПП редкий вариант rs11085147 был выявлен только у одного больного, то есть частота его встречаемости среди больных оказалась такой же, как и в мировой популяции. Вторым вариантом (rs1062373) в настоящее время исследуется.

В генах, кодирующих предполагаемые митохондриальные транспортеры (*SLC25A39*, *SLC22A4* и *TMEM14C*) и белки Fe-S кластеров (*Clorf69* и *ISCA1*), ни у одной больных функционально значимых замен не выявили.

Индукция *ALAS1* происходит в ответ на необходимость в геме для формирования гемопротейнов и, среди прочих, цитохромов P450 (CYPs), вовлеченных в первую и вторую фазы метаболизма ксенобиотиков, и опосредована несколькими транскрипционными факторами, которые активируются, связываясь с ксенобиотиками или гормональными стероидами [33, 35, 40–42]. У человека индуцированная ксенобиотиками транскрипционная активация генов *ALAS1* и *CYPs* при метаболизме более 50 % лекарств опосредована ядерными рецеп-

Таблица 3. Характеристика вариаций в генах, продукты которых участвуют в регуляции нервной системы и могут влиять на пенетрантность ОПП
Table 3. Characteristics of gene variations, which products are involved in the regulation of the nervous system and may affect the penetrance of AIP

Больная Patient	Ген Gene	Вариант Variant	SIFT	PolyPhen-2	MutationTaster	Provean
Патогенные варианты <i>Pathogenic variants</i>						
Пп597 Pp597	UNC13A	NM_001080421:c.C1375G: p.Arg459Gly	0,44 D*	0,335 B	0,358 D	0,559 D
Пп533 Pp533	DOK7	NM_001164673:c.C139T: p.Arg47Cys	0,784 D	0,899 D	0,422 D	0,941 D
Пп537 Pp537	AGRN	NM_198576:c.G3598A: p.Val1200Ile	0,092 T	0,373 P	0,322 D	0,084 N
Пп533 Pp533	SCN4A	NM_000334:c.C286T: p.Leu96Phe	0,784 D	0,564 D	0,317 N	0,611 D
Пп570 Pp570	ALG8	NM_001007027:c.350_351del: p.Phe117fs	N/A	N/A	N/A	N/A
Пп533 Pp533		NM_001007027:c.T199A: p.Tyr67Asn	0,912 D	0,899 D	0,81 D	0,98 D
Пп530 Pp530	FBXO38	NM_001271723:c.G2261A: p.Arg754His	0,912 D	0,899 D	0,81 D	0,745 D
SNP						
Пп570 Pp570	ALG8	rs61995925 (f = 0,02) NM_001007027:c.G803A: p.Arg268Gln	0,912 D	0,899 D	0,81 D	0,73 D
Пп537 Pp537	DOK7	rs62272670 (f = 0,004) NM_001164673:c.C134T: p.Ser45Leu	0,053 T	0,326 B	0,09 N	0,693 D
Пп570 Pp570		rs191800156 (f = 0,021) NM_173660:c.-6 C>G	N/A	N/A	N/A	N/A
Пп533 Pp533	CHAT	rs8178990 (f = 0,071) NM_001142929:c.C373T: p.Leu125Phe	0,721 D	0,742 P	0,468 D	0,663 D
Пп537 Pp537						
Пп442 Pp442	MYO9A	rs2306575 (f = 0,029) NM_006901:c.C5415G: p.His1805Gln	0,1 T	0,133 B	0,231 P	0,41 N
Пп530 Pp530		rs55738821 (f = 0,036) NM_006901:c.T4084C: p.Ser1362Pro	0,187 T	0,013 B	0,202 N	0,1 N
		rs148435644 (f = 0,03) NM_006901:c.C5912T: p.Ser1971Leu	0,12 T	0,013 B	0,09 N	0,02 N
Пп442 Pp442	COLQ	rs6782980 (f = 0,012) NM_080539:c.A832G: p.Ser278Gly	0,2 T	0,104 B	0,231 P	0,06 N
Пп597 Pp597		rs58156300 (f = 0,064) NM_080538:c.-54A>C	N/A	N/A	N/A	N/A
		rs73033051 (f = 0,063) NM_080539:c.-46G>A	N/A	N/A	N/A	N/A
Пп597 Pp597	LAMA5	rs79319629 (f = 0,03) NM_005560:c.A2435C: p.Lys812Thr	0,555 D	0,728 D	0,444 D	0,632 D
Пп533 Pp533		rs148169370 (f = 0,019) NM_005560:c.G7462A: p.Ala2488Thr	0,912 D	0,899 D	0,81 D	0,585 D
Пп570 Pp570		rs34000043 (f = 0,014) NM_005560:c.C5035T: p.Arg1679Trp	0,654 D	0,689 D	0,09 N	0,626 D
Пп533 Pp533	AGRN	rs143324306 (f = 0,004) NM_198576:c.G1993A: p.Glu665Lys	0,129 T	0,679 D	0,548 D	0,518 N
Пп533 Pp533		rs113288277 (f = 0,04) NM_198576:c.A2183T: p.Glu728Val	0,433D	0,754 D	0,81 D	0,721 D
Пп570 Pp570						
Пп442 Pp442	LRP4	rs118009068 (f = 0,023) NM_002334:c.C1117T: p.Arg373Trp	0,395 D	0,764 D	0,588 D	0,393 N

Примечание. Жирным шрифтом отмечены патогенные индексы протеомных программ.
 Note. Pathogenic indices of the proteomic programs are marked in bold.

торами CAR (constitutively androstane receptor) и PXR (pregnane xenobiotic receptor). Медиаторами для PXR/CAR-индуцированной транскрипции *ALAS1* могут выступать отвечающий на сигналы гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы глюкокортикоидный рецептор (glucocorticoid receptor, GR), HNF4 (hepatocyte nuclear factor 4), инсулин-зависимый транскрипционный фактор FOXO (Forkhead box class O) и неинсулин-зависимый транскрипционный фактор PGC-1 α , активируемый глюкоагоном [33]. Внешние и внутренние факторы, вызывающие приступы ОПП, могут запустить один из четырех описанных выше путей воздействия на *ALAS1* посредством активации системы CAR/PXR или несколько одновременно.

Все выявленные у больных замены в генах, кодирующих RXR (гены *RXRA*, *RXRB*, *RXRG*), FOXO1 (ген *FOXO1*), CAR (ген *NR1H5*), PXR (ген *NR1H2*), GR (ген *NR3C1*), NRF1 (ген *NRF1*), были интронными или синонимичными. У 5 больных в гене, кодирующем γ -субъединицу HNF4 (*HNF4G*), были выявлены две однонуклеотидные несинонимичные замены rs2943549 (NM_004133:c.G86A:p.Ser29Asn, табл. 1) и rs1805098 (NM_004133:c.G681A:p.Met227Ile, табл. 1), но они встречаются с частотой около 44 % и среди здоровой популяции и аналитическими программами как патогенные не определяются.

В гене, кодирующем α -субъединицу HNF4 (*HNF4A*), у больной (Пп533) был выявлен очень редкий ($f = 0,002$) вариант rs142204928 (NM_000457:c.G505A:p.Val169Ile, табл. 1), который может быть ассоциирован с сахарным диабетом 2-го типа. У 4 больных в гене, кодирующем PGC-1 α (*PPARGC1A*), был выявлен распространенный ($f = 0,43$) вариант rs8192678 (NM_013261:c.G1444A:p.Gly482Ser, табл. 1) являющийся, по всей вероятности, нейтральным.

ALAS1 также играет важную роль в биосинтезе стероидных гормонов, в частности, участвует в продукции прогестерона в стероидогенных клетках [38], что могло бы объяснять тот факт, что стресс, применение оральных контрацептивов и лютеальная фаза менструального цикла часто являются факторами, провоцирующими развитие приступа при острых порфириях. В стероидогенных тканях в регуляции *ALAS1* участвуют рецепторы SF-1 (orphan nuclear receptor steroidogenic factor 1) и LRH-1 (liver receptor homolog 1) [38]. Был проведен поиск вариаций в генах *NR5A1*, кодирующем SF-1, и *NR5A2*, кодирующем LRH-1, однако все они находились в интронных или межгенных областях.

Как отмечалось выше, экспрессия *ALAS1* тесно связана с работой цитохромов P450 (CYPs), вовлеченных в первую и вторую фазы метаболизма ксенобиотиков, в состав которых входит гем [33, 43, 44]. Нарушения экспрессии и активности этих белков могут приводить к менее эффективному метаболизму ксенобиотиков, что, в свою очередь, будет стимулировать экспрессию

ALAS1. Анализ генов, кодирующих CYPs у включенных в данное исследование больных, не выявил нарушений в одном из самых представленных в пуле печеночных гемопротеинов человека [43, 44] — *CYP3A4*, отвечающем за метаболизм более 60 % применяемых препаратов [45]. Однако среди других подтипов были выявлены однонуклеотидные замены, которые, возможно, являются функциональными. У всех 6 больных был выявлен часто встречающийся в европейской популяции ($f = 0,4$) вариант rs1056836 (NM_000104:c.G1294C:p.Val432Leu, табл. 1) в гене *CYP1B1*, кодирующем белок, отвечающий за метаболизм эйкозаноидов, эстрогена и чужеродных химических соединений [45], причем у 4 больных (Пп442, Пп533, Пп537, Пп570) он был выявлен в гомозиготном состоянии, что существенно превышает ожидаемую частоту подобного события. Ранее было показано, что данный аллель, особенно в гомозиготном состоянии, связан с меньшей восприимчивостью к ряду лекарственных препаратов [46]. В гене, кодирующем *CYP2B6*, который отвечает за метаболизм эйкозаноидов, лекарств и чужеродных химических соединений [45] и, в частности, участвует в метаболизме барбитуратов и взаимодействует с ядерными рецепторами CAR и PXR [47], у 3 больных (Пп442, Пп530, Пп533) был выявлен вариант rs3745274 (NM_000767:c.G516T:p.Gln172His, табл. 1). Он встречается с частотой 15–60 % в разных популяциях и связан со снижением экспрессии белка на 50–75 % [48–50]. У одной больной (Пп530) этот вариант был в гомозиготной форме. У 3 больных (Пп442, Пп570, Пп597) выявили вариант rs1057910 (NM_000771:c.A1075C:p.Ile359Leu, табл. 1) ($f = 0,06$) в гене, кодирующем *CYP2C9*, который отвечает за метаболизм эйкозаноидов, лекарств и чужеродных химических соединений [45, 49]. Его максимальная индукция требует задействования одновременно сайта связывания CAR/PXR и HNF4 α за счет участия мегакомплекса из кофакторов, связанных с HNF4 α , в том числе PGC-1 α , SRC-1 и NCOA6 [47, 51]. Выявленный вариант встречается в мировой популяции с частотой около 6 % и снижает активность белка до 70 % в зависимости от субстрата и ниже в случае гомозиготного состояния [47], однако среди обследованных больных он был только в гетерозиготном состоянии. Более того, на расширенной выборке больных ОПП было показано, что частота его встречаемости у них не отличается от таковой в общей популяции. Также были выявлены SNP в генах, кодирующих цитохромы *CYP2D6*, *CYP4F2* и *CYP4F11*, которые отвечают за метаболизм эйкозаноидов, лекарств и чужеродных химических соединений [45]. Все эти полиморфные варианты (rs1065852, rs1135840, rs16947, rs2108622 и rs1060467, табл. 1) встречаются в мировой популяции с частотой около 30 % и, возможно, связаны с пониженной чувствительностью к ряду лекарств [45, 47, 52].

Функциональный анализ вариаций в генах, продукты которых регулируют нервную систему

Анализ результатов жесткой фильтрации данных WES показал, что наиболее перспективными в плане влияния их аномальных вариантов на пенетрантность ОПП являются гены, продукты которых имеют отношение к регуляции нервной системы и нарушения в которых приводят к развитию заболеваний, по симптоматике отчасти схожих с ОПП. Среди генов, вариации в которых обнаружались у единичных больных, были выделены патогенные варианты в генах *AGRN* (NM_198576:c.G3598A:p.Val1200Ile), *DOK7* (NM_001164673:c.C139T:p.Arg47Cys) и *FBXO38* (NM_001271723:c.G2261A:p.Arg754His) (табл. 3). Ген *AGRN* кодирует один из белков, которые важны для нейромышечного синаптогенеза. Патогенные нарушения в нем вызывают наследственный НМС, ассоциированный с дефектами в большой группе генов, регулирующих нервную систему, и имеющий достаточно разнообразную симптоматику в зависимости от затронутого гена [32], в ряде случаев частично пересекать с симптоматикой ОПП. Присутствие варианта p.Val1200Ile в этом гене у больной Пп537 было подтверждено секвенированием по Сэнгеру. Данный вариант можно считать условно патогенным, так как из 4 использованных протеомных аналитических программ только MutationTaster признает его собственным патогенным. Однако вариация p.Leu244Pro в гене *HMBS* у этой же больной тоже признается патогенной только программой MutationTaster, хотя других отличий от референсной последовательности нет, и, следовательно, именно она является причиной развития ОПП. Был проведен анализ найденной вариации в гене *AGRN* у родственников больной, являющихся носителями дефекта в гене *HMBS*. У самой больной диагностирована тяжелая форма заболевания с множественными приступами. У отца и родной сестры больной, также являющихся носителями этого варианта в гене *AGRN*, ранее наблюдались единичные кратковременные приступы, сопровождавшиеся абдоминальной болью и затруднением дыхания. У брата больной, не являющегося носителем патогенного варианта в гене *AGRN*, подобных отклонений от нормы никогда не наблюдалось. Ген *DOK7* кодирует белок, необходимый для нейромышечного синаптогенеза и постсинаптической дифференциации. Как и в случае гена *AGRN*, нарушения в нем вызывают НМС. Патогенные варианты в гене *FBXO38*, кодирующем один

из регуляторов роста и репарации аксонов, могут вызывать мышечную атрофию [53], однако они встречаются редко и в настоящее время их известно всего 5 (база данных HGMD).

В результате проведенного анализа мы выявили генные варианты в генах белков, регулирующих формирование и передачу нервных сигналов у 5 из 6 обследованных больных. В гене *DOK7*, кроме патогенного варианта Arg47Cys, о котором говорилось выше, выявлена замена rs62272670 (NM_001164673:c.C134T:p.Ser45Leu), зарегистрированная в базе данных HGMD (CM071708). В другом исследовании она была выявлена у больного НМС [54]. Еще одна редкая вариация rs191800156 (NM_173660:c.-6 C>G), возможно, ведет к уменьшению экспрессии белка за счет снижения активности промотора гена. Выявлены новые варианты в гене нейротрансмиттера *UNC13A*, генах *SCN4A* и *FBXO38*, идентифицируемые тремя-четырьмя использованными программами анализа белковых структур, как патогенные (табл. 3). Вариантам в гене *ALG8* дают статус патогенных все 4 использованные протеомные программы.

Таким образом, анализ данных WES для 6 больных тяжелой формой ОПП по генам, относящимся к системам детоксикации, регуляции каскада биосинтеза гема и экспрессии *ALAS1*, не выявил вариаций, которые можно было бы отнести к очевидно патогенным, но для ряда генов у двух и более больных были найдены достаточно редкие и предположительно функциональные аллельные варианты. Эти варианты требуют дальнейшего изучения на расширенных выборках больных с манифестацией ОПП и их родственников, являющихся бессимптомными носителями патогенных нарушений в гене *HMBS*.

Результаты проведенного анализа позволили нам также высказать гипотезу о возможной роли сочетания гетерозиготных мутаций в гене *HMBS* и одном из генов-регуляторов нервной системы в клиническом проявлении ОПП. Большинство наследственных нейропатий являются рецессивными заболеваниями, а все выявленные и приведенные вариации встретились в гетерозиготном состоянии. Данная гипотеза представляется правдоподобной, и на следующем этапе исследования предполагается уделить внимание ее проверке, начав с мутационного анализа при помощи секвенирования по методу Сэнгера генов *DOK7* и *SCN4A*, дефекты в которых найдены суммарно более чем у половины больных наследственным миастеническим синдромом.

Литература

1. Tsiftoglou A., Tsamadou A., Papadopoulou L. Heme as key regulator of major mammalian cellular functions: Molecular, cellular, and pharmacological aspects. *Pharmacology and Therapeutics*. 2006; 111: 327–45. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.10.017
2. Degenhardt T., Väisänen S., Rakhshandehroo M., et al. Peroxisome proliferator-activated receptor α controls hepatic heme biosynthesis through ALAS1. *J. Mol. Biol.* 2009; 388: 225–38. DOI: 10.1016/j.jmb.2009.03.024
3. Layer G., Reichelt J., Jahn D., Heinz D.W. Structure and function of enzymes in heme biosynthesis. *Protein Science*. 2010; 19: 1137–61. DOI: 10.1002/pro.405
4. Kubota Y., Nomura K., Katoh Y., et al. Novel mechanisms for heme-dependent degradation of ALAS1 protein as a component of negative feedback regulation of heme biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 2016; 291: 20516–29. DOI: 10.1074/jbc.M116.719161
5. Lim H.W., Murphy G.M. The porphyrias. *Clin. In Dermatol.* 1996; 14: 375–87.
6. Shoolingin-Jordan P.M. Structure and mechanism of enzymes involved in the assembly of the tetrapyrrole macrocycle. *Biochem. Soc. Trans.* 1998; 26: 326–36.
7. Karim Z., Lyoumi S., Nicolas G., et al. Porphyrias: A 2015 update. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2015; 39(4): 412–25. DOI: 10.1016/j.clinre.2015.05.009
8. Stein P.E., Badminton M.N., Rees D.C. Update review of the acute porphyrias. *Br. J. Haematol.* 2017; 176(4): 527–38. DOI: 10.1111 / bjh.14459
9. Ramanujam V.-M.S., Anderson K.E. Porphyria Diagnostics — Part 1: A brief overview of the porphyrias. *Curr. Protoc. Hum. Genet.* 2015; 86: 17.20.1–26. DOI: 10.1002 / 0471142905.hg1720s86
10. Bissell D.M., Anderson K.E., Bonkovsky H.L. Porphyria. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(9): 862–72. DOI: 10.1056/NEJMra1608634
11. Elder G.H., Hift R.J., Meissner P.N. The acute porphyrias. *Lancet.* 1997; 349: 1613–7.
12. Grandchamp B., De Verneuil H., Beaumont C., et al. Tissue-specific expression of porphobilinogen deaminase. Two isoenzymes from a single gene. *Eur. J. Biochem.* 1987; 162(1): 105–10.
13. Chen B., Solis-Villa C., Hakenberg J., et al. Acute Intermittent Porphyria: predicted pathogenicity of HMBS variants indicates extremely low penetrance of the autosomal dominant disease. *Hum. Mutat.* 2016; 37(11): 1215–22. DOI: 10.1002/humu.23067
14. Lenglet H., Schmitt C., Grange T., et al. From a dominant to an oligogenic model of inheritance with environmental modifiers in Acute Intermittent Porphyria. *Hum. Mol. Genet.* 2018; 27(7): 1164–73. DOI: 10.1093 / hmg / ddy030
15. Puy H., Gouya L., Deybach J.-C. Porphyrias. *Lancet.* 2010; 375: 924–37. DOI: 10.1016 / S0140-6736 (09) 61925-5
16. Yang C.-C., Kuo H.-C., You H.-L., et al. HMBS mutations in Chinese patients with acute intermittent porphyria. *Ann. Hum. Genet.* 2008; 72: 683–6. DOI: 10.1111 / j.1469-1809.2008.00463.x
17. Сурин В. Л., Лучинина Ю. А., Селиванова Д. С. и др. Молекулярно-генетическое исследование острой перемежающейся порфирии в России: мутационный анализ и поиск функциональных полиморфизмов в гене порфобилиногендезаминазы. *Генетика*. 2010; 46(4): 1–13.
18. Пустовойт Я.С., Сурин В.Л., Карпова И.В. и др. Острая перемежающаяся порфирия в России: аспекты диагностики. *Мед. генетика*. 2004; 3(1): 18–35.
19. Gouya L., Puy H., Robreau A.-M., et al. Modulation of penetrance by the wild-type allele in dominantly inherited erythropoietic protoporphyria and acute hepatic porphyrias. *Hum. Genet.* 2004; 114: 256–62. DOI: 10.1007/s00439-003-1059-5
20. Лучинина Ю.А., Гончарова М.В., Сурин В.Л. и др. Ассоциация аллельных вариантов генов системы детоксикации с клиническим проявлением острой

References

1. Tsiftoglou A., Tsamadou A., Papadopoulou L. Heme as key regulator of major mammalian cellular functions: Molecular, cellular, and pharmacological aspects. *Pharmacology and Therapeutics*. 2006; 111: 327–45. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.10.017
2. Degenhardt T., Väisänen S., Rakhshandehroo M., et al. Peroxisome proliferator-activated receptor α controls hepatic heme biosynthesis through ALAS1. *J. Mol. Biol.* 2009; 388: 225–38. DOI: 10.1016/j.jmb.2009.03.024
3. Layer G., Reichelt J., Jahn D., Heinz D.W. Structure and function of enzymes in heme biosynthesis. *Protein Science*. 2010; 19: 1137–61. DOI: 10.1002/pro.405
4. Kubota Y., Nomura K., Katoh Y., et al. Novel mechanisms for heme-dependent degradation of ALAS1 protein as a component of negative feedback regulation of heme biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 2016; 291: 20516–29. DOI: 10.1074/jbc.M116.719161
5. Lim H.W., Murphy G.M. The porphyrias. *Clin. In Dermatol.* 1996; 14: 375–87.
6. Shoolingin-Jordan P.M. Structure and mechanism of enzymes involved in the assembly of the tetrapyrrole macrocycle. *Biochem. Soc. Trans.* 1998; 26: 326–36.
7. Karim Z., Lyoumi S., Nicolas G., et al. Porphyrias: A 2015 update. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2015; 39(4): 412–25. DOI: 10.1016/j.clinre.2015.05.009
8. Stein P.E., Badminton M.N., Rees D.C. Update review of the acute porphyrias. *Br. J. Haematol.* 2017; 176(4): 527–38. DOI: 10.1111 / bjh.14459
9. Ramanujam V.-M.S., Anderson K.E. Porphyria Diagnostics — Part 1: A brief overview of the porphyrias. *Curr. Protoc. Hum. Genet.* 2015; 86: 17.20.1–26. DOI: 10.1002 / 0471142905.hg1720s86
10. Bissell D.M., Anderson K.E., Bonkovsky H.L. Porphyria. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(9): 862–72. DOI: 10.1056/NEJMra1608634
11. Elder G.H., Hift R.J., Meissner P.N. The acute porphyrias. *Lancet.* 1997; 349: 1613–7.
12. Grandchamp B., De Verneuil H., Beaumont C., et al. Tissue-specific expression of porphobilinogen deaminase. Two isoenzymes from a single gene. *Eur. J. Biochem.* 1987; 162(1): 105–10.
13. Chen B., Solis-Villa C., Hakenberg J., et al. Acute Intermittent Porphyria: predicted pathogenicity of HMBS variants indicates extremely low penetrance of the autosomal dominant disease. *Hum. Mutat.* 2016; 37(11): 1215–22. DOI: 10.1002/humu.23067
14. Lenglet H., Schmitt C., Grange T., et al. From a dominant to an oligogenic model of inheritance with environmental modifiers in Acute Intermittent Porphyria. *Hum. Mol. Genet.* 2018; 27(7): 1164–73. DOI: 10.1093 / hmg / ddy030
15. Puy H., Gouya L., Deybach J.-C. Porphyrias. *Lancet.* 2010; 375: 924–37. DOI: 10.1016 / S0140-6736 (09) 61925-5
16. Yang C.-C., Kuo H.-C., You H.-L., et al. HMBS mutations in Chinese patients with acute intermittent porphyria. *Ann. Hum. Genet.* 2008; 72: 683–6. DOI: 10.1111 / j.1469-1809.2008.00463.x
17. Surin V. L., Luchinina YU. A., Selivanova D. S., et al. Molecular genetic study of acute intermittent porphyria in Russia: mutation analysis and functional polymorphism search in porphobilinogen deaminase gene. *Genetika*. 2010; 46(4): 1–13 (In Russian).
18. Pustovojt Ya.S., Surin V.L., Karpova I.V., et al. Acute intermittent porphyria in Russia: diagnostics aspects. *Meditsinskaya genetika*. 2004; 3(1): 18–35 (In Russian).
19. Gouya L., Puy H., Robreau A.-M., et al. Modulation of penetrance by the wild-type allele in dominantly inherited erythropoietic protoporphyria and acute hepatic porphyrias. *Hum. Genet.* 2004; 114: 256–62. DOI: 10.1007/s00439-003-1059-5
20. Luchinina Yu.A., Goncharova M.V., Surin V.L., et al. Association of allelic variants of genes of detoxification system with clinical presentation of acute

- перемежающейся порфирии. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(3): 156–60.
21. Kumar P., Henikoff S., Ng P.C. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nature Protocols*. 2009; 4(7): 1073–81. DOI: 10.1038/nprot.2009.86
22. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L., et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nature Methods*. 2010; 7(4): 248–9. DOI: 10.1038/nmeth0410-248
23. Schwarz J.M., Rödelsperger C., Schuelke M., Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nature Methods*. 2010; 7(8): 575–6. DOI: 10.1038/nmeth0810-575
24. Choi Y., Sims G.E., Murphy S., et al. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS ONE*. 2012; 7(10): e46688. DOI: 10.1371/journal.pone.0046688
25. Thusberg J., Olatubosun A., Vihinen M. Performance of mutation pathogenicity prediction methods on missense variants. *Human Mutation*. 2011; 32(4): 358–68. DOI: 10.1002/humu.21445
26. Wu J., Jiang R. Prediction of deleterious nonsynonymous single-nucleotide polymorphism for human diseases. *The Scientific World Journal*. 2013; 2013: 10 pages. DOI: 10.1155/2013/675851
27. Dong C., Wei P., Jian X., et al. Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. *Human Molecular Genetics*. 2015; 24(8): 2125–37. DOI: 10.1093/hmg/ddu733
28. Kanazawa I. Molecular pathology of dentatorubral-pallidolusian atrophy. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1999; 354(1386): 1069–74.
29. Koide R., Kobayashi S., Shimohata T., et al. A neurological disease caused by an expanded CAG trinucleotide repeat in the TATA-binding protein gene: a new polyglutamine disease? *Hum. Mol. Genet.* 1999; 8(11): 2047–53.
30. Sánchez I., Balagué E., Matilla-Dueñas A. Ataxin-1 regulates the cerebellar bioenergetics proteome through the GSK3 β -mTOR pathway that is altered in Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1). *Hum. Mol. Genet.* 2016; 25(18): 4021–40. DOI: 10.1093/hmg/ddw242
31. Jones M.A., Rhodenizer D., da Silva C., et al. Molecular diagnostic testing for congenital disorders of glycosylation (CDG): detection rate for single gene testing and next generation sequencing panel testing. *Mol. Genet. Metab.* 2013; 110(1–2): 78–85. DOI: 10.1016/j.ymgme.2013.05.012
32. Rodríguez Cruz P.M., Palace J., Beeson D. The neuromuscular junction and wide heterogeneity of Congenital myasthenic syndromes. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(6): 1677. DOI: 10.3390/ijms19061677
33. Thunell S. (Far) Outside the box: genomic approach to acute porphyria. *Physiol. Res.* 2006; 55: 43–66.
34. Jover R., Hoffmann F., Scheffler-Koch V., Lindberg R.L.P. Limited heme synthesis in porphobilinogen deaminase-deficient mice impairs transcriptional activation of specific cytochrome P450 genes by phenobarbital. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 7128–37.
35. Podvynec M., Handschin C., Looser R., Meyer U.A. Identification of the xenosensors regulating human 5-aminolevulinic acid synthase. *PNAS*. 2004; 101(24): 9127–32. DOI: 10.1073/pnas.0401845101
36. Handschin C., Lin J., Rhee J., et al. Nutritional regulation of hepatic heme biosynthesis and porphyria through PGC-1 α . *Cell*. 2005; 122: 505–15. DOI: 10.1016/j.cell.2005.06.040
37. Nilsson R., Schultz I.J., Pierce E.L., et al. Discovery of genes essential for heme biosynthesis through large-scale gene expression analysis. *Cell Metab.* 2009; 10(2): 119–30. DOI: 10.1016/j.cmet.2009.06.012
38. Ju Y., Mizutani T., Imamichi Y., et al. Nuclear receptor 5A (NR5A) family regulates 5-aminolevulinic acid synthase 1 (ALAS1) gene expression in steroido-
- intermittent porphyria. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2016; 61(3): 156–60 (In Russian).
21. Kumar P., Henikoff S., Ng P.C. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nature Protocols*. 2009; 4(7): 1073–81. DOI: 10.1038/nprot.2009.86
22. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L., et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nature Methods*. 2010; 7(4): 248–9. DOI: 10.1038/nmeth0410-248
23. Schwarz J.M., Rödelsperger C., Schuelke M., Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nature Methods*. 2010; 7(8): 575–6. DOI: 10.1038/nmeth0810-575
24. Choi Y., Sims G.E., Murphy S., et al. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS ONE*. 2012; 7(10): e46688. DOI: 10.1371/journal.pone.0046688
25. Thusberg J., Olatubosun A., Vihinen M. Performance of mutation pathogenicity prediction methods on missense variants. *Human Mutation*. 2011; 32(4): 358–68. DOI: 10.1002/humu.21445
26. Wu J., Jiang R. Prediction of deleterious nonsynonymous single-nucleotide polymorphism for human diseases. *The Scientific World Journal*. 2013; 2013: 10 pages. DOI: 10.1155/2013/675851
27. Dong C., Wei P., Jian X., et al. Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. *Human Molecular Genetics*. 2015; 24(8): 2125–37. DOI: 10.1093/hmg/ddu733
28. Kanazawa I. Molecular pathology of dentatorubral-pallidolusian atrophy. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1999; 354(1386): 1069–74.
29. Koide R., Kobayashi S., Shimohata T., et al. A neurological disease caused by an expanded CAG trinucleotide repeat in the TATA-binding protein gene: a new polyglutamine disease? *Hum. Mol. Genet.* 1999; 8(11): 2047–53.
30. Sánchez I., Balagué E., Matilla-Dueñas A. Ataxin-1 regulates the cerebellar bioenergetics proteome through the GSK3 β -mTOR pathway that is altered in Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1). *Hum. Mol. Genet.* 2016; 25(18): 4021–40. DOI: 10.1093/hmg/ddw242
31. Jones M.A., Rhodenizer D., da Silva C., et al. Molecular diagnostic testing for congenital disorders of glycosylation (CDG): detection rate for single gene testing and next generation sequencing panel testing. *Mol. Genet. Metab.* 2013; 110(1–2): 78–85. DOI: 10.1016/j.ymgme.2013.05.012
32. Rodríguez Cruz P.M., Palace J., Beeson D. The neuromuscular junction and wide heterogeneity of Congenital myasthenic syndromes. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(6): 1677. DOI: 10.3390/ijms19061677
33. Thunell S. (Far) Outside the box: genomic approach to acute porphyria. *Physiol. Res.* 2006; 55: 43–66.
34. Jover R., Hoffmann F., Scheffler-Koch V., Lindberg R.L.P. Limited heme synthesis in porphobilinogen deaminase-deficient mice impairs transcriptional activation of specific cytochrome P450 genes by phenobarbital. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 7128–37.
35. Podvynec M., Handschin C., Looser R., Meyer U.A. Identification of the xenosensors regulating human 5-aminolevulinic acid synthase. *PNAS*. 2004; 101(24): 9127–32. DOI: 10.1073/pnas.0401845101
36. Handschin C., Lin J., Rhee J., et al. Nutritional regulation of hepatic heme biosynthesis and porphyria through PGC-1 α . *Cell*. 2005; 122: 505–15. DOI: 10.1016/j.cell.2005.06.040
37. Nilsson R., Schultz I.J., Pierce E.L., et al. Discovery of genes essential for heme biosynthesis through large-scale gene expression analysis. *Cell Metab.* 2009; 10(2): 119–30. DOI: 10.1016/j.cmet.2009.06.012
38. Ju Y., Mizutani T., Imamichi Y., et al. Nuclear receptor 5A (NR5A) family regulates 5-aminolevulinic acid synthase 1 (ALAS1) gene expression in steroido-

- roidogenic cells. *Endocrinology*. 2012; 153(11): 5522–34. DOI: 10.1210 / en.2012-1334
39. Tian Q., Li T., Hou W., Zheng J., et al. Lon peptidase 1 (LONP1)-dependent breakdown of mitochondrial 5-aminolevulinic acid synthase protein by heme in human liver cells. *J. Biol. Chem.* 2011; 286: 26424–30. DOI: 10.1074/jbc.M110.215772
40. Fraser D.J., Podvinec M., Kaufmann M.R., Meyer U.A. Drugs mediate the transcriptional activation of the 5-aminolevulinic acid synthase (ALAS1) gene via the chicken xenobiotic-sensing nuclear receptor (CXR). *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 34717–26. DOI: 10.1074/jbc.M204699200
41. Fraser D.J., Zumsteg A., Meyer U.A. Nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor activate a drug-responsive enhancer of the murine 5-aminolevulinic acid synthase gene. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 39392–401. DOI: 10.1074/jbc.M306148200
42. Sueyoshi T., Negishi M. Phenobarbital response elements of cytochrome p450 genes and nuclear receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2001; 41: 123–43.
43. Pelkonen O., Mäenpää J., Taavitsainen P., et al. Inhibition and induction of human cytochrome P450 (CYP) enzymes. *Xenobiotica*. 1998; 28(12): 1203–53.
44. Pelkonen O., Rautio A., Raunio H., Pasanen M. CYP2A6: a human coumarin 7-hydroxylase. *Toxicology*. 2000; 144: 139–47.
45. Nebert D.W., Wikvall K., Miller W.L. 2013 Human cytochromes P450 in health and disease. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2013; 368(1612): 20120431 DOI: 10.1098/rstb.2012.0431
46. Laroche-Clary A., Le Morvan V., Yamori T., Robert J. Cytochrome P450 1B1 gene polymorphisms as predictors of anticancer drug activity: studies with in vitro models. *Mol. Cancer Ther.* 2010; 9: 3315–21. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0673
47. Zanger U.M., Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & Therapeutics*. 2013; 138: 103–41.
48. Lang T., Klein K., Fischer J. et al. Extensive genetic polymorphism in the human CYP2B6 gene with impact on expression and function in human liver. *Pharmacogenetics*. 2001; 11: 399–415.
49. Lamba V., Lamba J., Yasuda K., et al. Hepatic CYP2B6 expression: gender and ethnic differences and relationship to CYP2B6 genotype and CAR (constitutive androstane receptor) expression. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003; 307: 906–22.
50. Desta Z., Saussele T., Ward B., et al. Impact of CYP2B6 polymorphism on hepatic efavirenz metabolism in vitro. *Pharmacogenomics*. 2007; 8: 547–58.
51. Jover R., Moya M., Gómez-Lechón M.J. Transcriptional regulation of cytochrome p450 genes by the nuclear receptor hepatocyte nuclear factor 4-alpha. *Curr. Drug Metab.* 2009; 10: 508–19. DOI: 10.2174/138920009788898000
52. López-García M.A., Fera-Romero I.A., Serrano H., et al. Influence of genetic variants of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 on antiepileptic drug metabolism in pediatric patients with refractory epilepsy. *Pharmacol. Rep.* 2017; 69(3): 504–11. DOI: 10.1016/j.pharep.2017.01.007
53. Sumner C.J., d'Ydewalle C., Wooley J., et al. A dominant mutation in FBXO38 causes distal spinal muscular atrophy with calf predominance. *Am J Hum Genet.* 2013; 93(5): 976–83. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.10.006
54. Müller J.S., Herczegfalvi A., Vilchez J.J., et al. Phenotypical spectrum of DOK7 mutations in congenital myasthenic syndromes. *Brain*. 2007; 130(Pt 6): 1497–506. DOI: 10.1093/brain/awm068
- genic cells. *Endocrinology*. 2012; 153(11): 5522–34. DOI: 10.1210 / en.2012-1334
39. Tian Q., Li T., Hou W., Zheng J., et al. Lon peptidase 1 (LONP1)-dependent breakdown of mitochondrial 5-aminolevulinic acid synthase protein by heme in human liver cells. *J. Biol. Chem.* 2011; 286: 26424–30. DOI: 10.1074/jbc.M110.215772
40. Fraser D.J., Podvinec M., Kaufmann M.R., Meyer U.A. Drugs mediate the transcriptional activation of the 5-aminolevulinic acid synthase (ALAS1) gene via the chicken xenobiotic-sensing nuclear receptor (CXR). *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 34717–26. DOI: 10.1074/jbc.M204699200
41. Fraser D.J., Zumsteg A., Meyer U.A. Nuclear receptors constitutive androstane receptor and pregnane X receptor activate a drug-responsive enhancer of the murine 5-aminolevulinic acid synthase gene. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 39392–401. DOI: 10.1074/jbc.M306148200
42. Sueyoshi T., Negishi M. Phenobarbital response elements of cytochrome p450 genes and nuclear receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2001; 41: 123–43.
43. Pelkonen O., Mäenpää J., Taavitsainen P., et al. Inhibition and induction of human cytochrome P450 (CYP) enzymes. *Xenobiotica*. 1998; 28(12): 1203–53.
44. Pelkonen O., Rautio A., Raunio H., Pasanen M. CYP2A6: a human coumarin 7-hydroxylase. *Toxicology*. 2000; 144: 139–47.
45. Nebert D.W., Wikvall K., Miller W.L. 2013 Human cytochromes P450 in health and disease. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2013; 368(1612): 20120431 DOI: 10.1098/rstb.2012.0431
46. Laroche-Clary A., Le Morvan V., Yamori T., Robert J. Cytochrome P450 1B1 gene polymorphisms as predictors of anticancer drug activity: studies with in vitro models. *Mol. Cancer Ther.* 2010; 9: 3315–21. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0673
47. Zanger U.M., Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & Therapeutics*. 2013; 138: 103–41.
48. Lang T., Klein K., Fischer J. et al. Extensive genetic polymorphism in the human CYP2B6 gene with impact on expression and function in human liver. *Pharmacogenetics*. 2001; 11: 399–415.
49. Lamba V., Lamba J., Yasuda K., et al. Hepatic CYP2B6 expression: gender and ethnic differences and relationship to CYP2B6 genotype and CAR (constitutive androstane receptor) expression. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003; 307: 906–22.
50. Desta Z., Saussele T., Ward B., et al. Impact of CYP2B6 polymorphism on hepatic efavirenz metabolism in vitro. *Pharmacogenomics*. 2007; 8: 547–58.
51. Jover R., Moya M., Gómez-Lechón M.J. Transcriptional regulation of cytochrome p450 genes by the nuclear receptor hepatocyte nuclear factor 4-alpha. *Curr. Drug Metab.* 2009; 10: 508–19. DOI: 10.2174/138920009788898000
52. López-García M.A., Fera-Romero I.A., Serrano H., et al. Influence of genetic variants of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 on antiepileptic drug metabolism in pediatric patients with refractory epilepsy. *Pharmacol. Rep.* 2017; 69(3): 504–11. DOI: 10.1016/j.pharep.2017.01.007
53. Sumner C.J., d'Ydewalle C., Wooley J., et al. A dominant mutation in FBXO38 causes distal spinal muscular atrophy with calf predominance. *Am J Hum Genet.* 2013; 93(5): 976–83. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.10.006
54. Müller J.S., Herczegfalvi A., Vilchez J.J., et al. Phenotypical spectrum of DOK7 mutations in congenital myasthenic syndromes. *Brain*. 2007; 130(Pt 6): 1497–506. DOI: 10.1093/brain/awm068

Информация об авторах

Пшеничникова Олеся Сергеевна*, ведущий специалист лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Гончарова Мария Владимировна, ведущий специалист лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: goncharova.maria.v@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1741-224X>

Пустовойт Ярослав Сергеевич, старший научный сотрудник отделения химиотерапии гематологических заболеваний и интенсивной терапии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: CHERV21@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1618-6981>

Карпова Ирина Владимировна, руководитель биохимической группы централизованной клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: karpova@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0924-2957>

Сури́н Вадим Леонидович, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: vadsurin@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 10.11.2018

Принята к печати: 14.05.2019

Information about the authors

Olesya S. Pshenichnikova*, Leading Specialist, Laboratory of Genetic Engineering, National Research Centre for Hematology,
e-mail: pshenichnikovaolesya@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8146>

Maria V. Goncharova, Leading Specialist, Laboratory of Genetic Engineering, National Research Centre for Hematology,
e-mail: goncharova.maria.v@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1741-224X>

Yaroslav S. Pustovoit, Senior Researcher, Department of Chemotherapy of Hematological Diseases and Intensive Care, National Research Centre for Hematology,
e-mail: CHERV21@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1618-6981>

Irina V. Karpova, Head of the Biochemical Group, Central Clinical Diagnostic Laboratory, National Research Centre for Hematology,
e-mail: karpova@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0924-2957>

Vadim L. Surin, Senior Researcher, Laboratory of Genetic Engineering National Research Centre for Hematology,
e-mail: vadsurin@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

*** Corresponding author**

Received 10 Nov 2018

Accepted 14 May 2019