

Главный редактор
ГИНТЕР Е.К.
академик РАН, д.б.н., профессор
Заместители главного редактора
ПУЗЫРЕВ В.П.
академик РАН, д.м.н., профессор
БАРАНОВ В.С.
чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор
Ответственный секретарь
ИЖЕВСКАЯ В.Л.
д.м.н.

Редакционная коллегия
АРЧАКОВ А.И.
академик РАН, д.б.н., профессор
ВОЕВОДА М.И.
чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор
ДУРНЕВ А.Д.
чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор
ИВАНОВ В.П.
д.б.н., профессор
ИЛЛАРИОШКИН С.Н.
д.м.н., профессор
КОЗЛОВА С.И.
д.м.н., профессор
КОПНИН Б.П.
д.б.н., профессор
КУЦЕВ С.И.
д.м.н.

КУЧИНСКАС В. (Kucinskas V.)
академик Литовской АН, д.б.н., профессор
ЛИМБОРСКАЯ С.А.
д.б.н., профессор
МАЦЕК М. (Macek M. Jr.)
доктор медицины и педиатрии (MD),
доктор философии по медицине и молекуляр-
ной генетике (PhD), профессор
МИХАЙЛОВА Л.К.
д.м.н., профессор
НАЗАРЕНКО Л.П.
д.м.н., профессор
НОВИКОВ П.В.
д.м.н., профессор
НОСИКОВ В.В.
д.б.н., профессор
РОГАЕВ Е.И.
д.б.н., профессор
РУБЦОВ Н.Б.
д.б.н., профессор
СВЕРДЛОВ Е.Д.
академик РАН, д.б.н., профессор
СЕРЕДЕНИН С.Б.
академик РАН, д.м.н., профессор
СМИРНОВ В.Н.
академик РАН, д.м.н., профессор
СТЕПАНОВ В.А.
д.б.н., профессор
ЧЕХОНИН В.П.
академик РАН, д.б.н., профессор
ЧУЧАЛИН А.Г.
академик РАН, д.м.н., профессор

Издатель:
ООО «Издательство «Гениус Медиа»
E-mail: genius-media@mail.ru

Адреса редакции:
115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1,
Федеральное государственное
бюджетное учреждение
Медико-генетический научный центр РАМН
Тел. (499) 612-81-07, факс: 324-07-02
E-mail: L_Tarlycheva@med-gen.ru

Внимание авторов и читателей:
Рукописи и иллюстрации не возвращаются. При
перепечатке материалов согласование с редак-
цией журнала «Медицинская генетика» обязатель-
но. За содержание рекламных публикаций ответст-
венность несет рекламодатель.

© Российское общество медицинских генетиков
© Российская академия медицинских наук
© Медико-генетический научный центр РАМН
© ООО «Издательство «Гениус Медиа»
Тираж 200 экз.

Медицинская ГЕНЕТИКА

Ежемесячный рецензируемый научно-практический журнал

2014 г. Том 13. №5 (143)

СОДЕРЖАНИЕ

НАУЧНЫЕ ОБЗОРЫ

Баранов В.С.

Становление, развитие и перспективы медицинской генетики
в Санкт-Петербурге 3

Буйкин С.В., Кучер А.Н., Пузырев В.П.

Проблемы эффективного использования ресурсов
в биомедицинских исследованиях
(от биологических коллекций к биобанкам) 10

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ижевская В.Л., Иванова Л.Ю., Борзов Е.А., Журавлева И.В., Гинтер Е.К.

Результаты анкетирования родителей
больных фенилкетонурией детей.
Сообщение 2.
Информированность родителей о генетическом риске
и пренатальной диагностике фенилкетонурии 17

Гареева А.Э., Хуснутдинова Э.К.

Анализ ассоциации ряда полиморфных локусов
генов *CACNA1C*, *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG*
с риском развития параноидной шизофрении
и ответом на галоперидол 25

Шубин В.П., Поспехова Н.И., Цуканов А.С., Рыбаков Е.Г., Панина М.В., Сушков О.И., Ачкасов С.И., Жданкина С.Н., Кашников В.Н., Фролов С.А., Шельгин Ю.А.

Частота и спектр мутаций в гене *KRAS*
при раке толстой кишки разной локализации
и раке анального канала 31

Бабушкина Н.П., Кучер А.Н., Буйкин С.В., Голубенко М.В., Макеева О.А., Брагина Е.Ю., Гончарова И.А., Тарасенко Н.В., Пузырев К.В., Шипулин В.М., Пузырев В.П.

Ассоциации полиморфных вариантов
генов ядерного и митохондриального геномов
с ишемической болезнью сердца 36

ИНФОРМАЦИЯ

Правила оформления статей
в журнале «Медицинская генетика» 47

Editor-in-Chief
GINTER E.K.
Deputy Editors-in-chief
PUZYREV V.P.
BARANOV V.S.

Executive editor
IZHEVSKAYA V.L.

Editorial Board
ARCHAKOV A.I.
VOEVODA M.I.
DURNEV A.D.
IVANOV V.P.
ILLARIOSHKIN S.N.
KOZLOVA S.I.
KOPNIN B.P.
KUTZEV S.I.
KUCINSKAS V.
LIMBORSKAYA S.A.
MACEK M. Jr.
MIKHAYLOVA L.K.
NAZARENKO L.P.
NOVIKOV P.V.
NOSIKOV V.V.
ROGAEV E.I.
RUBTZOV N.B.
SVERDLOV E.D.
SEREDENIN S.B.
SMIRNOV V.N.
STEPANOV V.A.
CHEKHONIN V.P.
CHUCHALIN A.G.

Publisher:
Genius Media Publishing Ltd
E-mail: genius-media@mail.ru

Medical GENETICS

Monthly reviewed scientific and practical journal

2014. Volume 13. №5 (143)

Content

REVIEWS

- Baranov V.S.**
Development and perspectives of medical genetics
in Saint-Petersburg 3
- Buikin S.V., Kucher A.N., Puzyrev V.P.**
Problems of effective use of resources
in biomedical study
(from biological collections to biobanks) 10

ARTICLES

- Izhevskaya V.L., Borzov E.A., Ivanova L.Yu., Zhuravleva I.V., Ginter E.K.**
The results of the survey of the PKU patient's parents.
2. Informing about the genetic risk
and prenatal diagnosis PKU 17
- Gareeva A.E., Khusnutdinova E.K.**
Replication of genome wide association study results:
analysis of association of some polymorphic variants
of *CACNA1C*, *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG* genes
with the risk of paranoid schizophrenia
and response to haloperidol 25
- Shubin V.P., Pospekhova N.I., Tsukanov A.S.,
Rybakov E.G., Panina M.V., Sushkov O.I., Achkasov S.I.,
Zhdankina S.N., Kashnikov V.N., Frolov S.A., Shelygin Ju.A.**
Frequency and spectrum *KRAS* mutations
in different localization of colon cancer and anal cancer 31
- Babushkina N.P., Kucher A.N., Buikin S.V., Golubenko M.V.,
Makeeva O.A., Bragina E.Yu., Goncharova I.A., Tarasenko N.V.,
Puzyrev K.V., Shipulin V.M., Puzyrev V.P.**
Association of polymorphic variants
of nuclear and mitochondrial genes
with ischemic heart disease 36

INFORMATION

- Guidelines for Authors 47

Становление, развитие и перспективы медицинской генетики в Санкт-Петербурге

Баранов В.С.

ФГБУ «НИИ АГ им. Д.О. Отта» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3. E-mail: baranov@VB2475.spb.edu

Обзор исторических событий и некоторых работ известных отечественных учёных в области генетики человека и медицинской генетики, свидетельствующих о решающем вкладе генетиков Петрограда-Ленинграда-Санкт-Петербурга в зарождение и развитие медицинской генетики и пренатальной диагностики в России.

Ключевые слова: медицинская генетика, пренатальная диагностика, современное состояние, новые подходы, перспективы

1. Санкт-Петербург наряду с Москвой — родина медицинской генетики в России

Санкт-Петербург (Петроград, Ленинград) — сыграл решающую роль не только в становлении и развитии генетики как науки в нашей стране (профессора В.М. Флоринский, Ю.А. Филипченко, Н.И. Вавилов и др.) [13, 14], но и с полным основанием может считаться и колыбелью медицинской (клинической) генетики, одним из основоположников которой является проф. С.И. Давиденков [4—7]. В 1929 г. он организовал первую в мире медико-генетическую консультацию. В клинике С.Н. Давиденкова были собраны и детально описаны десятки больных с различными наследственными болезнями нервной системы, в том числе с боковым амиотрофическим склерозом и многими другими заболеваниями нервной системы, обобщёнными в его классической монографии «Наследственные болезни нервной системы» (1934 г.). На основе клинической гетерогенности им был сформулирован принцип *генетической гетерогенности* наследственных болезней, глубинная суть которого стала понятной только в наше время после расшифровки генома человека.

Дело проф. С.Н. Давиденкова продолжила его верная ученица, друг и супруга проф. Е.Ф. Давиденкова. После его смерти в 1961 г. она возглавила организованную С.Н. Давиденковым ещё в 1958 г. медико-генетическую лабораторию АМН СССР. Под её руководством начались интенсивные исследования по цитогенетике человека — определение частот хромосомных болезней в популяции, а также среди отобранных групп больных [8—10]. Спектр научных интересов лаборатории был очень широк и простирался от изучения генетических основ многофакторных заболеваний (атеросклероз, эпилепсия, сахарный диабет) до исследования хромосомной патологии. Впоследствии исследования были преимущественно сосредоточены на отдельных моногенных болезнях, таких, как миопатия Дюшенна, гепа-

то-церебральная дистрофия, синдром Марфана и др. Наиболее значимые научные достижения коллектива лаборатории, возглавляемой Е.Ф. Давиденковой, касались происхождения, частоты, методов профилактики и лечения болезни Дауна, других частых хромосомных аномалий, особенно аномалий половых хромосом. Полученные результаты суммированы в цикле сборников «Хромосомные болезни» (1965 г.), «Болезнь Дауна» (1965 г.), «Клинические синдромы при аномалиях половых хромосом» (Е.Ф. Давиденкова, Д.К. Верлинская, С.Ф. Тысячнюк, 1973 г.).

Один из учеников Е.Ф. Давиденковой — проф. Е.И. Шварц — в 80-е годы возглавил лабораторию молекулярной генетики человека в Институте ядерной физики РАН в Гатчине и кафедру медицинской генетики в Ленинградском педиатрическом институте МЗ РФ. Е.И. Шварц первым в СССР освоил и применил ныне столь знаменитую в молекулярно-генетических исследованиях полимеразную цепную реакцию (ПЦР), внёс весомый вклад в изучение молекулярно-генетических механизмов наследственных болезней, особенно многофакторной этиологии (сердечно-сосудистых, нервных, диабета) [12]. Её другой ученик — проф. О.А. Розенберг — в 1990 г. организовал отдел медицинской биотехнологии в Российском научном центре радиологии и хирургических технологий, на базе которого был создан отечественный препарат сурфактант для лечения респираторного дистресс-синдрома у новорождённых [12].

В 1969 г. по инициативе проф. Е.Ф. Давиденковой в Ленинграде была организована медико-генетическая консультация, с годами превратившаяся в активно работающий по настоящее время Медико-генетический центр Санкт-Петербурга (МГЦ). Первым руководителем центра стала заслуженный врач и талантливый организатор Л.И. Кротова. Под её началом были сформированы и основные направления работы МГЦ. С 1975 г. руководителем МГЦ стала Ольга Пантелеймоновна Романенко (ныне профессор, д.м.н., заслуженный врач РФ).

В настоящее время МГЦ с 45-летним опытом работы является уникальным в России учреждением по структуре, направлениям и объёмам работы среди других медико-генетических центров. Обширные задачи МГЦ включают: медико-генетическое консультирование, диагностику, в том числе и пренатальную, врождённых и наследственных заболеваний, массовый скрининг новорождённых на 5 частых моногенных болезней, ведение регионального регистра наследственных заболеваний, мониторинг врождённых пороков развития, обеспечение детей лечебным питанием, санитарно-просветительскую и преподавательскую работу. При таком огромном объёме практической работы проф. О.П. Романенко и сотрудники МГЦ, в лучших традициях своих знаменитых учителей и предшественников, продолжают вести научные исследования, публикуют многочисленные научные статьи, монографии, организуют научно-практические конференции.

Сотрудники МГЦ и лаборатории пренатальной диагностики ФГБУ «НИИАГ им. Д.О. Отта» СЗО РАМН читают циклы лекций по медицинской и клинической генетике, ведут практические занятия на кафедрах медицинской генетики Академии постдипломного образования (ГИДУВ), Медицинской академии им. И.П. Павлова, Педиатрической медицинской академии, кафедре детских болезней ВМА им. С.М. Кирова.

Важным научным центром медицинской генетики в Ленинграде уже в начале 60-х годов стал Институт экспериментальной медицины АМН СССР, в котором проф. С.А. Нейфах организовал одну из первых в стране лабораторию биохимической генетики и начал интенсивные исследования молекулярных механизмов наследственных болезней (фенилкетонурия, гепатолентикулярная дегенерация, дефицит антитрипсина, нарушения липидного обмена, митохондриальные болезни и др.). По инициативе и непосредственному участию проф. С.А. Нейфаха результаты научных изысканий лаборатории получали практическое внедрение в МГЦ, например первая в стране диета для лечения фенилкетонурии, разработанная в 1967 г. его учеником А.М. Шапошниковым [11]. Молекулярно-генетические исследования наследственных болезней в этой лаборатории после смерти С.А. Нейфаха в 1992 г. продолжил его верный ученик и последователь проф. В.С. Гайцхоки.

Решающее значение в активизации медико-генетической службы города и, прежде всего, её такого важного раздела, как профилактика наследственных и врождённых пороков развития, имело создание в 1987 г. в НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН (ныне — ФГБУ «НИИ АГ им. Д.О. Отта СЗО РАМН») лаборатории пренатальной диагностики наследственных и врождённых заболеваний под руководством проф. В.С. Баранова. Становление и развитие этого столь востребованного раздела медицинской генетики в России заслуживает специального рассмотрения.

2. Санкт-Петербург — колыбель пренатальной диагностики

Несмотря на то, что первые успешные попытки биопсии плода под контролем УЗ были предприняты в России ещё в начале 80-х годов прошлого века в Москве, высокая смертность после инвазивных вмешательств, достигающая, по данным некоторых авторов, 30%, и отсутствие надёжных методов кариотипирования плода на биоптатах хориона или плаценты привели к ограничению и даже запрету инвазивной диагностики хромосомных болезней (Н.П. Бочков, 1989 г.) Поэтому важнейшей задачей на первом этапе становления лаборатории пренатальной диагностики в Институте акушерства и гинекологии им. Отта была разработка безопасных методов получения биоптатов ворсин хориона, плаценты или пуповинной крови плода, а также методов их кариотипирования. Эти задачи были успешно решены в течение первого года работы лаборатории [1]. Уже в ближайшие несколько лет риск всех инвазивных операций на плоде не превышал 1—1,5%, а в дальнейшем снизился до 0,5%, достигнув лучших мировых показателей. Что касается хромосомных препаратов, то уже в первый год существования лаборатории была разработана оригинальная быстрая и надёжная техника получения прямых препаратов из ворсин хориона/плаценты (проф. В.С. Баранов). В дальнейшем проф. Т.В. Кузнецова предложила оригинальную технику дифференциальной окраски метафазных хромосом флуоресцентным красителем, которая позволяла проводить диагностику не только числовых, но и структурных хромосомных aberrаций у плода. Эти методы благодаря своей надёжности, скорости и эффективности сегодня широко применяются во многих центрах пренатальной диагностики (ПД) России.

Ещё сложнее обстояло дело с пренатальной диагностикой генных болезней. В 80-е годы прошлого века она попросту отсутствовала не только в России, но практически и в мире. Начавшаяся в эти годы Международная программа «Геном человека» немало способствовала решению этой сложной задачи. Волею счастливого случая лаборатория попала в число отечественных участников этой программы, что позволило ей приобрести оборудование, необходимое для молекулярно-генетических исследований, и начать популяционный анализ по идентификации наиболее частых мутаций в генах, поломки которых приводят к таким тяжёлым заболеваниям, как муковисцидоз, фенилкетонурия, миодистрофия Дюшенна, гемофилии А и В, миотоническая дистрофия, хорей Гентингтона, спинальная мышечная атрофия, адрено-генитальный синдром (АГС), синдром ломкой X-хромосомы, наличие которых являлось (и является) возможным показанием для рекомендации по прерыванию беременности. В разработке молекулярно-генетических методов в лаборатории решающую роль сыграли ныне профессора В.Н. Горбунова, Т.Э. Ивашенко и ст.н.с. М.В. Асеев. Уже в 1987 г. впервые в стране нами была осуществлена пренатальная диагностика муковис-

цидоза, в 1989 г. — гемофилии А, в 1990 г. — миодистрофии Дюшенна, фенилкетонурии и АГС. Таким образом, насколько мне известно, именно в нашей лаборатории впервые в России была осуществлена пренатальная диагностика наиболее тяжёлых частых моногенных наследственных болезней [3].

Все эти факты позволяют с полным основанием считать, что именно наш город, а точнее Оттовский институт, стал колыбелью пренатальной диагностики генных болезней в России. Вполне закономерно, что в связи с этим лаборатория Приказом МЗ СССР уже в 1989 г. обрела статус Федерального центра пренатальной диагностики муковисцидоза (самого частого тяжёлого моногенного заболевания), а в 1994 г. стала одним из шести федеральных медико-генетических центров страны.

Справедливости ради надо отметить, что все достижения в области пренатальной диагностики и, в целом, в медицинской генетике, лаборатория по праву разделяет с МГЦ города. Дело в том, что ещё в 1989 г. 12 городских врачебных ставок были переданы от МГЦ для работы прикомандированных сотрудников в лаборатории пренатальной диагностики Института им. Д.О. Отта. На правах полноправных научных сотрудников прикомандированные принимали непосредственное участие в разработке новых методов диагностики, подготовке публикаций, докладов, в практических реализациях методических инноваций. При этом все методические наработки лаборатории (биохимический скрининг, диагностика хромосомных болезней и др.) безвозмездно передавались в МГЦ. Исключение составила лишь молекулярная диагностика, которая в силу своей специфики и в соответствии с положением МЗ о Федеральных медико-генетических центрах составляла прерогативу лаборатории. Следовательно, исторически МГЦ и лаборатория института им. Д.О. Отта концептуально и практически многие годы прекрасно дополняли друг друга, создавая прочную основу всей медико-генетической службы города.

Отмечу, кстати, что до 2006 г. лаборатория оставалась единственным центром города, где проводилась вся инвазивная пренатальная диагностика у женщин групп высокого риска по рождению детей с хромосомной и генной патологией, выявление которых методом ультразвукового и биохимического скрининга осуществлялось сотрудниками как МГЦ, так и лаборатории. Такая централизация службы оказалась очень эффективной, что неоднократно отмечалось на профильных научно-практических конференциях, телемостах, в грамотах и наградах МЗ РФ,

Основные итоги инвазивной пренатальной диагностики лаборатории института за 25 лет её существования приведены в табл. 1.

Отметим, что за этот период было выполнено свыше 15 тыс. инвазивных операций по получению материала плода на разных сроках беременности, в результате которых выявлена тяжёлая хромосомная и генная патология более чем у 1000 плодов и такие беременности по желанию женщин были прерваны. Отрадным итогом, однако, явилось то, что в результате нашей диагностики более 14 тыс. женщин групп высокого риска родили заведомо здоровых детей.

3. Современное состояние и новые подходы пренатальной диагностики

Как раздел медицинской генетики, возникший на стыке практических (акушерство и гинекология, неонатология) и фундаментальных наук (генетика человека, цитогенетика, молекулярная биология, эмбриология, биохимия, патофизиология) пренатальная диагностика представляет собой сложный комплекс врачебных мероприятий и диагностических методов, направленных на выявление морфологических, структурных, молекулярных или устойчивых функциональных нарушений внутриутробного развития человека. Основные составляющие пренатальной диагностики, представленные в табл. 2, хорошо иллюстрируют это положение.

**Пренатальная диагностика — главный итог работы лаборатории за 25 лет
(октябрь 1987 г. — апрель 2012 г.)**

Таблица 1

Выполнено инвазивных ПД для исключения	
Хромосомных болезней	14 233
Генных болезней	1002
Всего	15235
Предотвращено рождение больных детей	
С хромосомными болезнями	745
— из них с болезнью Дауна	490
С генными болезнями	306
Всего	1101
14 134 женщины из групп высокого риска родили заведомо здоровых детей	

Подробно каждая из этих составляющих рассмотрена в лабораторной монографии «Пrenатальная диагностика наследственных и врождённых болезней» (2006 г.), а также в серии методических рекомендаций 2009 и 2013 гг., подготовленных сотрудниками лаборатории и МГЦ.

После 2006 г. пренатальная диагностика стала весьма востребованной, а скрининговые программы по выявлению женщин групп высокого риска стали охватывать всех беременных города. Инвазивная пренатальная диагностика начала выполняться не только в Институте им. Д.О. Отта, но и непосредственно в МГЦ совместно с 17-м роддомом, появилось и несколько частных центров пренатальной диагностики (клиника Ава-Петер, «Медицина плода», центр пренатальной диагностики на Балканской). По инициативе МЗСР, в 2010 г. возникла и быстро стала массовой территориальная программа пренатальной диагностики, регламентирующая её проведение в I-м триместре беременности. В соответствии с велением времени изменялись и наполнялись новым содержанием распоряжения Комитета здравоохранения Санкт-Петербурга «О мерах по снижению наследственных и врождённых заболеваний у детей в Санкт-Петербурге».

Согласно распоряжению Комитета здравоохранения Правительства Санкт-Петербурга №39 от 02.02.2012 г., основу пренатальной диагностики в городе должен составлять комбинированный биохимический и ультразвуковой скрининг всех беременных на 10—13 неделях беременности с автоматическим расчётом риска хромосомной патологии (болезни Дауна) с использованием специальной компьютерной программы. Приятно отметить, что такой комбинированный скрининг с автоматическим расчётом риска впервые был применён в нашей лаборатории ещё в 2006 г. Тогда же нами был апробирован и алгоритм клиники одного дня, когда за один приём врача в течение 2 ч женщина проходит оба необходимых скрининга, получает расчёт риска и уходит с информацией о наличии или отсутствия у нее риска хромосомной патологии у плода. Естественно, что такой алгоритм более удобен для пациента и способствует повышению эффективности пренатальной диагностики.

Другим важным нововведением стало внедрение молекулярно-генетического метода диагностики частых хро-

мосомных болезней в клетках амниотической жидкости, а также в биоптатах других тканей (плаценты, хориона, крови плода). Высокая производительность, экономия времени, сравнительно низкая стоимость делает метод КФ-ПЦР очень удобным скринирующим подспорьем громоздкому, трудозатратному методу классического кариотипирования, однако, естественно, его не заменяет.

Важной новацией последних лет лаборатории пренатальной диагностики стала совместная разработка с Центром вспомогательных репродуктивных технологий Института им. Д.О. Отта методов доимплантационной диагностики. Методом FISH и методом двухэтапной ПЦР с использованием внутренних праймеров стала реальной диагностика частых хромосомных и некоторых генных (муковисцидоз) болезней уже на материале одного blastomera (клетки), выделенной из дробящейся оплодотворённой яйцеклетки человека. В ноябре 2013 г. данный подход был успешно применен для доимплантационной диагностики спинальной мышечной атрофии, в результате чего после трансплантации в матку дробящегося зародыша, не имеющего мутаций в гене *SMN*, наступила беременность.

Особого внимания для пренатальной диагностики, а также, в первую очередь, для верификации диагноза у плодов со стигмами хромосомной патологии, но без видимых под микроскопом нарушениями кариотипа имеет внедрение метода сравнительной геномной гибридизации на микроматрицах (метод CGH), осуществлённый в лаборатории пренатальной диагностики Института им. Д.О. Отта в 2012 г. Применение этой новой технологии позволяет установить точный диагноз больному ребёнку, более взвешенно судить о прогнозе его жизнеспособности.

4. Перспективы и горизонты медицинской генетики и пренатальной диагностики в Санкт-Петербурге

Ещё в 2000 г. автором обзора была высказана идея о том, что расшифровка генома человека, идентификация всех его генов, в том числе генов, мутации в которых ведут к тяжёлым наследственным заболеваниям или являются факторами предрасположенности к частым хроническим болезням, т.е. приведут к созданию банка

Таблица 2

Составляющие пренатальной диагностики

1.	Медико-генетическое консультирование
2.	УЗ-скрининг (10—11, 20—21 и 30—31 недели беременности)
3.	Биохимический скрининг (10—12, 15—18 недели беременности)
4.	Получение плодного материала (1—2 триместр беременности)
5.	Лабораторная диагностика: — цитогенетическая — молекулярная — биохимическая
6.	Рекомендации по результатам пренатальной диагностики

ДНК-данных каждого человека, его генетического паспорта. Данная концепция была активно воспринята медицинскими генетиками, получила широкое распространение при создании панелей тестирования наследственной предрасположенности.

Одним из вариантов генетического паспорта, разработанным непосредственно в лаборатории пренатальной диагностики Института им. Д.О. Отта, стала Генетическая карта репродуктивного здоровья (ГКРЗ). Наряду с результатами генетического консультирования она содержит информацию о кариотипе супругов, скрытом носительстве мутантных генов, вызывающих такие тяжёлые болезни у новорождённых, как муковисцидоз, фенилкетонурия, спинальная мышечная атрофия, миодистрофия Дюшенна, гемофилия, адрено-генитальный синдром, синдром ломкой X-хромосомы.

Наконец, полезными для здоровья беременной и жизни новорождённого могут быть результаты молекулярно-генетического анализа генов предрасположенности к заболеваниям, препятствующим наступлению беременности (эндометриоз) или существенно осложняющим её течение (тромбофилия, преэклампсия, невынашивание беременности, преждевременные роды, диабет и др.).

Данная карта успешно внедряется в Институте им. Д.О. Отта, однако для её всесторонней оценки и решения вопроса о целесообразности более широкого использования необходимы массовые и довольно затратные проспективные исследования. Мной как главным специалистом города по медицинской генетике в 2012 г. были запланированы и одобрены Комитетом здравоохранения Правительства Санкт-Петербурга такие исследования в рамках стратегической программы города по медицинской генетике до 2017 г. («Профилактика, диагностика и лечение наследственных пороков»). Однако реального финансирования для её выполнения пока нет.

Между тем, обращает на себя внимание, что именно профилактика наследственных болезней ещё до зачатия в настоящее время становится генеральной линией развития пренатальной диагностики в мире. Генетическое тестирование женщин, а при подтверждении наличия мутации и их супругов, уже широко практикуется в ряде стран в отношении таких тяжёлых болезней, как муковисцидоз, спинальная мышечная атрофия, синдром ломкой X-хромосомы. Активно разрабатывается чиповая технология для массового скринирования гетерозиготного носительства мутаций более 500 различных заболеваний.

Достоинны широкого внедрения в масштабах всего города для повышения эффективности пренатальной диагностики и качества медико-генетической службы и другие пункты ранее упомянутой стратегической программы развития города 2017—2025 гг. В частности:

- 1) технология молекулярной диагностики (метод КФ-ПЦР) наиболее частых хромосомных болезней;
- 2) доимплантационная диагностика генных и хромосомных болезней;

3) подтверждающая диагностика метаболических заболеваний;

4) технология сравнительной геномной гибридизации на микроматрицах (метод CGH) для диагностики микрохромосомных нарушений кариотипа;

5) секвенирование генома и неинвазивная диагностика генных и хромосомных болезней у плода.

Как уже отмечалось, метод КФ-ПЦР благодаря своей высокой производительности (20—30 образцов в день), сравнительно низкой себестоимости (2—2,5 тыс. руб.), высокой эффективности (точность диагностики 99,8%) открывает широкие возможности для скринирования женщин групп высокого риска частой хромосомной патологии. Наличие 3—4 аппаратов типа ABI 3600, запаса расходных средств и специально обученных сотрудников позволит организовать эффективный скрининг частых хромосомных болезней у плода всех беременных групп высокого риска, выявляемых по результатам биохимического или комбинированного скрининга в масштабах города. Внедрение данного метода может существенно повысить эффективность пренатальной диагностики.

Доимплантационная диагностика генных и хромосомных болезней — безусловное достижение медицинской генетики конца XX и начала XXI века. Следует, однако, помнить, что его применение возможно только в условиях клиники ЭКО, требует наличия высококлассных специалистов эмбриологов, генетиков и репродуктологов, прецизионной аппаратуры и является высокозатратным. Давая уникальную возможность бесплодным супружеским парам обрести потомство, эта технология никогда не станет массовой и не решит острой демографической проблемы нашей страны.

С 2007 г. в городе ведётся неонатальный скрининг новорождённых на 5 частых наследственных болезней, проводятся также скрининговые исследования 40 болезней обмена. После доукмплектования имеющейся аппаратурной базы МГЦ жидкостным масс-спектрометром станет возможной точная верификация диагноза у всех детей города с подозрением на наследственные болезни обмена.

Решающий прогресс медицинской генетики в городе может быть достигнут и благодаря внедрению метода сравнительной геномной гибридизации на матрицах (CGH). Секвенирование целого генома человека или только его смысловой части, кодирующей все белки организма (экзома), становится рутинной процедурой во многих генетических центрах передовых стран. Технология уже нашла широкое применение для поиска генов редких заболеваний, молекулярно-генетической верификации диагноза, для изучения особенностей генетического профиля частых многофакторных заболеваний. К сожалению, в России вследствие ограниченного доступа к соответствующим дорогостоящим приборам (ДНК-секвенаторам) и высокой стоимости анализа эта технология пока малодоступна. Её внедрение в медико-генетическую службу города представляется необходимым.

Особого внимания заслуживает широко обсуждаемая в настоящее время в печати и внесённая в программу стратегии развития медико-генетической службы города до 2017 г. неинвазивная пренатальная диагностика (НПД) генных и хромосомных болезней по клеткам или свободной ДНК плода в крови матери. Потенциально огромный рынок (свыше 150 млн беременных в год во всём мире), высокая эффективность (99,9%) диагностики частых хромосомных болезней у плода привлекла для развития данной технологии многие ведущие генетические центры США, Китая, Европы. Тесты активно рекламируются в средствах массовой информации, включая Интернет. Признавая высокую эффективность и специфичность данного теста, в настоящее время его рассматривают только как скринирующий, но не диагностический. Активно разрабатываются оптимальные способы внедрения данного теста в существующие и широко используемые алгоритмы пренатальной диагностики, включающие УЗ-скрининг, биохимический скрининг и пр. Вместе с тем, следует учитывать, что метод НПД быстро совершенствуется: расширяется спектр диагностируемых хромосомных болезней, сокращаются время диагностики и её стоимость. Нет сомнения, что в недалёком будущем он станет ведущим, если не основным, методом пренатальной диагностики. Естественно, что дальнейший прогресс всей медико-генетической службы Санкт-Петербурга и, особенно, пренатальной диагностики в значительной мере зависит от того, как быстро методы секвенирования генома человека, включая методы секвенирования нового поколения (NGS), станут доступными и будут внедрены в рутинные диагностические исследования города.

В качестве более отдалённых стратегических перспектив медико-генетической службы города считаю необходимым создать *Центр молекулярно-генетической диагностики*. Стратегическая необходимость такого центра в Санкт-Петербурге очевидна. Распыление дорогостоящего оборудования и высококвалифицированных кадров по специализированным лечебным учреждениям, создание мелких групп и лабораторий по молекулярной диагностике нерентабельны, неэффективны и, как показывает наш опыт их проверки, чреваты серьёзными диагностическими ошибками. Рабочим подразделением центра мог бы стать банк образцов ДНК населения города, составленный с учётом национальной принадлежности и клинических особенностей здоровья жителей. Наличие такого банка будет способствовать быстрому развитию клинической геномики, ускорит поиск генов «предрасположенности» к частым многофакторным болезням и их профилактику.

Учитывая большое значение, которое придаётся молекулярной диагностике широкого спектра наследственных заболеваний, в том числе и редким болезням обмена, и оптимизации поиска путей их лечения в составе данного центра или в качестве его самостоятельного филиала следует предусмотреть организацию *Информаци-*

онного центра диагностики, профилактики и лечения наследственных болезней. Наконец, особого внимания в стратегии медико-генетической службы города заслуживает создание *Многопрофильного научно-практического центра генной и клеточной терапии*. На фоне стремительно развивающихся технологий генной и клеточной терапии в США и Западной Европе, быстро нарастающим потоком уже внедрённых генно-инженерных и клеточных методов лечения необходимо признать, что генная терапия как таковая в России отсутствует. Такое состояние дел означает, что уже в ближайшем будущем страна рискует попасть в полную зависимость в этой области. Мы не только не будем иметь лекарственные препараты, т.е. генно-инженерные конструкции направленного действия, но не будем знать, как их грамотно применять. В Санкт-Петербурге уже много лет ценой героических усилий ряда маломощных лабораторий (ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, ФГБУ «НИИАГ им. Д.О. Отта» СЗО РАМН) ведутся исследования в этом направлении. Стратегия планирования здравоохранения в Санкт-Петербурге должна предусмотреть создание первого такого в стране центра, так необходимого для многих тысяч людей с наследственными заболеваниями. Такой центр может быть создан на базе отделения нервно-мышечных заболеваний 2-й Городской больницы (взрослый) и в больнице Раухфуса (детский).

Насколько мне известно, все вышепересмотренные проекты были подготовлены, представлены на конкурс в Комитет здравоохранения Правительства Санкт-Петербурга и получили одобрение ещё в 2012 г. в виде стратегического плана развития медико-генетической службы города («Профилактика, диагностика и лечение наследственных пороков»). Однако до сих пор о судьбе проекта и его отдельных составляющих ничего не известно, хотя приступить к реализации отдельных пунктов плана (генетический паспорт, молекулярная диагностика хромосомных болезней, анализ микрохромосомных нарушений) можно было уже в 2013 г.

Заключение

Отнюдь не умаляя вклад многих выдающихся отечественных учёных в становление и развитие медицинской генетики в нашей стране, таких, как Н.К. Кольцов, С.Г. Левит, В.В. Бунак, А.А. Прокофьева-Бельговская, Е.Е. Погосянц, Н.П. Бочков, А.Ф. Захаров, В.И. Иванов, В.М. Эфроимсон, Е.И. Вельтишев и другие, хотел бы обратить внимание на то, что начало медицинской и клинической генетики было заложено в Санкт-Петербурге (Ленинграде) практически одновременно с Москвой. Более того, волею счастливого случая, пренатальная диагностика, возникла также в нашем городе. Впервые она появилась в одноименной лаборатории НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта, окрепла, расширилась и оформилась как самостоятельное направление медицинской генетики в результате союза лаборато-

рии пренатальной диагностики и медико-генетического центра города, начало которому было положено академиком С.Н. Давиденковым и проф. Е.Ф. Давиденковой. Сегодня служба пренатальной диагностики города по всем основным показателям признана одной из лучших в России. За 25 лет существования только в самой лаборатории выполнено более 16 тыс. инвазивных операций у женщин высокого риска наследственной патологии у плода и выявлено свыше 1000 плодов с тяжёлыми хромосомными и генными болезнями. Массовый биохимический и УЗ-скрининг всех беременных, внедрение комбинированного и неонатального скрининга, молекулярная диагностика частых хромосомных болезней у плода, диагностика микрохромосомных перестроек на микроматрицах, разработка и внедрение генетической карты репродуктивного здоровья составляют основу современного алгоритма диагностики и профилактики наследственных и врождённых пороков развития у плода, широко применяемого в пренатальной диагностике города. Пренатальная диагностика — очень важная, но всё-таки лишь одна из составляющих многообразной деятельности медико-генетической службы города. Медико-генетическое консультирование, диагностика врождённых и наследственных заболеваний, неонатальный скрининг, ведение регионального регистра наследственных болезней, обеспечение лечебным питанием больных детей — вот далеко не полный перечень задач, успешно решаемых МГЦ города. В разработанной и утверждённой в 2012 г. программе стратегического развития медико-генетической службы города намечены основные направления и определены конкретные задачи, решение которых будет определять её уровень в уже недалёком будущем. Помимо существующих методов диагностики для массовых популяционных исследований программа предусматривает освоение и широкое использование новых технологий молекулярно-генетической диагностики, включая внедрение эффективных методов секвенирования геномов, создание единого Городского центра молекулярной диагностики, обширной коллекции образцов ДНК жителей города (ДНК-банка), Информационного центра, а также Центра клеточной и геномной терапии.

Выполнение такой обширной программы потребует серьёзных финансовых поступлений и существенных организационных преобразований, однако только двигаясь по этому намеченному пути, медико-генетическая служба города может сохранить свои лидирующие позиции, а её исполнители — стать достойными преемниками наших выдающихся предшественников.

Список литературы

1. Айламазян Э.К., Баранов В.С. Пренатальная диагностика наследственных и врожденных болезней. — М.: МЕД-пресс-информ, 2006. — 410 с.
2. Баранов В.С., Айламазян Э.К. (ред.) Современные алгоритмы и новые возможности пренатальной диагностики наследственных и врожденных заболеваний. — СПб.: Научная Литература, 2013. — 155 с.
3. Баранов В.С., Киселев Л.Л. Геном человека и молекулярная медицина // Геномика — медицине / В.И. Иванова, Л.Л. Киселев (ред.). — М.: ИКЦ «Академкнига», 2005. — С. 3—15.
4. Давиденков С.Н. Эволюционно-генетические проблемы в невропатологии. — Л., 1947.
5. Наследственные болезни нервной системы, 2-е изд-е. — М., 1932.
6. Проблема полиморфизма наследственных болезней нервной системы. — Л., 1934.
7. Клинические лекции по нервным болезням. Вып. 1—3. — Л., 1952. — 57 с.
8. Давиденкова Е.Ф. (ред.) Хромосомные болезни человека. — Л.: Медицина, 1965. — 185 с.
9. Давиденкова Е.Ф., Верлинская Д.К., Тысячнюк С.Ф. Клинические синдромы при аномалиях половых хромосом. — Л.: Медицина, 1973. — 201 с.
10. Давиденкова Е.Ф., Шерамн С.И., Колосова Н.Н. Клиника и генетика лейкозов. — Л.: Медицина, 1973. — 175 с.
11. Нейфах С.А., Шапошников А.М. Диета с уменьшенным содержанием белка для лечения фенилкетонурии // Вестн. АМН СССР. — 1967. — №22 (7). — С. 62—72.
12. Полищук А.М. История возникновения и развития медицинской генетики в России // Генетика в практике врача / В.Н. Горубнова, О.П. Романенко (ред.). — СПб.: Изд-во «Фолиант», 2013. — С. 371—400.
13. Филиппченко Ю.А. Интеллигенция и таланты // Известия Бюро по евгенике. — 1925. — №3. — С. 83—101.
14. Флоринский В.М. Усовершенствование и вырождение человеческого рода (1865; переиздана). — Томск: Изд-во Томского ун-та, 1995. — 151 с.

Development and perspectives of medical genetics in Saint-Petersburg

Baranov V.S.

FSBI «the D.O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology» NWB RAMS,
St.-Petersburg, Mendeleev Line, 3
E-mail: baranov@VB2475.spb.edu

The review of some major scientific events and prominent works of Russian scientists in the area of human and molecular genetics in support of basic impact of the scientists from Petrograd, Leningrad and Saint-Petersburg in the origin and development of medical genetics and prenatal diagnostics in Russia.

Key words: medical genetics, prenatal diagnostics, state of art, new approaches and perspectives

Проблемы эффективного использования ресурсов в биомедицинских исследованиях (от биологических коллекций к биобанкам)

Буйкин С.В., Кучер А.Н., Пузырев В.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «НИИ медицинской генетики»
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук;
Томск, 634050; факс: (3822) 51-37-44;
e-mail: stepan.buikin@medgenetics.ru; aksana.kucher@medgenetics.ru; valery.puzyrev@medgenetics.ru

Биомедицинские исследования все больше приобретают практическую направленность, а одним из наиболее актуальных направлений исследований является изучение основ многофакторных заболеваний (МФЗ). Во многих странах для достижения этой цели учреждены и успешно используются биологические банки (биобанки), где хранятся образцы ДНК, крови, тканей, клеточных культур больных и здоровых индивидов из различных популяций. Отсутствие опыта по созданию биобанков в России не позволяет в полной мере использовать накопленные разными исследовательскими коллективами ресурсы биологических коллекций. Анализ существующего опыта организации норм и правил международного биобанкинга и их адаптация к российским условиям позволит учесть и нивелировать многие проблемные моменты, с которыми могут столкнуться биологические банки на этапе их становления в России и стимулировать развитие данного направления биотехнологий. К числу таких вопросов относятся правовые нормы регулирования создания и функционирования биобанков, технические и инфраструктурные проблемы, менеджмент сопроводительной информации и т.д.

Ключевые слова: биобанк, биологические коллекции, биологический материал, базы данных

Введение

Биомедицинские исследования все больше приобретают практическую направленность, а одним из наиболее актуальных направлений исследований является изучение основ МФЗ. Это обусловлено тем, что многофакторные заболевания уже сейчас возглавляют список причин смертности населения земного шара и, по данным ВОЗ, к 2020 г. на долю МФЗ будет приходиться почти три четверти от всех смертей в мире [46]. Ожидания общества в целом и практического здравоохранения в частности от медико-биологических исследований основаны как на серьёзных успехах в области фундаментальных исследований (расшифрован геном человека, развивается функциональная геномика, протеомика и т.д.), так и на накопленных к настоящему времени знаниях о роли различных факторов в патогенезе, определении клинической картины и исходе многих заболеваний. Например, результаты активного изучения МФЗ на протяжении последних десятилетий, несмотря на их противоречивость, безоговорочно указывают на важность наследственных факторов в возникновении и развитии этих патологий [17]. Однако очевидно, что для выяснения структуры предрасположенности к заболеваниям многофакторной природы необходим анализ больших по численности выборок больных и здоровых индивидов (контрольных групп), так как именно от числа обследованных лиц (а также от критериев, которые были заданы при формировании групп для обследования) будет зависеть корректность полученных результатов и сделанных выводов в отношении значимости изу-

чаемых генетических и средовых факторов для возникновения и развития патологии [1, 6, 24, 29].

В последнее время сбор и формирование биологических коллекций проводится научными коллективами с использованием дизайна, определённого с учётом цели и задач конкретного исследования. В результате такого узкоспециализированного подхода для изучения одного и того же заболевания могут быть собраны несколько биологических коллекций, материал которых кардинально различается по детализации клинической картины, средовой компоненте и виду биологического образца (ткани, клетки, ДНК, сыворотка и т.д.), а также по этническому и половозрастному составу лиц, включённых в исследование. С одной стороны, это позволяет получить интересные данные по различным характеристикам изучаемых индивидов, с другой, — получаемые результаты часто бывают противоречивы, а причины противоречий труднообъяснимы исходя из имеющихся в распоряжении исследователей сведений. Как следствие, возникают определённые сложности в сопоставлении данных, полученных различными исследовательскими группами. Кроме того, собранный для первоначальной научной задачи биологический материал в дальнейшем может быть непригоден для использования в силу неинформативности (недостаточности) имеющихся сведений по обследованным индивидам для решения других задач.

Расширение возможностей современных технологий, позволяющих проводить детальный анализ путей реализации наследственной информации от гена к фену дополнительно актуализирует потребность в создании и

эффективном использовании ресурсов не просто больших, а гигантских биологических коллекций, которые должны быть охарактеризованы по широкому спектру биохимических, клинических и т.п. показателей и предоставлять возможность проведения молекулярно-генетического анализа [21]. Такие коллекции больше не могут быть собраны сотрудниками одной научной лаборатории (или даже института) за относительно короткий временной отрезок. Следовательно, необходима консолидация усилий множества исследовательских групп для создания и хранения таких массивов биологического материала и сопроводительной информации. Это, в свою очередь, требует стандартизации методик сбора биологических коллекций (в том числе, и по оформлению сопроводительной информации), использования сертифицированного специального оборудования, а также обязательного соблюдения локальных и международных этических правовых норм [2, 18, 22].

Во многих странах для достижения этой цели учреждены и успешно используются биологические банки (биобанки), где хранятся образцы ДНК, крови, тканей, клеточных культур больных и здоровых индивидов из различных популяций [31]. Первоначально создаваемые как простые хранилища биологического материала [41], современные биобанки являются самостоятельными организациями, которые могут ставить и решать научные задачи на региональном и международном уровнях [45]. Такие структуры тесно консолидированы с ведущими лечебно-диагностическими центрами, которые постоянно пополняют клиническую информацию и молекулярно-генетические данные, хранящиеся в их базах, в том числе и имеющие отношение к статусу здоровья доноров, что отслеживается в течение всей их жизни.

Биобанки различаются:

1) по размеру — от небольших специфических собраний редких болезней [32, 40] до огромных популяционных биобанков [35];

2) по цели — при медицинских центрах (для диагностических или для лечебных целей) [36], при исследовательских институтах (прежде всего для научных целей) [33];

3) по типу биологического материала — банки крови, клеточных культур, тканей [38].

Несмотря на такие различия, основная (но не единственная) функция биобанков — это сбор и хранение биологических образцов и сопроводительной информации к ним.

Важным условием рационального использования собранной коллекции биоматериалов являются её долгосрочное, правильное хранение и систематизация имеющихся данных [3, 37]. Этот процесс должен быть постоянным и динамичным и включать синтез, распространение, обмен и этическую оценку применения полученных при работе с материалом биобанков знаний для улучшения здоровья населения, разработки и приме-

нения более эффективных диагностических и лечебных технологий, а также повышения эффективности системы здравоохранения [19]. Данный подход позволяет добиться оптимального взаимодействия научной и практической медицины, стимулируя развитие проектов в области медико-биологических исследований (в том числе, и в отношении МФЗ) и скорейшего внедрения в практику научных достижений. Именно биобанки могут служить таким трансформатором научного знания в практику [34, 48].

В Российской Федерации отсутствуют биобанки, соответствующие уровню и масштабу ведущих биобанков США и Европы. Активно развиваются только коммерческие биобанки (например, предназначенные для хранения пуповинной крови (<http://www.gemabank.ru/>, <http://www.cryocenter.ru/>). В то же время, хотя презентация научных коллекций биологического материала российскими исследователями в специализированной литературе крайне скудна, анализ публикаций отечественных журналов, касающихся медико-генетической тематики, позволяет предполагать, что во многих научных учреждениях, занимающихся исследованиями в области биологии и медицины, существуют коллекции биологического материала [3]. Отсутствие опыта по созданию биобанков в России не позволяет в полной мере использовать накопленные разными исследовательскими коллективами ресурсы биологических коллекций. Возникают трудности, связанные с недостатком информации о таких коллекциях и их составе, с отсутствием информации о возможности обмена образцами и сопроводительными данными между научными группами. Недостаточное число нормативных актов и законодательной базы, регламентирующей сбор, хранение и ротацию биологических образцов, является причиной «закрытости» большинства собранных биологических коллекций и низкой распространённости коллаборативных исследований, проводимых на территории РФ. Анализ существующих норм и правил международного биобанкинга и их адаптация к российским условиям позволит учесть и нивелировать многие проблемные моменты, с которыми могут столкнуться биологические банки на этапе их становления в России, установить чёткие правила для всех участников (пациенты, врачи, учёные, инвесторы и т.д.) и стимулировать развитие данного направления биотехнологий. К числу таких вопросов относятся правовые нормы регулирования создания и функционирования биобанков, технические и инфраструктурные проблемы, менеджмент сопроводительной информации и т.п. (таблица).

Правовые нормы регулирования биобанкинга

Разработка нормативных документов должна затрагивать как минимум два аспекта деятельности биобанков: защита прав доноров биобанков и регламентация работы сотрудничающих научных и медицинских цент-

ров [23]. Всё более актуальными становятся вопросы нормативного регулирования взаимодействия биологических банков, локализованных в различных странах [25]. Это обусловлено стремительным ростом числа многоцентровых научных исследований, выполняемых коллективами различных стран мира. В качестве примера можно привести британскую Банковскую сеть ДНК ([http:// www.dna-network.ac.uk](http://www.dna-network.ac.uk)) [47] и TuBaFrost ([http:// www.tubafrost.org](http://www.tubafrost.org)) [37], общество Европейских биобанков European Society for Biopreservation and Biobanking (www.esbb.org). Тем не менее, две трети биобанков в странах Европы всё ещё являются автономными учреждениями, тогда как у оставшейся части уже есть сформировавшиеся постоянные контакты с другими биобанками не только на местном, но и на международном уровнях [49]. В то же время, регулирование деятельности биобанков на международном уровне чрезвычайно фрагментировано и сталкивает исследователей с лабиринтом законов, нормативных актов и рекомендаций, которые излишне усложняют сотрудничество [43, 44].

В настоящее время нет каких-либо международных стандартов, регламентирующих как доступ к биологическим образцам, так и права на интеллектуальную собственность биобанков [26]. Так, международные инструкции, регламентирующие деятельность биобанков, дают различные рекомендации в отношении возможности использования коллекций биологического материала: от требования применять биологический материал только при наличии специального согласия донора на участие в международных проектах до широкого международного использования биологических образцов (инструкции ВОЗ), для которых есть стандартное информированное согласие, на условиях анонимности [39]. Одним из подходов для решения этого вопроса может быть разработка универсального (расширенного) информированного согласия, которое включало бы пункты о возможности международного использования материалов биобанков на условиях анонимности. Уже сейчас примерно у двух третей биобанков присутствует форма информированного согласия, ориентированная на возможность передачи образцов третьей стороне [49]. Государственные (нацио-

Этапы создания и развития биологических банков в России и за рубежом

Решаемые вопросы	За рубежом	В России
Правовые нормы регулирования биобанкинга		
Получение согласия доноров биобанка на участие в международных исследованиях	Утверждение общей формы информированного согласия, включающего согласие на международный обмен образцами и сопроводительной информацией	Разработка регламента обращения биологических образцов в международных исследованиях с привлечением учёных и экспертов в области права. Параллельная разработка аналогичного регламента по обращению биологических образцов на территории РФ
Правовое регулирование интеллектуальной собственности	Утверждение международных стандартов, регламентирующих права на интеллектуальную собственность, полученную при использовании биобанков	Разработка разъяснений к четвёртой части Гражданского кодекса в отношении интеллектуальной собственности научных результатов, полученных при использовании биобанков
Правовое регулирование собственности на биологические образцы	"Соглашения о передаче материала", в том числе включающее следующие пункты: — описание образцов; — лимит использования; — права на дальнейшее распределение образцов; — возврат образцов	Разработка вариантов типовых форм "Соглашений о передаче материала", используемых для обращения биообразцов на территории РФ и при международном сотрудничестве
Технические и инфраструктурные проблемы		
Различающиеся протоколы сбора и хранения биологических образцов	Принятие общих стандартов для сбора, обработки и хранения образцов	Разработка стандартов для сбора, обработки и хранения образцов на территории РФ с учётом принятых международных протоколов
Сопроводительная информация биологических образцов		
Перенос сопроводительной информации из медицинских карт в базу данных биобанка	Разработка стандартизированных понятий-архетипов на основе электронных историй болезни	На этапе внедрения системы электронного документооборота в ЛПУ РФ предусмотреть возможность её интеграции с базой данных биобанка
Различное время транспортировки биообразца в биобанк	Открытие локальных центров сбора биологических образцов, оптимизация логистических решений	Использование инфраструктуры и оборудования ЛПУ при предварительном обучении персонала и стандартизации всех этапов создания биоколлекций

нальные) биобанки обычно действуют в соответствии с декларируемым обязательством предоставлять хранившиеся у них образцы для международных исследований и ориентируются исключительно на наиболее эффективное научное применение биоматериала.

С точки зрения прав доступа к коллекционным материалам, биобанкам целесообразно принять и зарегистрировать чёткие правила в отношении хранения и распределения (обмена) образцов. Данная проблема может быть решена путём оформления «Соглашения о передаче материала», включающее описание образцов, которые будут представлены, обязательства, права на дальнейшее распределение образцов и вопросов, связанных с правами собственности [20].

В России отсутствуют нормативные акты, непосредственно регламентирующие функционирование биобанков. К законам, косвенно регулирующим это направление деятельности, можно отнести Федеральный закон (ФЗ) «О государственной геномной регистрации в Российской Федерации» [7] и ФЗ «О персональных данных» [8]. В разработке находятся и другие законодательные документы. Так, на сайте Министерства здравоохранения РФ представлен проект ФЗ «Об обращении биомедицинских клеточных продуктов», определяющий правила обращения одноименного вида биологического материала [11]. Следует отметить, что на фоне явного дефицита нормативных актов в данной области, целый ряд распоряжений Правительства РФ и приказов Минздрава РФ рассматривают организацию и функционирование биобанков как один из необходимых элементов в развитии фундаментального [15, 16] и медицинского [13] направлений науки, а также в развитии биотехнологий и геномной инженерии [14]. В частности, в «Стратегии развития биотехнологий и геномной инженерии» в IV квартале 2018 г. планируется «...открытие национального депозитария биоматериалов, включающего биобанки разного уровня...» [14].

С учётом вышесказанного можно заключить, что в настоящее время актуальными являются разработка и утверждение полного пакета регламентирующих законодательных актов с целью предотвращения функционирования российских биобанков в законодательном вакууме. Прежде всего, необходим законодательно утверждённый регламент обращения всех видов биологических образцов на территории РФ и правила трансграничной передачи. Также требуется разъяснение к четвёртой части Гражданского кодекса РФ [5], определяющее права на результаты интеллектуальной деятельности, полученные с использованием биологических банков.

Технические и инфраструктурные проблемы

Проблема внутригосударственной и международной стандартизации процедур и протоколов биобанков касается не только очевидных юридических, этических и технологических вопросов, но и инфраструктуры лабо-

раторий, в которых происходит сбор и хранение коллекции образцов. Так, больше 50% биобанков Европейского союза совместно используют унифицированные данные и образцы при проведении совместных исследований, однако, несмотря на это, даже в профессиональной среде наблюдается нехватка утверждённых стандартов для сбора, обработки и хранения образцов и сопроводительной информации [44]. Именно этот дефицит стандартов расценен многими исследователями как главное препятствие международному научному сотрудничеству в области биобанков [49].

В недавнем исследовании представлены результаты опроса служащих локальных центров сбора биообразцов (венозной крови) относительно:

- 1) промежутка времени от забора образца до типового центрифугирования;
- 2) наличия охлаждения центрифуги;
- 3) местных условий хранения.

В то время как охлаждаемые центрифуги и морозильные шкафы (-20°C и ниже) были доступны почти во всех локальных центрах, время транспортировки изменялось экстенсивно. Подавляющее большинство (82%) центров гарантировало время транспортировки менее 30 мин, однако остальным (18%) было необходимо от 30 до 60 мин для доставки образца в лабораторию [30]. Различия в условиях сбора и транспортировки биологических материалов могут повлиять на целостность образца, что, в свою очередь, может сказаться на результатах анализа.

Все аспекты формирования выборки и стандартного хранения до и во время отправки образца должны рассматриваться как важнейшие элементы преданалитических стадий биобанковского дела. Даже незначительные изменения в условиях преданалитических этапов могут привести к искажению результатов исследований и создать серьёзные проблемы при интерпретации полученных результатов. Конкретному исследователю, использующему биоматериал, будет довольно трудно выявить подобные ошибки (различия в условиях сбора, доставки и хранения биоматериала), особенно когда в исследование включены образцы из разных биобанков, использующих различные преданалитические протоколы. Для устранения этой проблемы необходимо:

1) разработать строгий стандартный порядок действий (СПД) и принять меры по соблюдению единых условий на всех этапах получения, транспортировки, преданалитической обработки, хранения материала и его передачи сотрудничающим научным центрам, согласно изданным руководствам, а также по обеспечению контроля качества;

2) СПД и нормативы гарантии качества должны быть согласованы как с региональными (национальными), так и с международными биобанками. Успешному решению этого вопроса может способствовать создание межгосударственных структур по контролю за выполнением рекомендаций и протоколов для биобанков.

Для РФ планирование этапов сбора и транспортировки биологических образцов для национального депозитария является одной из ключевых задач, учитывая территориальную протяжённость и особенности транспортной доступности в пределах страны. Организация локальных центров сбора и преданалитической обработки образцов, обучение персонала и разработка логистических схем транспортировки с нуля потребуют существенных финансовых и человеческих ресурсов [27]. Наиболее оптимальным для этих целей может рассматриваться использование инфраструктуры медицинских центров с предварительным обучением медицинского персонала, внедрением стандартов и, при необходимости, обновлением оборудования. Логистическая составляющая может быть поручена специализированным службам экспресс-доставки (при наличии соответствующей квалификации персонала и условии соблюдения внедрённых стандартов транспортировки), обладающих необходимым опытом и оборудованием.

Сопроводительная информация биологических образцов

Одним из серьёзных технических вопросов, решение которых следует предусмотреть для оптимизации взаимодействия биобанков и клинических центров, являются сбор и хранение сопроводительной информации [4]. В базе данных (БД) биобанка хранится информация, которую обычно можно подразделить на несколько типов: клинические данные о пациенте/доноре, анкетные (демографические) сведения, характеристика образцов биологического материала и административная информация [45]. При формировании БД биобанка клиническая информация обычно вручную извлекается из историй болезни пациентов, анкетных данных и каждый раз при инициации нового исследовательского проекта затрачиваются колоссальные интеллектуальные и материальные ресурсы на создание специфической архитектуры хранения информации (базы данных) [28]. Вследствие отсутствия единых стандартов в организации клинической или другой сопутствующей информации в архитектуре БД возникают трудности по выбору и объединению информации, что ограничивает возможности сотрудничества и препятствует полномасштабному использованию ресурсов биобанков [47].

Попыткой решения данной проблемы является использование стандартизированных понятий — архетипов с целью разработки единого формата организации данных в биобанках. Архетипы несут в себе правила, которые проверяют качество данных, и они могут быть использованы при вводе информации для обеспечения их корректности. Преимуществом такого подхода является то, что при эволюции клинических концепций не потребуются изменения программного обеспечения на фундаментальном уровне. В настоящее время очевидны перспективы повсеместного использования универсальных архетипов в контексте биомедицинского исследования [42]. Многие архе-

типы, первоначально разработанные для электронных историй болезней, могут повторно использоваться, чтобы моделировать клинические/фенотипические сведения и информацию о выборке в контексте биобанка.

В соответствии с ФЗ РФ «Об организации предоставления государственных и муниципальных услуг» [12] активно развивается направление «электронные услуги» (Электронное правительство), в том числе в сфере здравоохранения [9]. В рамках реализации данного направления в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) РФ внедряется система электронного документооборота, которая позволяет осуществлять обмен данными между учреждениями посредством автоматизации процессов регистрации, ведения пациентов, формирования отчётов и т.п. в поликлиниках и стационарах, а также обеспечивает централизованный сбор показателей, необходимых для мониторинга и принятия управленческих решений по всей подведомственной сети [10]. Реализация принципов, заложенных в системе, предполагает перспективу создания в регионе единой базы данных учреждений здравоохранения и обмен данными в режиме онлайн через Интернет.

Реализация принципов архетипов на уровне электронной базы данных ЛПУ с последующей её интеграцией с БД биобанка позволит обеспечить поступление постоянной актуальной информации относительно состояния здоровья индивидов, биологические образцы которых хранятся в биобанке, что крайне необходимо для оценки вклада средовых и генетических факторов в формирование и развитие патологических состояний, для разработки эффективных профилактических программ на основании полученных молекулярно-генетических данных, а также для выявления новых мишеней и разработки эффективных таргетных лекарственных средств.

Заключение

Объём и спектр информации, которая в ближайшее время будет востребована в биотехнологии и медицине, настолько велики, что и учёные, и медики постоянно будут испытывать её дефицит. Именно биобанки могут стать эффективным методом решения этой проблемы. В связи с этим долгосрочное управление и использование коллекций биобанков — это те социальные процессы с этно-правовыми последствиями, на которых нужно сосредоточить максимум усилий различных специалистов. Для эффективной реализации научно-исследовательских и медицинских программ с участием биологических банков необходимы усилия не только учёных, специалистов здравоохранения, юристов и экспертов в информационных технологиях, но и активное участие представителей бизнеса и политических деятелей. Ни одна из перечисленных групп не сможет решить эти задачи в одиночку, и ни одна из групп не сможет быть ведущей, так как биологические банки являются трансдисциплинарным проектом и в последующем этот статус за биобанками сохранится.

Список литературы

1. Брагина Е.Ю., Буйкин С.В. Влияние численности контрольной выборки на значимость ассоциаций генетических маркеров с развитием мультифакториальных заболеваний // Якутский медицинский журнал. — 2009. — Т. 26, №2. — С. 142—144.
2. Брагина Е.Ю., Буйкин С.В., Пузырев В.П. Биологические банки: проблемы и перспективы их использования в исследованиях генетических аспектов комплексных заболеваний человека // Медицинская генетика. — 2009. — №3. — С. 20—27.
3. Буйкин С.В., Брагина Е.Ю., Конева Л.А. Разработка структуры базы данных для биобанков // Якутский медицинский журнал. — 2011. — №1. — С. 70—73.
4. Буйкин С.В., Брагина Е.Ю., Конева Л.А., Пузырев В.П. Базы данных коллекций биологического материала: организация сопроводительной информации // Бюллетень сибирской медицины. — 2012. — №1. — С. 111—121.
5. Гражданский кодекс РФ [Интернет]. 2013. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: <http://base.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc; base=LAW; n=148685>.
6. Кучер А.Н. Исследование ассоциаций аллельных вариантов генов с мультифакториальными заболеваниями: проблемы формирования контрольных групп // Генетика человека и патология: Сб. науч. трудов. — Томск: Печатная мануфактура, 2007; Вып. 8. — 350 с.
7. О государственной геномной регистрации в Российской Федерации. Федеральный Закон РФ №242-ФЗ (31.12.2008) // Российская газета №4808 от 9 декабря 2008 г.
8. О персональных данных. Федеральный Закон РФ №152-ФЗ (27.07.2006) // Российская газета №4131 от 29 июля 2006 г.
9. О подкомиссии по развитию электронного здравоохранения. Постановление Правительства РФ №1048 (21.11.2013). [Интернет]. 2013. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: <http://base.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc; base=LAW; n=154683>.
10. О присоединении информационных систем организаций к инфраструктуре, обеспечивающей информационно-технологическое взаимодействие информационных систем, используемых для предоставления государственных и муниципальных услуг в электронной форме. Постановление Правительства РФ №1382 (22.11.2012) [Интернет]. 2012. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: <http://base.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc; base=LAW; n=154869>.
11. Об обращении биомедицинских клеточных продуктов. Проект Федерального закона РФ (18.01.2013) [Интернет]. 2013. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: http://www.rosminzdrav.ru/docs/doc_projects/905.
12. Об организации предоставления государственных и муниципальных услуг. Федеральный закон РФ №210-ФЗ (27.07.2010) Российская газета №5247 от 30 июля 2010 г.
13. Об утверждении научных платформ медицинской науки. Приказ Минздрава РФ №281 (30.04.2013) [Интернет]. 2013. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: <http://base.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc; base=EXP; n=557846>.
14. Об утверждении плана мероприятий («дорожной карты») «Развитие биотехнологий и геномной инженерии». Распоряжение Правительства РФ №1247-р (18.07.2013) [Интернет]. 2013. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: <http://base.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc; base=LAW; n=149617>.
15. Об утверждении Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013—2020 годы. Распоряжение Правительства РФ №2237-р (ред. 12.04.2013) [Интернет]. 2013. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: <http://base.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc; base=LAW; n=145085>.
16. Об утверждении стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года. Распоряжение Правительства РФ №2580-р (28.12.2012) [Интернет]. 2012. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: <http://base.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc; base=LAW; n=140249>.
17. Пузырев В.П. Генетический взгляд на феномен соматической патологии человека // Медицинская генетика. — 2008. — №9. — С. 3—9.
18. Allen J., McNamara B. Reconsidering the value of consent in biobank research // Bioethics. — 2011. — Vol. 25, №3. — P. 155—166.
19. Bates S. Progress towards personalized medicine // Drug Discov. Today. — 2010. — Vol. 15. — P. 115—120.
20. Best Practices for biospecimen resources. National Cancer Institute. Table of contents. [Интернет]. 2007. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: <http://biospecimens.cancer.gov/bestpractices/toc/2011>.
21. Burton P.R., Hansell A.L., Fortier I. et al. Size matters: just how big is BIG?: Quantifying realistic sample size requirements for human genome epidemiology // Int. J. Epidemiol. — 2009. — Vol. 38, №1. — P. 263—273.
22. Corrigan O., Petersen A. UK biobank: bioethics as a technology of governance // Biobanks: governance in comparative perspective / Gottweis H., Petersen A., eds. — London: Routledge, 2008. — P. 143—158.
23. Critchley C.R., Nicol D., Otlowski M.F., Stranger M.J. Predicting intention to biobank: a national survey // Eur. J. Public. Health. — 2012. — Vol. 22, №1. — P. 139—144.
24. Diamandis M., White N.M., Yousef G.M. Personalized medicine: marking a new epoch in cancer patient management // Mol. Cancer Res. — 2010. — Vol. 8. — P. 1175—1187.
25. Doiron D., Raina P., Ferretti V. et al. Facilitating Collaborative Research: Implementing a Platform Supporting Data Harmonization and Pooling // Norw. J. Epidemiol. — 2012. — Vol. 21, №2. — P. 221—224.
26. Goebel J.W., Pickardt T., Bedau M. et al. Legal and ethical consequences of international biobanking from a national perspective: the German BMB-EU Coop project // Eur. J. Hum. Genet. — 2010. — Vol. 18. — P. 522—525.
27. Gonzalez-Sanchez M., Lopez-Valeiras E., Morente M., Lago O. Cost Model for Biobanks // Biopreserv. Biobanking. — 2013. — Vol. 11, №5. — P. 272—277.
28. Grimson J. Delivering the electronic healthcare record for the 21 century // Int. J. Med. Inform. — 2001. — Vol. 64. — P. 111—127.
29. Ioannidis J.P. Population-Wide Generalizability of Genome-Wide Discovered Associations // J. Natl. Cancer Inst. — 2009. — Vol. 101, №19. — P. 1297—1299.
30. Kiehnopf M., Krawczak M. Biobanking and international interoperability: samples // Hum. Genet. — 2011. — Vol. 130. — P. 369—376.
31. Knoppers B.M., Hudson T.J. The art and science of biobanking // Hum. Genet. — 2011. — Vol. 130. — P. 329—332.
32. Martin N., Krol P., Smith S. et al. A national registry for juvenile dermatomyositis and other pediatric idiopathic inflammatory myopathies: 10 years' experience; the Juvenile Dermatomyositis National (UK and Ireland) Cohort Biomarker Study and Repository for Idiopathic Inflammatory Myopathies // Rheumatology (Oxford, U.K.). — 2011. — Vol. 50, №1. — P. 137—145.
33. Matimba A., Oluka M.N., Ebeshi B.U. et al. Establishment of a biobank and pharmacogenetics database of African populations // Eur. J. Hum. Genet. — 2008. — Vol. 16. — P. 780—785.
34. Murtagh M.J., Demir I., Harris J.R., Burton P.R. Realizing the promise of population biobanks: a new model for translation // Hum. Genet. — 2011. — Vol. 130. — P. 333—345.

35. Pukkala E., Andersen A., Berglund G. et al. Nordic biological specimen banks as basis for studies of and control more than 2 million sample donors, 25 million years and 100 000 prospective cancers // *Acta Oncol.* — 2007. — Vol. 46. — P. 286–307.
36. Riegman P.H., Morente M.M., Betsou F. et al. Biobanking for better healthcare // *Mol. Oncol.* — 2008. — Vol. 2. — P. 213–222.
37. Riegman P.H., Oomen M.H., Dinjens W.N. et al. TuBaFrost: European virtual tumor tissue banking // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2006. — Vol. 587. — P. 65–74.
38. Riegman P.H., van Veen E.B. Biobanking residual tissues // *Hum. Genet.* — 2011. — Vol. 130. — P. 357–368.
39. Salvaterra E., Lecchi L., Giovanelli S. et al. Banking together: a unified model for informed consent for biobanking // *EMBO Reports.* — 2008. — Vol. 9. — P. 307–313.
40. Schena F.P., Cerullo G., Torres D.D. et al. The IgA nephropathy Biobank. An important starting point for the genetic dissection of a complex trait // *BMC Nephrol.* — 2005. — Vol. 6. — P. 14.
41. Sherman J.K. Synopsis of the use of frozen human semen since 1964: state of the art of human semen banking // *Fertil. Steril.* — 1973. — Vol. 24. — P. 397–412.
42. Spath M.B., Grimson J. Applying the archetype approach to the database of a biobank information management system // *Int. J. Med. Inform.* — 2011. — Vol. 80, №3. — P. 205–226.
43. Vaught J., Lockhart N.C. The evolution of biobanking best practices // *Clin. Chim. Acta.* — 2012. — Vol. 413. — P. 1569–1575.
44. Vaught J.B., Caboux E., Hainaut P. International efforts to develop biospecimen best practices // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2010. — Vol. 19. — P. 912–915.
45. Watson P.H., Wilson-McManus J.E., Barnes R.O. et al. Evolutionary concepts in biobanking — the BC BioLibrary // *J. Trans. Med.* — 2009. — Vol. 7. — P. 95.
46. World Health Organization Report [Интернет]. 2011. [cited 2013 Dec. 23]. Available from: <http://www.who.int/gho/en/>.
47. Yuille M., Dixon K., Platt A. et al. The UK DNA banking network: a «fair access» biobank // *Cell Tissue Banking.* — 2010. — Vol. 11. — P. 241–251.
48. Zielhuis G.A. Biobanking for epidemiology // *Public Health.* — 2012. — Vol. 126. — P. 214–216.
49. Zika E., Paci D., den Baumen T. et al. eds. Biobanks in Europe: prospects for harmonization and networking. European Commission Joint Research Center Institute for Prospective Technological Studies, 2010. — P. 258.

Problems of effective use of resources in biomedical study (from biological collections to biobanks)

Buikin S.V., Kucher A.N., Puzyrev V.P.

Institute of Medical Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences;
634050, Tomsk, fax: (3822) 51-37-44, e-mail: stepan.buikin@medgenetics.ru

Biomedical studies are become more practical, and one of the most actual directions is studying of common diseases basis. Biobanks, where stored samples of DNA, blood, tissues, cellular cultures of patients and healthy individuals of various populations are founded and use in many countries. Lack of experience of biobanks creation in Russia doesn't allow using the resources of biological collections from different research collectives. The analysis of existing experience of the organization of the international biobanking norms and rules and their adaptation circumstances in Russia will allow to consider many problems with biological banks organization and stimulate development in that direction. Rules of law of biobanks creation and function, technical and infrastructure problems, management of accompanying information, etc. are among such questions.

Key words: biobank, biological collections, biological material, databases

Результаты анкетирования родителей больных фенилкетонурией детей.

Сообщение 2.

Информированность родителей о генетическом риске и пренатальной диагностике фенилкетонурии*

Ижевская В.Л.¹, Иванова Л.Ю.², Борзов Е.А.¹, Журавлева И.В.², Гинтер Е.К.¹

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1; e-mail: izhevskaya@med-gen.ru

² — Федеральное государственное учреждение науки «Институт социологии» Российской академии наук, 117218, Москва, ул. Кржижановского 24/35, корп. 5

Представлены результаты анкетного опроса, позволяющего оценить информированность родителей больных фенилкетонурией (ФКУ) детей о повторном риске рождения больного ребёнка, возможностях пренатальной диагностики (ПД) ФКУ и риске осложнений при проведении ПД. В опросе приняли участие 187 матерей больных ФКУ детей, проживающих в Москве, Московской области, Краснодарском крае, Санкт-Петербурге, Ростовской области. Показано, что более трети респондентов не могут назвать значения повторного риска, а чуть менее половины из них склонны занижать его оценку, относя риск в категорию среднего или низкого. Доля респондентов, правильно указавших значение повторного риска, была достоверно выше среди жителей мегаполисов и крупных городов, а также среди матерей больных ФКУ детей, имевших высшее образование. Большинство родителей (более 80%) знало о ПД ФКУ, однако вопросы о ПД ФКУ вызвали наименьший интерес среди участников опроса. На это указывает высокая доля респондентов (до 60%), ответивших «не помню» или не давших ответа на вопросы о ПД.

Ключевые слова: фенилкетонурия, медико-генетическое консультирование, генетический риск, пренатальная диагностика

Введение

Скрининг новорождённых на поддающиеся лечению заболевания, в первую очередь на ФКУ, принят как часть рутинной помощи новорождённым в большинстве стран. Основная цель обязательного скрининга новорождённых — раннее лечение заболевания для предупреждения развития клинических проявлений или осложнений заболевания. Общепринято, что обязательный скрининг новорождённых проводится в интересах выявляемых больных детей для своевременной диагностики и лечения. Обязательным условием его проведения является доступность своевременного и адекватного лечения заболевания [12]. Однако в рамках программ неонатального скрининга на наследственные заболевания могут решаться и иные задачи. Результаты скрининга позволяют выявить супружеские пары, имеющие высокий повторный риск рождения больного ребёнка, провести медико-генетическое консультирование этих пар и предоставить им информацию о генетической природе заболевания, риске повторения его в семье, возможностях ДНК-тестирования, в том числе пренатального

[11]. Медико-генетическое консультирование в рамках программ неонатального скрининга позволяет родителям больных детей принять информированное решение относительно дальнейшего репродуктивного поведения в условиях расширившихся возможностей ПД.

При введении национальных программ неонатального скрининга требуется создание сети медико-генетических консультаций (МГК) и обязательное медико-генетическое консультирование супругов, которые получили неблагоприятные результаты тестирования детей [12].

В Российской Федерации скрининг новорождённых проводится региональными МГК, выявленные больные ФКУ состоят в них на диспансерном учёте и регулярно наблюдаются врачом для контроля уровня фенилаланина в крови и коррекции диетотерапии [4]. Такая организация неонатального скрининга на ФКУ даёт возможность провести медико-генетическое консультирование родителей больных детей и предоставить им необходимую генетическую информацию, при необходимости неоднократно (рис. 1).

* Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ, проекты №10-06-00377а и 13-06-00710а.

Авторы исследования выражают благодарность руководителям медико-генетических консультаций к.м.н. Е.А. Денисенковой (Москва), д.м.н. О.П. Романенко (г. Санкт-Петербург), д.м.н. Л.А. Жученко (Московская обл.), д.м.н. С.С. Амелиной (Ростовская обл.) и сотрудникам возглавляемых ими коллективов за помощь в проведении исследования.

Целью настоящего исследования была оценка отношения родителей детей, больных ФКУ, к различным аспектам медико-генетической помощи и выявление социально-демографических факторов, которые могут влиять на восприятие ими генетической информации, в том числе информации о повторном риске рождения больного ребёнка и возможностях ПД. В предыдущей статье [2] нами были проанализированы социально-демографические характеристики выборки родителей больных ФКУ детей, принявших участие в исследовании, а также некоторые аспекты, касающиеся диагностики и лечения их больных детей. Была констатирована крайне низкая информированность российских женщин до наступления беременности об обследовании новорождённых на ФКУ. Установлено также существенное значение места жительства семьи для таких важных для эффективного лечения показателей, как возраст установления диагноза и возраст начала лечения. Показана зависимость точности выполнения рекомендаций по лечению и регулярности контактов

с МГК для его контроля от уровня образования родителей и возраста, в котором был поставлен диагноз ребёнку и начато его лечение.

В статье представлены данные о результатах медико-генетического консультирования родителей больных ФКУ детей в отношении запоминания ими информации о повторном риске рождения больного ребёнка, полученной от врача-генетика, о возможности ПД ФКУ и риске осложнений при её проведении.

Материалы и методы

В опросе приняли участие 187 матерей больных ФКУ детей, проживающих в Москве, Московской области, Краснодарском крае, Санкт-Петербурге, Ростовской области.

Для опроса была разработана анкета, содержащая 39 вопросов, позволяющих оценить социально-демографические характеристики, отношение родителей к некоторым медицинским и генетическим аспектам забо-

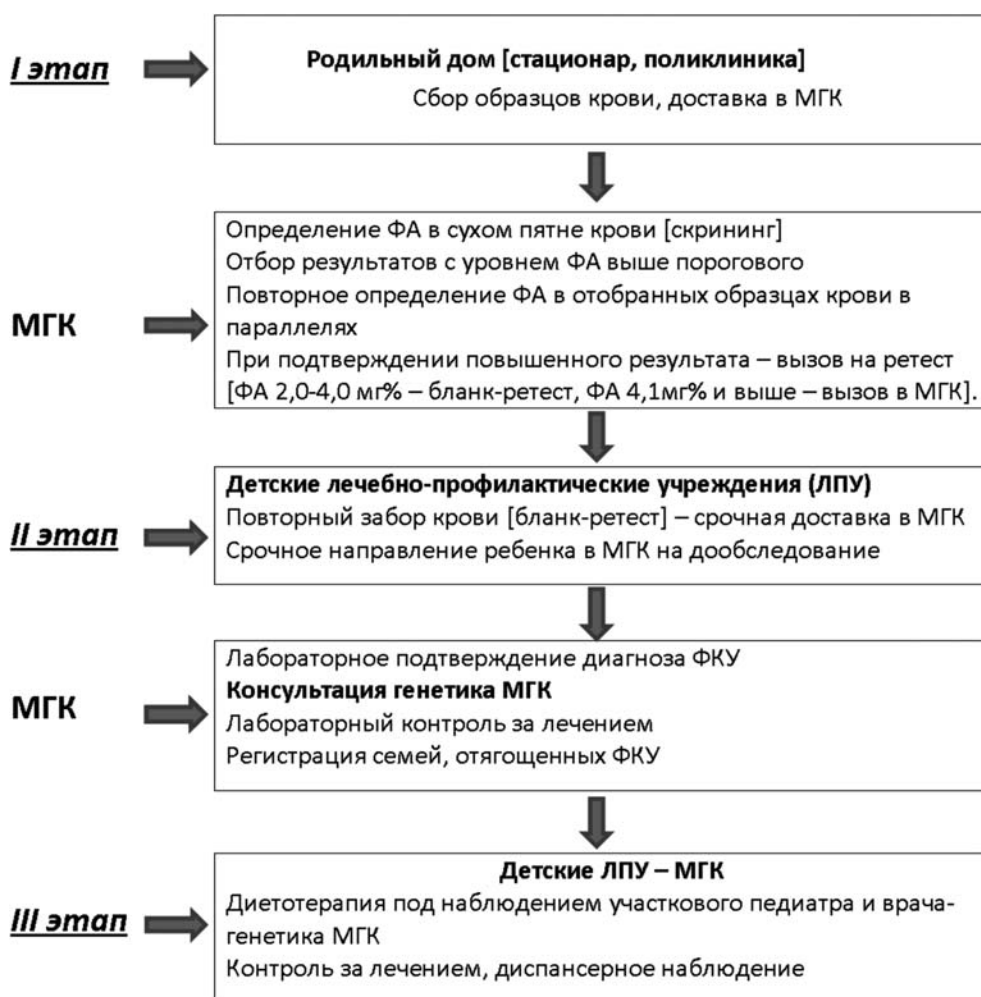


Рис. 1. Этапы проведения скрининга на ФКУ (по [4])

Таблица 1

Распределение ответов респондентов на вопросы анкеты о риске повторения ФКУ в семье

Кто объяснил вам, что ФКУ — наследственное заболевание и почему оно возникло?	
Участковый педиатр	3 (1,6%)
Врач-генетик в медико-генетической консультации	184 (98,4%)
Объяснил ли вам врач-генетик, что такое риск повторного рождения ребёнка с ФКУ в вашей семье?	
Да	176 (93,6%)
Нет	8 (4,3%)
Не помню	3 (1,6%)
Нет ответа	1 (0,5%)
Поняли ли вы, каков риск повторного появления ФКУ в вашей семье?	
Да	165 (88,2%)
Нет	3 (1,6%)
Не знаю	13 (7,0%)
Нет ответа	6 (3,2%)

левания и ПД, их репродуктивные планы. Подробное описание анкеты приведено в нашей предыдущей публикации [2].

В настоящей статье дан анализ ответов респондентов на вопросы, посвящённые пониманию семьёй информации, полученной во время медико-генетического консультирования, о генетическом риске и возможностях ПД ФКУ. Для оценки возможного влияния на эти показатели социально-демографических особенностей семей и медицинских показателей, использовались, в том числе, результаты анализа соответствующих данных, изложенные в предыдущей публикации.

Запоминанию и восприятию респондентами информации о генетическом риске были посвящены 5 вопросов. Они позволяли оценить, кто предоставил семье информацию о генетическом характере заболевания у ребёнка, субъективную оценку того, поняли ли они информацию о риске, как запомнили значения риска, выраженные в процентах, и оценку его категории (высокий, средний, низкий). ПД ФКУ было посвящено 15 вопросов, на основании ответов на них можно было оценить информированность респондентов о такой возможности и рисках, связанных с ней, отношении к ПД и прерыванию беременности поражённым плодом, проходили ли они эту процедуру и чем она завершилась. В статье представлен анализ ответов респондентов на вопросы, касающиеся информированности опрошенных о ПД и риске осложнений.

Результаты анкетирования были внесены в базу данных Microsoft Access и обработаны в пакете программ Statistica 6.0. Для выявления возможных корреляций использовался ранговый критерий Спирмена, результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Достоверность различий оценивали по критерию χ^2 с поправкой Йетса в группах сравнения малого размера.

Результаты

1. Информированность о генетическом риске

Подавляющее большинство родителей, принявших участие в опросе, получило информацию о наследственном характере заболевания у ребёнка от врача-генетика. Большая их часть указала, что врач-генетик объяснил им, что такое риск повторного рождения больного ФКУ ребёнка, и что они поняли эту информацию (табл. 1).

Однако правильно назвать значение повторного риска рождения больного ребёнка могли только 65,2% опрошенных, почти пятая часть респондентов не ответила на этот вопрос (рис. 2).

Отвечая на вопрос «Как вы сами расцениваете значение риска повторения заболевания?», треть респондентов (33,7%) отнесла повторный риск рождения больного ФКУ ребёнка в категорию «высокий», однако большинство опрошенных были склонны занижать риск, считая его средним или даже низким (41,7 и 3,7% соответственно). Этот вопрос так же, как и вопрос о значении повторного риска, вызвал затруднения почти у пятой части участников опроса: 17,7% выбрали ответ «Не знаю», 3,2% не дали ответа (рис. 3).

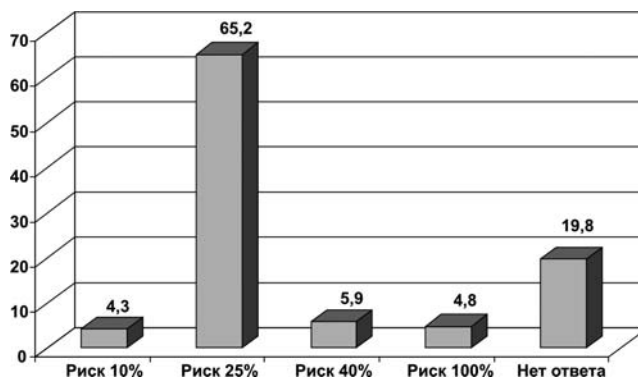


Рис. 2. Распределение ответов на вопрос «Знаете ли Вы значения риска повторного появления ФКУ в Вашей семье?»

Распределение ответов на вопросы о повторном риске рождения больного ребёнка в зависимости от места жительства и образования респондентов и выполнения врачебных рекомендаций

	Значения риска		Категория риска		
	Риск 25%	Риск не 25%	Высокий риск	Средний риск	Низкий риск
Место жительства					
1. Мегаполис	86 (86%)	14 (14%)	45 (48%)	47 (49%)	3 (3%)
2. Крупный город	23 (88%)	3 (12%)	8 (27%)	21 (70%)	1 (3%)
3. Небольшой город, деревня, село	10 (50%)	10 (50%)	10 (48%)	8 (38%)	3 (14%)
Образование (мать)					
4. Высшее и незаконченное высшее	71 (92%)	6 (8%)	39 (49%)	37 (47%)	3 (4%)
5. Среднее общее и среднее специальное	37 (66%)	19 (34%)	21 (38%)	30 (55%)	4 (7%)
Образование (отец)					
6. Высшее и незаконченное высшее	29 (83%)	6 (17%)	14 (46%)	15 (48%)	2 (6%)
7. Среднее общее и среднее специальное	15 (71%)	6 (29%)	6 (40%)	9 (60%)	—
Выполнение рекомендаций врача по диетотерапии					
8. Строго выполняли	104 (85,9%)	17 (14,1%)	56 (46,3%)	60 (49,6%)	5 (4,1%)
9. Иногда не выполняли	17 (60,7%)	11 (39,3%)	9 (33,3%)	16 (59,3%)	2 (7,4%)
Примечание. $\chi^2_{1-3} = 11,34$, $p = 0,008$; $\chi^2_{2-3} = 6,46$, $p = 0,010$; $\chi^2_{4-5} = 12,85$, $p = 0,0003$; $\chi^2_{8-9} = 7,29$, $p = 0,007$					

Доля респондентов, правильно указавших значение повторного риска, была достоверно выше среди жителей мегаполисов и крупных городов, а также среди матерей больных ФКУ детей, имевших высшее образование. Респонденты, которые запомнили правильные значения повторного риска рождения больного ребёнка, достоверно чаще отмечали, что они строго выполняли рекомендации врача по диетотерапии (табл. 2).

Оценка категории риска (высокий, средний или низкий) не зависела от места жительства, а также от того, какие значения повторного риска указал респондент. Так, из 122 чел., правильно ответивших, что повторный риск рождения ребёнка с ФКУ составляет 25%, 51 чел. (41,8%) расценил его как высокий, 58 чел. (47,5%) — как средний, 2 чел. (1,6%) — как низкий, остальные выбрали ответ «не знаю» или не дали ответа. Ответы тех, кто указал, что повторный риск составляет 10%, распре-

делились следующим образом: 3 чел. посчитали риск средним, 2 чел. — низким, 3 чел. ответили «Не знаю». Респонденты, указавшие значения риска более 25%, считали его высоким (9 чел.), средним (8 чел.), низким (1 чел.) или не знали, как его оценить (2 чел.). Хотя достоверных различий в оценке категорий повторного риска при сравнении групп респондентов с разным уровнем образования выявить не удалось (табл. 2), получены слабые корреляции между уровнем образования матери ($r = -0,192$, $p = 0,015$) и отца ($r = -0,260$, $p = 0,033$) с этим параметром. Оценка респондентами категории риска также слабо коррелировала с возрастом матери больного ребёнка ($r = -0,205$, $p = 0,008$): женщины старшего возраста чаще оценивали риск как средний и низкий, чем более молодые. Судя по полученным результатам оценки респондентами категориальной оценки риска можно думать, что родители больных чаще прибегали к эвристической оценке, базирующейся на их жизненном опыте.

2. Информированность о пренатальной диагностике ФКУ

Вопросы, касающиеся ПД ФКУ, были связаны с тем, что для определённой доли семей контроль за лечением больных детей представлял сложную проблему [2]. ПД даёт возможность рождения здорового ребёнка в этих семьях.

Большинство родителей знало о ПД ФКУ (табл. 3), чаще всего они узнавали о ней после рождения больного ребёнка. Информированность родителей о ПД слабо коррелировала с местом жительства ($r = -0,175$, $p = 0,018$), образованием ($r = -0,280$, $p = 0,0003$) и семейным положением матерей ($r = 0,191$, $p = 0,003$): жительницы мегаполисов и крупных городов, с высшим и

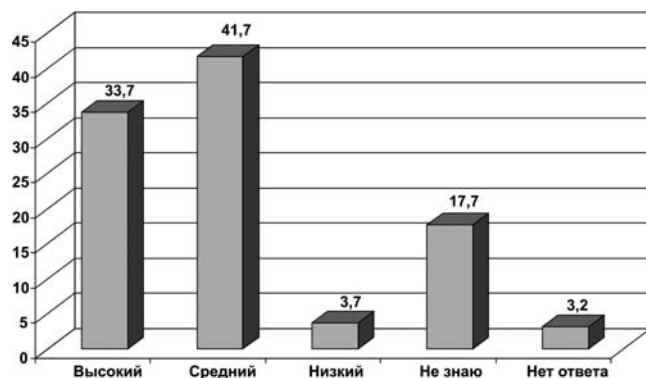


Рис. 3. Распределение ответов на вопрос «Как Вы сами расценили значения риска повторения заболевания?»

незаконченным высшим образованием, состоящие в браке чаще указывали, что знают о ПД ФКУ.

Источником информации о ПД, как правило, был врач-генетик региональной или другой медико-генетической консультации. Около трети респондентов отметили, что врач-генетик убеждал их воспользоваться ПД при следующей беременности, примерно столько же указало, что врач не делал этого (табл. 3). Чаще утвердительно на вопрос о том, убеждал ли врач-генетик сделать ПД, отвечали жители мегаполисов и крупных городов ($r = -0,165$, $p = 0,027$), которые считали риск повторного рождения больного ребёнка высоким ($r = 0,215$, $p = 0,004$). Утвердительный ответ на этот вопрос коррелировал с утвердительными ответами на вопросы «объяснил ли вам врач, каков риск осложнений беременности при ПД» ($r = 0,578$, $p = 0,000000$) и «запомнили ли значения риска прерывания беременности» ($r = 0,341$, $p = 0,000010$).

Почти 40% ответивших на вопросы анкеты указало, что врач-генетик объяснял им, каков риск осложнений ПД, но больше половины респондентов выбрали ответы «нет» или «не помню» (табл. 3). Только пятая часть респондентов правильно указала значения риска прерыва-

ния беременности, подавляющее большинство либо не ответило на этот вопрос, либо выбрало ответ «не помню» (табл. 3). Чем крупнее населённый пункт, в котором жил респондент, и чем лучше его материальное положение, тем чаще он правильно указывал значения риска прерывания беременности ($r = -0,183$, $p = 0,02$ и $r = -0,252$, $p = 0,0013$ соответственно).

Доля правильно ответивших на вопрос о риске прерывания беременности после ПД не различалась среди правильно и неправильно указавших значения и категорию повторного риска рождения больного ребёнка. Однако респонденты, считающие повторный риск рождения больного ребёнка высоким, достоверно реже указывали, что не помнят значения риска прерывания беременности (табл. 4).

Обсуждение

Несмотря на то, что предоставление генетической информации является обязательным компонентом программ неонатального скрининга [7, 11, 12], этот аспект медико-генетической помощи семьям, имеющим больных ФКУ детей, мало освещается в современной литературе. Большинство отечественных и зарубежных ис-

Таблица 3

Распределение ответов на вопросы анкеты о пренатальной диагностике ФКУ

Знаете ли Вы о возможности дородовой диагностики ФКУ?	
Да, знаю	151 (80,3%)
Нет, не знаю	32 (17,1%)
Нет ответа	4 (2,1%)
Если Вы знаете о дородовой диагностике ФКУ, то кто сообщил Вам об этом?	
Врач генетик в региональной медико-генетической консультации	123 (66,8%)
Врач генетик другой медико-генетической консультации	24 (12,8%)
Другой врач	5 (2,7%)
Из прессы (Интернета)	5 (2,7%)
Не помню	8 (4,3%)
Нет ответа	22 (11,7%)
Убеждал ли Вас врач в необходимости дородовой диагностики?	
Да	63 (35,7%)
Нет	69 (36,9%)
Не помню	49 (26,2%)
Нет ответа	6 (3,2%)
Объяснил ли Вам врач, каков риск осложнений (прерывания) беременности при проведении дородовой диагностики?	
Да	76 (40,1%)
Нет	52 (27,8%)
Не помню	50 (26,7%)
Нет ответа	10 (5,3%)
Запомнили ли Вы значения риска прерывания беременности?	
Да, риск составляет 1,5–2%	38 (20,3%)
Да, риск составляет 5–10%	18 (9,6%)
Не помню	105 (56,1%)
Нет ответа	26 (13,9%)

следований посвящено медицинским и экономическим аспектам скрининга, лабораторным методам, стандартам, соблюдению сроков диагностики и начала лечения [1, 5–7, 11, 13, 15]. В настоящем исследовании впервые в России сделана попытка оценить, как воспринимают информацию о генетическом риске и ПД ФКУ матери больных детей и какие факторы влияют на их информированность. Надо иметь в виду, что эта категория консультирующихся встречается с врачом-генетиком многократно и не может репрезентативно представлять другие группы пациентов МГК.

Расчёт генетического риска и сообщение его семье составляют важную часть медико-генетического консультирования. Понимание этой информации повышает способность пациентов МГК принимать обоснованные решения [10]. Известно, что люди нередко испытывают трудности в понимании риска, часто недооценивают или переоценивают его и, поэтому, могут принимать решения на основе неверно понятой информации [14, 17]. Известен феномен различной оценки рисков, в том числе рисков для здоровья, экспертами и общественностью [18]. В целом, люди воспринимают информацию о рисках, полученную от представителей органов здравоохранения, хотя это необязательно приводит к изменениям их поведения [16].

Как правило, генетический риск сообщается пациентам в процентах или долях. Кроме того, возможно представление риска в виде оценочных категорий (например, низкий или высокий). Были высказаны доводы «за» и «против» разных способов представления информации о риске пациентам [14, 20]. Однако в настоящее время принято считать, что для лучшего восприятия генетического риска следует представлять пациентам в процессе консультации разными способами [16, 19].

Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о том, что более трети респондентов не могут назвать значения повторного риска, а чуть менее половины склонны занижать его оценку. Эти результаты могут быть следствием сроков проведения медико-генетического консультирования, принятых в российской программе неонатального скрининга. Генетическая информация представляется родителям после подтвержде-

ния диагноза ФКУ у их ребёнка (рис. 1) [4], когда они испытывают психологический шок из-за того, что их ребёнок болен. Как было показано нами ранее [2], полученная в этот период информация о лечении ребёнка оказывается более важной для пациентов, чем информация о генетическом риске и тем более о ПД. Информация о генетическом риске не так хорошо запоминается родителями, как информация о лечении больного ребёнка. Отвечая на вопросы о различных аспектах лечения, они, как правило, давали ответы на все вопросы, редко выбирали ответ «не помню» или «не знаю» [2], тогда как на вопросы о генетическом риске не ответила значительная часть опрошенных. Вопросы о ПД ФКУ вызвали наименьший интерес среди участников опроса, несмотря на высокую долю информированных о такой возможности. Об этом позволяет судить высокая доля респондентов, ответивших «не помню» или не давших ответа на вопросы о ПД (табл. 3). Тем не менее, ПД ФКУ является методом выбора при планировании репродуктивного поведения семьями, уже имеющими больного ребёнка, по крайней мере, в России.

Следует отметить, что вопрос о том, убеждал ли респондентов врач-генетик в необходимости ПД, отчасти позволил выявить склонность врачей-генетиков к директивности при медико-генетическом консультировании родителей больных ФКУ детей. Ранее нами было показано, что российские врачи-генетики в значительной части случаев предпочитают директивный подход к консультированию [3]. В настоящем исследовании более трети респондентов указали, что врачи убеждали их в необходимости пройти ПД ФКУ при следующей беременности. Эти данные согласуются с результатами, полученными некоторыми зарубежными исследователями, в работах которых была отмечена евгеническая направленность медико-генетического консультирования в программах неонатального скрининга. Так, в работе [8] представлены результаты анкетирования 46 специалистов, осуществляющих медико-генетическое консультирование родителей больных детей в программах неонатального скрининга в США. Авторы показали, что, хотя большинство опрошенных специалистов предпочитало придерживаться недирективного подхода, 76% из них считали важной

Таблица 4

**Распределение ответов на вопросы
о повторном риске рождения больного ребёнка и риске осложнений пренатальной диагностики**

Значения риска прерывания беременности	Значения повторного риска рождения больного ФКУ		Категория риска повторного рождения больного ФКУ	
	Риск 25%	Риск не 25%	Высокий риск	Средний риск + низкий риск
Да, риск составляет 1,5–2%	32 (28%)	4 (15%)	17 (27%)	18 (21%)
Да, риск составляет 5–10%	14 (12%)	4 (15%)	12 (19%)	6 (7%)
Не помню	62 (53%)	16 (59%)	25 (41%)*	53 (63%)*
Нет ответа	8 (7%)	3 (11%)	8 (13%)	8 (9%)
Примечание. * $\chi^2 = 6,13$, $p = 0,0133$				

целью консультирования информирование родителей о том, что их больные дети не должны в будущем иметь потомков по генетическим причинам, а 24% считали необходимым предложить родителям больных детей различные варианты ПД при следующей беременности. Нейтральное отношение к этим двум целям консультирования выразили 16 и 60% соответственно.

Нами показано, что среди респондентов, неправильно назвавших значения повторного риска рождения больного ребёнка, достоверно выше доля тех, кто указал, что иногда не выполнял рекомендации по диетотерапии (табл. 2), причём эти результаты не зависели от места жительства опрошенных. Вероятно, часть респондентов плохо понимает любую информацию, полученную от врача-генетика, как относящуюся к лечению больного ребёнка, так и информацию о генетическом риске. Такой результат можно объяснить также невысоким социальным статусом части семей, либо тем, что в этих семьях существуют чётко выраженные иные приоритеты.

Для повышения эффективности медико-генетического консультирования, вероятно, необходимо или изменить сроки предоставления родителям информации о повторном риске рождения больного ребёнка, или неоднократно возвращаться к этим вопросам в процессе диспансерного наблюдения семей, имеющих больных ФКУ детей. Необходимо использование проверочных вопросов в процессе медико-генетического консультирования, чтобы оценить, насколько пациенты поняли генетическую информацию.

Наибольшая доля респондентов, неправильно назвавших значения риска в процентах, проживала в сёлах и небольших городах. Как нами было показано ранее, у детей этой части респондентов ФКУ диагностировалась позже, позже начиналось лечение, родители чаще указывали на то, что не всегда выполняли рекомендации по диетотерапии, информацию о заболевании они чаще получали от участкового педиатра, а не от генетика [2]. По-видимому, полученные данные отражают недостаточную эффективность всех этапов неонатального скрининга на ФКУ (диагностики, диспансерного наблюдения и терапии, медико-генетического консультирования) в сельской местности, что может быть связано с удалённостью от областных центров и недостаточными контактами с врачами МГК и требует дополнительных мер в системе организации скрининга.

Список литературы

1. Голихина Т.А., Гусарук Л.Р., Голубцов В.И., Зинченко Л.И., Матулевич С.А. Оценка умственного развития больных фенилкетонурией на фоне проводимого лечения // Генетика человека и патология: Сб. науч. трудов. — Томск, 2004. — Вып. 7. — С. 26—31.
2. Ижевская В.Л., Иванова Л.Ю., Борзов Е.А., Журавлёва И.В., Гинтер Е.К. Результаты анкетирования роди-

телей больных фенилкетонурией детей. 1. Социально-демографические характеристики респондентов и их отношение к диагностике и лечению заболевания у ребёнка // Медицинская генетика. — 2013. — Т. 12, №7. — С. 32—40.

3. Ижевская В.Л., Иванов В.И. Медико-генетическое консультирование в России: предпочтение директивного подхода // Медицинская генетика. — 2004. — Т. 3, №11. — С. 521—528.

4. Козлова С.И., Матулевич С.А. Организация неонатального скрининга на фенилкетонурию // Вопросы практической педиатрии. — 2006. — Т. 1, №1. — С. 72—82.

5. Мурзабаева С.Ш., Хуснутдинова Э.К., Магжанов Р.В., Ахметова В.Л., Печенина Г.В., Серeda О.А. Анализ эффективности ранней диагностики, диетотерапии и реабилитации больных фенилкетонурией в Республике Башкортостан // Медицинская генетика. — 2004. — Т. 3, №10. — С. 470—473.

6. Мурзабаева С.Ш., Малиевский О.А. Анализ затрат на реализацию неонатального скрининга наследственных заболеваний // Проблемы управления здравоохранением — 2009. — №3. — С. 69—72.

7. Downing G.J., Zuckerman A.E., Coon C., Lloyd-Puryear M.A. Enhancing the Quality and Efficiency of Newborn Screening Programs Through the Use of Health Information Technology // Seminars in Perinatology. — 2010. — Vol. 34, №2. — P. 156—162.

8. Farrell M.H., Certain L.K., Farrell P.M. Genetic counseling and risk communication services of newborn screening programs // Arch. Pediatr. Adolesc. Med. — 2001. — Vol. 155. — P. 120—126.

9. Fransen M., Meertens R., Schrandt-Stumpel C. Communication and risk presentation in genetic counseling. Development of a checklist // Patient education and Counseling. — 2006. — Vol. 61. — P. 126—133.

10. Grimes D.A., Snively G.R. Patient's understanding of medical risks: implication for genetic counseling // Obstet. Gynecol. — 1999. — Vol. 93. — P. 910—914.

11. Holland W.W., Stewart S., Masseria C. Screening in Europe. — WHO, 2006. — 68 p.

12. ISNS general guidelines for neonatal screening <http://isns-neoscreening-org.site-preview.net>.

13. Kaye C.I. Newborn screening fact sheets // Pediatrics. — 2006. — Vol. 118, №3. — P. e934—e963.

14. Kessler S., Levine E.K. Psychological aspects of genetic counseling. IV. The subjective assessment of probability // Am. J. Med. Genet. — 1987. — Vol. 28. — P. 361—370.

15. Kirkman H.N. Newborn screening in North Carolina: the evolution of policy and practice // N.C. Med. J. — 2008. — Vol. 69, №2. — P. 92—97.

16. Sanders T., Campbell R., Donovan J., Sharp D. Narrative accounts of hereditary risk: knowledge about family history, lay theories of disease and «internal» and «external» causation // Qualitative Health Research. — 2007. — Vol. 17, №4. — P. 510—520.

17. Shilon S., Sagi M. Effect of framing on the perception of genetic recurrent risk // Am. J. Med. Genet. — 1989. — Vol. 33. — P. 130—135.

18. Sjöberg L. Risk perception by a public and by experts: a dilemma in risk management // Human Ecology Review. — 1999. — Vol. 6, №2. — P. 1—9.

19. Wiens M.E., Wilson B.J., Honeywell C., Etchegary H. A family genetic risk communication framework: guiding tool development in genetic health services // J. Community Genetics. — 2013. — №4. — P. 233—242.

20. Williams P.R. Health risk communication using comparative risk analyses // J. Expo Anal. Environ. Epidemiol. — 2004. — Vol. 14. — P. 265—271.

The results of the survey of the PKU patient`s parents.

2. Informing about the genetic risk and prenatal diagnosis PKU

Izhevskaya V.L.¹, Borzov E.A.¹, Ivanova L.Yu.², Zhuravleva I.V.², Ginter E.K.¹

¹ — Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics» of the Russian Academy of Medical Sciences, Moskvorechie st., 1, Moscow, 115478, Russia; e-mail izhevskaya@med-gen.ru

² — Federal State Budgetary Institution of Science «Institute of Sociology» of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The data on awareness of the PKU patient`s parents about the recurrent risk of PKU, prenatal diagnosis (PD) and the risk of PD complications are presented. The survey involved 187 PKU patient`s mothers living in Moscow, the Moscow region, Krasnodar region, St. Petersburg and Rostov region. It was shown that more than a third of respondents could not name values of the recurrent risk, and slightly less than a half of them could not correctly specify the risk category. The proportion of respondents who could correctly specify the value of the recurrent risk was significantly higher among residents of megalopolis and large towns, as well as among respondents with higher education. Most parents (80%) were aware of PDPKU, but questions about PKUPD caused the least interest among survey participants. This is indicated by the high proportion of respondents (60%) answered «do not remember» or did not respond to questions about PD.

Key words: phenylketonuria, PKU, genetic counseling, genetic risk, prenatal diagnosis

Анализ ассоциации ряда полиморфных локусов генов *CACNA1C*, *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG* с риском развития параноидной шизофрении и ответом на галоперидол*

Гареева А.Э., Хуснутдинова Э.К.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, 450054, пр. Октября, 71; тел./факс: (347)235-60-88, e-mail: annagareeva@yandex.ru

В результате проведенного нами репликативного исследования в популяциях русских и татар из Республики Башкортостан подтверждена ассоциация полиморфного маркера rs4765905 гена α -субъединицы кальциевого канала L-типа *CACNA1C* с развитием параноидной шизофрении (ПШ). Так, было установлено, что: 1) генетическим маркером повышенного риска развития ПШ у русских является генотип *CACNA1C**C/C (rs4765905) гена *CACNA1C* (OR = 2,32); 2) генетическим маркером низкой эффективности терапии шизофрении галоперидолом на 21-й день лечения в отношении негативной симптоматики является генотип *CACNA1C**G/G (rs4765905) у татар ($p = 0,016$); 3) генетическим маркером повышенного риска развития нейролептического паркинсонизма у больных ПШ татар при приеме типичных нейролептиков является генотип *ITIH4**C/C (rs2227281) ($p = 0,04$). Кроме того, полученные нами данные свидетельствуют об отсутствии вклада полиморфных вариантов генов *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG* в развитие ПШ у русских и татар из Республики Башкортостан.

Ключевые слова: полногеномный анализ ассоциаций, шизофрения, фармакогенетика, нейролептики

Введение

Шизофрения является тяжёлым психическим заболеванием, поражающим около 1% населения в мире. Заболевание манифестирует в молодом возрасте и приводит к инвалидизации и социальной дезадаптации. Этиология его до конца не выяснена. Условия окружающей среды, безусловно, вносят вклад в развитие шизофрении, но определяющим фактором является генетическая предрасположенность: коэффициент наследуемости шизофрении составляет около 80%, что характерно для наиболее высоко наследуемых многофакторных заболеваний [1, 5, 21].

К настоящему времени уже проведен ряд полногеномных исследований (полногеномных анализов ассоциаций, GWAS), и выявлены полиморфные маркеры и хромосомные области, сцепленные с шизофренией [3, 10, 16, 20].

В результате полногеномных анализов ассоциаций GWAS в европейских популяциях была выявлена ассоциация некоторых полиморфных локусов генов *CACNA1C*, *ITIH4*, *ANK3* [16] и гена *HIST1H2AG* [17] с риском развития шизофрении.

Белок, кодируемый геном α -субъединицы кальциевого канала L-типа *CACNA1C* (12p13.3), связывается и ингибируется дигидропиридином, который служит бло-

катором кальциевых каналов L-типа и участвует в механизме снижения кровяного давления [12].

Ген анкирин 3 *ANK3* (10q21.2) играет интегративную роль в регуляции нейрональной активности [14].

Кодируемый геном ингибитора тяжёлой цепи 4 интер-альфа трипсина *ITIH4* (3p21.1) гликопротеин секретируется в кровь, где он циркулирует в плазме и расщепляет киллакреин на более мелкие фрагменты. Гликопротеин *ITIH4* образует комплексы с гиалуроновой кислотой SHAP-НА, которые, как предполагается, играют важную роль в воспалительной реакции [13].

Ген канонического гистона H2A типа 1 в кластере *HIST1 HIST1H2AG* локализован в области главного комплекса гистосовместимости 1 (MHC1) 6p21-p22.1, сцепленной с риском развития шизофрении, по данным полногеномных исследований [17, 20]. Компонент гистона H1 взаимодействует с линкером ДНК нуклеосомы и участвует в уплотнении хроматина в более сложные структуры.

Цель настоящей работы состояла в репликативном исследовании в выборках русских и татар из Республики Башкортостан полиморфных вариантов генов *CACNA1C*, *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG*, ассоциированных с шизофренией, по данным полногеномных исследований.

* Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований РФФИ №14-04-97012p_поволжье_a.

Полногеномный анализ ассоциаций SNP с развитием шизофрении в российских популяциях не проводился.

Проведённые ранее исследования показали существование различий в распределении частот аллелей между популяциями русских, татар и башкир из Волго-Уральского региона [2].

Материалы и методы

Учитывая неоднородность населения Республики Башкортостан в этническом отношении, в исследуемые выборки были включены представители двух национальностей, наиболее распространённых в Башкортостане: русских и татар. Обследованный контингент представлен 252 больными с диагнозом *параноидная шизофрения* F.20.0xx, согласно МКБ-10: 108 русских (49 женщин и 59 мужчин) и 144 татарина (68 женщин и 76 мужчин), находящихся на лечении в РПБ №1 г.Уфы МЗ РБ. Средний возраст больных составил $24,94 \pm 8,91$ года. Средний возраст начала заболевания составил $22,46 \pm 7,32$ года. Среднее значение длительности заболевания составило $3,69 \pm 3,85$ года.

Контрольная группа включала в себя 349 добровольцев — 174 русских (86 женщин и 88 мужчин) и 175 татар (87 женщин и 88 мужчин) той же возрастной группы и этнической принадлежности, не состоявших на учёте у психиатра и нарколога и отрицавших у себяотягощённую наследственность по нервно-психическим заболеваниям. Средний возраст здоровых доноров составил $32,47 \pm 12,4$ года.

Исследуемые выборки описаны по специальному протоколу, включающему такие данные, как пол, возраст, этническая принадлежность, возраст начала заболевания, отягощённость наследственного анамнеза по психическим заболеваниям. От каждого больного было получено письменное информированное согласие. Данное исследование было одобрено локальным биоэтическим комитетом ИБГ УНЦ РАН.

ДНК выделяли из периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [15].

Генотипирование полиморфных вариантов rs4765905 гена *CACNA1C*, rs2239547 гена *ITIH4*, rs10994359 гена *ANKK3*, rs6913660 гена *HIST1H2AG* проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией (FLASH/RTAS) (ФГУП «ГосНИИГенетика», Москва). Образцы ДНК амплифицировали в смеси двух пар последовательностей олигонуклеотидов, помеченных различными флуоресцентными красителями. Детекцию результатов проводили на амплификаторе с возможностью проведения анализа флуоресценции по конечной точке — «CFX96» (BioRad, США). Для перечисленных локусов амплификация была выполнена в 10 мкл общего объёма смеси (деионизованная вода — 6,8 мкл, смесь для ПЦР — 2,0 мкл, Taq-полимераза — 0,2 мкл, исследуемый образец (30 нг ДНК/мкл) — 1,0 мкл). Набор реагентов для амплификации производства ФГУП «ГосНИИГенетика», Москва.

Эффективность типичного нейролептика — галоперидола — у больных шизофренией оценена с использованием шкалы позитивных и негативных синдромов (Positive and negative Syndrome Scale, PANSS), разработанная С. Кэй, Л. Оплер и А. Фишбэйн в 1986 г. Шкала PANSS позволяет проводить стандартизированную оценку различных векторов психопатологической симптоматики шизофрении (позитивной (POSIT), негативной (NEGAT) и общей психопатологической симптоматики (PSYCH)), определять клинический профиль больного и проследить динамику состояния в процессе терапии [1]. Эффективность терапии и развитие побочных эффектов оценивали в день назначения препарата, а затем на 21-й и 45-й дни по формуле [7]:

$$\left(\frac{\text{PANSS}_{\text{final}} - \text{PANSS}_{\text{baseline}}}{\text{PANSS}_{\text{baseline}}} \right) \times 100.$$

Экстрапирамидный синдром (ЭПС) является побочным эффектом, наблюдаемым у 20—30% больных шизофренией при длительном приёме типичных нейролептиков [4, 24]. Критерием развития ЭПС, вызванного приёмом нейролептиков, служило наличие балла свыше 3 по шкале SAS.

Для идентификации генетических маркёров риска развития шизофрении были применены следующие подходы: анализ ассоциаций генов-кандидатов (метод «случай—контроль») в этнических группах русских и татар из Республики Башкортостан (РБ).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета прикладных программ: MS Office Excel 2003 [Microsoft], Statistica v.6.0 [19], BIostat.

При попарном сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля использовался двусторонний тест Фишера. Сила ассоциаций оценивалась в значениях показателя отношения шансов Odds Ratio (OR).

Проведён анализ ассоциации значений по шкалам PANSS и SAS с генотипами (аллелями) больных ПШ русских и татар, с использованием однофакторного дисперсионного анализа — ANOVA (пакет прикладных программ «SPSS v.13.0») для идентификации генетических маркёров индивидуальной чувствительности к нейролептикам.

Результаты и обсуждение

Результаты анализа распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов rs4765905 гена *CACNA1C*, rs2239547 гена *ITIH4*, rs10994359 гена *ANKK3* и rs6913660 гена *HIST1H2AG* у больных шизофренией и здоровых индивидов русских и татар из РБ приведены в табл. 1.

Распределение частот генотипов по изученным полиморфным локусам генов *CACNA1C*, *ITIH4*, *ANK3* и *HIST1H2AG* в исследуемой выборке больных и здоровых русских и татар соответствовало распределению Харди—Вайнберга (табл. 1).

Анализ ассоциации полиморфного локуса rs4765905 гена *CACNA1C* с риском развития шизофрении показал статистически значимое повышение частоты генотипа *CACNA1C**C/C гена *CACNA1C* ($p = 0,016$; OR = 2,32; 95%CI 1,22—4,42) у русских больных шизофренией по сравнению со здоровыми индивидами (табл. 1).

Проведённый анализ ассоциации не выявил статистически значимых различий в распределении частот генотипов и аллелей по полиморфному локусу rs4765905

гена *CACNA1C* между больными и здоровыми индивидами татарской этнической принадлежности (табл. 1).

Проведённый нами анализ вариаций ANOVA с целью выявления генетических маркёров эффективности терапии галоперидолом у русских и татар показал достоверно значимые различия в баллах по подшкале негативной симптоматики на 21-й оценочный день NEGAT21 ($F = 5,49$; $p = 0,005$) у татар-носителей генотипа *CACNA1C**G/G по сравнению с носителями генотипа *CACNA1C**C/C ($p = 0,016$). Проведённый нами расчёт эффективности терапии галоперидолом показал, что эффективность терапии галоперидолом у носителей генотипа *CACNA1C**G/G ($p = 0,016$) была ниже по сравнению с носителями генотипа *CACNA1C**C/C (табл. 2).

Таблица 1

**Распределение частот генотипов и аллелей
полиморфных локусов генов *CACNA1C*, *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG*
у больных шизофренией и в контрольных группах**

Генотипы, аллели	Татары			Русские		
	Больные	Контроль	p	Больные	Контроль	p
<i>CACNA1C</i> rs4765905	(n = 144)	(n = 175)		(n = 108)	(n = 174)	
*C/*C	10 (0,08)	17 (0,10)	0,497	25 (0,23)	20 (0,11)	0,016
*C/*G	67 (0,46)	84 (0,48)	0,881	50 (0,46)	84 (0,48)	0,841
*G/*G	67 (0,46)	74 (0,42)	0,999	33 (0,31)	70 (0,41)	0,129
*C	87 (0,30)	118 (0,34)	0,391	100 (0,46)	124 (0,36)	0,999
*G	201 (0,70)	232 (0,66)	0,391	116 (0,54)	224 (0,64)	0,999
H—W	1,541 (0,214)	0,956 (0,328)		0,513 (0,473)	0,478 (0,489)	
<i>ITIH4</i> rs2239547	(n = 144)	(n = 172)		(n = 108)	(n = 170)	
*C/*C	15 (0,10)	18 (0,10)	0,999	7 (0,06)	13 (0,08)	0,897
*C/*T	66 (0,46)	67 (0,39)	0,999	46 (0,43)	74 (0,43)	0,977
*T/*T	63 (0,44)	87 (0,51)	0,272	55 (0,51)	83 (0,49)	0,279
*C	96 (0,33)	103 (0,30)	0,999	60 (0,28)	100 (0,29)	0,752
*T	192 (0,67)	241 (0,70)	0,999	156 (0,72)	240 (0,71)	0,752
H—W	0,140 (0,707)	0,879 (0,348)		0,408 (0,522)	0,397 (0,528)	
<i>ANK3</i> rs10994359	(n = 144)	(n = 174)		(n = 108)	(n = 172)	
*C/*C	9 (0,06)	6 (0,03)	0,364	2 (0,02)	2 (0,01)	0,677
*C/*T	48 (0,33)	57 (0,33)	0,999	33 (0,30)	37 (0,22)	0,999
*T/*T	87 (0,61)	111 (0,64)	0,999	73 (0,68)	133 (0,77)	0,999
*C	66 (0,23)	69 (0,20)	0,999	37 (0,17)	41 (0,12)	0,999
*T	222 (0,77)	279 (0,80)	0,999	179 (0,83)	303 (0,88)	0,999
H—W	0,459 (0,497)	0,160 (0,688)		0,627 (0,428)	0,103 (0,747)	
<i>HIST1H2AG</i> rs6913660	(n = 138)	(n = 149)		(n = 105)	(n = 155)	
*A/*A	4 (0,03)	2 (0,01)	0,613	3 (0,03)	3 (0,02)	0,563
*A/*C	31 (0,22)	26 (0,17)	0,359	16 (0,15)	24 (0,15)	0,999
*C/*C	103 (0,75)	121 (0,82)	0,229	86 (0,82)	128 (0,83)	0,999
*A	39 (0,14)	30 (0,10)	0,171	22 (0,10)	30 (0,10)	0,999
*C	237 (0,86)	268 (0,90)	0,171	188 (0,90)	280 (0,90)	0,999
H—W	0,762 (0,382)	0,196 (0,657)		3,696 (0,054)	2,024 (0,154)	
Примечание. n — объём выборки; p — уровень статистической значимости; H—W — оценка соответствия равновесию Харди—Вайнберга						

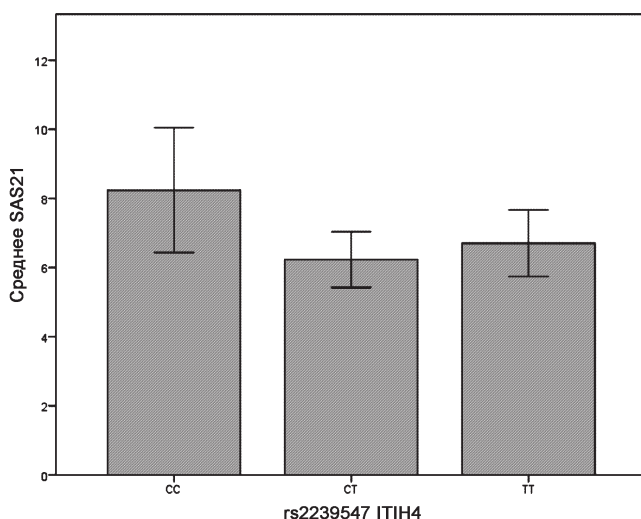
Показатели подсчёта эффективности терапии галоперидолом по подшкале NEGAT по полиморфному локусу rs4765905 гена *CACNA1C* у больных татар

Шкалы / Дни	Генотипы		
	<i>CACNA1C</i> *G/G	<i>CACNA1C</i> *G/C	<i>CACNA1C</i> *C/C
	M ± σ	M ± σ	M ± σ
NEGAT1	30,93 ± 0,44	30,84 ± 0,433	30,82 ± 0,43
NEGAT21	23,21 ± 0,38	23,34 ± 0,39	23,29 ± 0,39
Эффективность терапии (%)	24,07 ± 13,00	23,98 ± 13,04897	27,50 ± 12,64
NEGAT45	18,25 ± 0,36	18,38 ± 0,38	18,26 ± 0,38
Эффективность терапии (%)	40,94 ± 16,06	40,91 ± 13,04	41,98 ± 15,95
Примечание. M — показатель среднего; σ — показатель стандартного отклонения			

Сравнительный анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов rs2239547 гена *ITIH4*, rs10994359 гена *ANK3*, rs6913660 гена *HIST1H2AG* между группами больных и здоровых русских и татар статистически значимых различий не выявил (табл. 1).

При исследовании ассоциации полиморфного локуса rs2239547 гена *ITIH4* с эффективностью терапии галоперидолом по шкале PANSS у русских и татар достоверно значимых различий выявлено не было.

Однако проведённый однофакторный дисперсионный анализ в выборке больных татар выявил статистически значимые различия в средних значениях по шкале SAS на 21-й оценочный день SAS21 ($F = 3,63$; $p = 0,029$) среди носителей разных генотипов полиморфного локуса rs2239547 гена *ITIH4*. При введении поправки на множественные сравнения Бонферрони было выявлено повышение средних значений у больных, несущих генотип *ITIH4**C/C ($p = 0,004$), по сравнению с таковыми, несущими *ITIH4**T/T (рисунок).



Показатели средних значений баллов по шкале SAS на 21-й оценочный день SAS21 у носителей разных генотипов по полиморфному локусу rs2239547 гена *ITIH4* у больных ПШ татар

При изучении ассоциации полиморфизмов rs10994359 гена *ANK3* и rs6913660 гена *HIST1H2AG* с эффективностью терапии галоперидолом у больных ПШ русских и татар из Республики Башкортостан показано отсутствие статистически значимых различий в средних значениях баллов по шкалам PANSS и SAS между носителями разных генотипов.

Таким образом, в результате репликативного исследования было установлено, что:

1) генетическим маркёром повышенного риска развития ПШ у русских является генотип *CACNA1C**C/C (rs4765905) гена *CACNA1C*;

2) генетическим маркёром низкой эффективности терапии шизофрении галоперидолом у татар на 21-й день лечения в отношении негативной симптоматики является генотип *CACNA1C**G/G (rs2227281);

3) генетическим маркёром повышенного риска развития нейролептического паркинсонизма у больных ПШ татар при приёме типичных нейролептиков является генотип *ITIH4**C/C ($p = 0,04$) гена *ITIH4* (rs2239547).

Результаты данного исследования показали межэтнические различия генетических факторов риска ПШ и формирования ответа на терапию галоперидолом, ещё раз подчеркнув важность и необходимость применения популяционного подхода при проведении подобных исследований.

Кроме того, полученные нами данные свидетельствуют об отсутствии вклада полиморфных вариантов генов *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG* в развитие ПШ у русских и татар из Республики Башкортостан.

Исследования, посвящённые изучению ассоциации полиморфных локусов rs4765905 гена *CACNA1C*, rs2239547 гена *ITIH4*, rs10994359 гена *ANK3*, rs6913660 гена *HIST1H2AG* с развитием шизофрении и с индивидуальной чувствительностью к типичным нейролептикам, единичны, а результаты этих исследований противоречивы.

Так, при проведении GWAS в европейских популяциях (9394 больных и 12 462 здоровых индивидов) была выявлена ассоциация полиморфных локусов rs4765905 гена *CACNA1C* ($p = 7,0 \times 10^{-9}$), rs2239547 гена *ITIH4* ($p = 7,8 \times 10^{-9}$), rs10994359 гена *ANK3* ($p = 2,5 \times 10^{-8}$)

[16], rs6913660 гена *HIST1H2AG* ($p = 2,4 \times 10^{-8}$) с риском развития шизофрении [17].

Кроме того, по данным проведённых ранее полногеномных исследований была выявлена ассоциация *ANK3*С* (rs10761482) у норвежцев [3] и *ANK3*Т* (rs10994359) в европейских популяциях [9].

Полногеномное исследование, проведённое в рамках международного консорциума PGC, подтвердило результаты предыдущего, обнаружив ассоциацию гена *CACNA1C* у европейцев [10].

А. Drago с соавторами выявили ассоциацию некоторых полиморфных локусов гена *CACNA1C* с эффективностью галоперидола в отношении позитивной (rs16003) и негативной симптоматики (rs2419549) у немцев, больных шизофренией [8].

Имеются данные об ассоциации некоторых полиморфных локусов изученных генов с другими психическими расстройствами. Так, получена ассоциация гена *CACNA1C* с биполярным расстройством у китайцев (rs1051375) [25] и европейцев [11, 22], с большим депрессивным расстройством у немцев [12], с аутизмом у европейцев [18].

Из данных литературы известно об ассоциации полиморфных локусов rs9804190 и rs10994336 гена *ANK3* с риском развития биполярного расстройства у скандинавов [22]. С. Cassidy с соавторами обнаружили ассоциацию аллеля *ANK3*G* (rs1938526) со снижением когнитивной деятельности у канадцев европейского происхождения [6]. М.В. Logue с соавторами показали ассоциацию полиморфного локуса rs9804190 гена *ANK3* с развитием посттравматического стресса [14].

В ходе настоящего исследования было показано, что носительство генотипа *CACNA1C*С/С* полиморфного локуса rs4765905 гена *CACNA1C* ($OR = 2,32$) является фактором, повышающим риск развития шизофрении у русских, что согласуется с данными, полученными в результате полногеномного анализа ассоциаций у европейцев [10, 16].

В результате проведённого анализа ассоциаций полиморфных локусов rs2239547 гена *ITIH4*, rs10994359 гена *ANK3* и rs6913660 гена *HIST1H2AG* с риском развития ПШ, факторов, повышающих риск развития данного заболевания, ни в одной из изученных этнических групп обнаружено не было. Полученные нами результаты не согласуются с данными полногеномного анализа ассоциации, показавшего ассоциацию данных полиморфных локусов с риском развития шизофрении у европейцев [16] и репликативного исследования у китайцев, подтвердившего ассоциацию аллелей *ANK3*С* (rs10761482) и *ANK3*Т* (rs10994359) в этой популяции [23].

Кроме этого, нами было выявлено, что генотип *CACNA1C*G/G* является генетическим маркёром низкой эффективности галоперидола у татар в отношении негативной симптоматики на 21-й день лечения. Причиной этого, возможно, служит меньшая чувствительность к галоперидолу носителей генотипа *CACNA1C*G/G* в период до 21-го дня, а затем, возмож-

но, по мере увеличения дозы препарата к 45-му дню происходит редукция негативной симптоматики у носителей генотипа *CACNA1C*G/G* под воздействием данного препарата, и поэтому мы наблюдаем приблизительно равные показатели эффективности на 45-й день у носителей всех генотипов данного полиморфного локуса гена *CACNA1C* (табл. 2). Возможно, мы получили этот результат вследствие недостаточного объёма выборки и результаты необходимо будет проверить в будущем на выборках большего размера.

В ходе данного исследования было обнаружено, что генотип *ITIH4*С/С* гена *ITIH4* является генетическим маркёром риска развития нейролептического паркинсонизма у татар. Генетических маркёров эффективности терапии галоперидолом по полиморфному локусу rs6913660 гена *HIST1H2AG* у русских и татар обнаружено не было.

Противоречивость результатов, полученных разными исследователями, может объясняться различной величиной изучаемых выборок, особенностями их этнической принадлежности, а также неоднозначной эффективностью применяющихся нейролептиков.

Заключение

Таким образом, полученные нами данные представляют интерес для понимания молекулярно-генетических механизмов развития параноидной шизофрении, а также позволяют предложить новые направления в разработке методов лечения, диагностики и формирования групп риска данной патологии. Выявление новых генетических маркёров риска заболевания и фармакогенетических маркёров ответа на терапию способствуют внедрению молекулярно-генетических тестов в реальную клиническую практику. Данные об ассоциации определённых генотипов и аллелей локусов изученных генов с развитием параноидной шизофрении и эффективностью терапии нейролептиками у русских и татар позволят в дальнейшем использовать генотипирование по этим локусам для определения риска развития заболевания с учётом этнической принадлежности.

Список литературы

1. Тиганов А.С., Снежневский А.В., Орловская Д.Д. Руководство по психиатрии. — М.: Медицина, 1999. — Т. 1. — 712 с.
2. Юрьев Е.Б. Анализ генетических ассоциаций полиморфизма в генах-кандидатах нейромедиаторной системы с острым алкогольным психозом: Автореф. дисс. на соискание учёной степени к.б.н. — Уфа, 2001.
3. Athanasiu L., Mattingsdal M., Kahler A.K. et al. Gene variants associated with schizophrenia in a Norwegian genome-wide study are replicated in a large European cohort // Journal of psychiatric research. — 2010. — Vol. 44, №12. — P. 748–753.
4. Bakker P.R., van Harten P.N., van Os J. et al. Antipsychotic-induced tardive dyskinesia and polymorphic variations in COMT, DRD2, CYP1A2 and MnSOD genes: a meta-analysis of pharmacogenetic interactions // Mol. Psychiatry. — 2008. — Vol. 13, №5. — P. 544–556.

5. Cardno A.G., Gottesman I.I. Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics // *Am. J. Med. Genet.* — 2000. — Vol. 97, №1. — P. 12–17.
6. Cassidy C., Fathalli F., Sengupta S. et al. Association of a risk allele of ANK3 with cognitive performance and cortical thickness in patients with first-episode psychosis // *Journal of psychiatry and neuroscience: JPN.* — 2013. — Vol. 38, №5. — P. 120242.
7. Crisafulli C., Chiesa A., De Ronchi D. et al. Influence of GRIA1, GRIA2 and GRIA4 polymorphisms on diagnosis and response to antipsychotic treatment in patients with schizophrenia // *Neuroscience Letters.* — 2012. — Vol. 506, №1. — P. 170–174.
8. Drago A., Giegling I., Schafer M. et al. AKAP13, CACNA1, GRIK4 and GRIA1 genetic variations may be associated with haloperidol efficacy during acute treatment // *European Neuropsychopharmacology.* — 2013. — Vol. 23, №8. — P. 887–894.
9. Gella A., Segura M., Durany N. et al. M. Is Ankyrin a genetic risk factor for psychiatric phenotypes? // *BMC psychiatry.* — 2011. — Vol. 11, №1. — P. 103.
10. Hamshere M.L., Walters J.T., Smith R. et al. Genome-wide significant associations in schizophrenia to ITIH3/4, CACNA1C and SDCCAG8, and extensive replication of associations reported by the Schizophrenia PGC // *Molecular Psychiatry.* — 2013. — Vol. 18, №6. — P. 708–712.
11. Judy J.T., Seifuddin F., Pirooznia M. et al. Converging Evidence for Epistasis between ANK3 and Potassium Channel Gene KCNQ2 in Bipolar Disorder // *Front Genet.* — 2013. — Vol. 17, №4. — P. 87.
12. Kloiber S., Czamara D., Karbalai N. et al. ANK3 and CACNA1C — missing genetic link for bipolar disorder and major depressive disorder in two German case-control samples // *J. Psychiatr. Res.* — 2012. — Vol. 46, №8. — P. 973–979.
13. Liu T., Qian W.J., Gritsenko M.A. et al. Human plasma N-glycoproteome analysis by immunoaffinity subtraction, hydrazide chemistry, and mass spectrometry // *J. Proteome Res.* — 2005. — Vol. 4, №6. — P. 2070–2080.
14. Logue M.W., Solovieff N., Leussis M.P. et al. The ankyrin-3 gene is associated with posttraumatic stress disorder and externalizing comorbidity // *Psychoneuroendocrinology.* — 2013. — Vol. 38, №10. — P. 2249–2257.
15. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // *Methods in molecular biology* / Ed. Walker J.M. — N.Y.: Haman press, 1984. — Vol. 2. — P. 31–34.
16. Ripke S., Sanders A.R., Kendler K.S. et al. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci // *Nature genetics.* — 2011. — Vol. 43, №10. — P. 969–976.
17. Shi J., Levinson D.F., Duan J. et al. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia // *Nature.* — 2009. — Vol. 460, №7256. — P. 753–757.
18. Splawski I., Yoo D.S., Stotz S.C., Cherry A. et al. CACNA1H mutations in autism spectrum disorders // *J. Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 281, №31. — P. 22085–22091.
19. StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.
20. Stefansson H., Ophoff R.A., Steinberg S., Andreassen O.A. et al. Common variants conferring risk of schizophrenia // *Nature.* — 2009. — Vol. 460, №6. — P. 744–747.
21. Sullivan P.F., Kendler K.S., Neale M.C. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies // *Arch. Gen. Psychiatry.* — 2003. — Vol. 60, №12. — P. 1187–1192.
22. Tesli M., Koefoed P., Athanasiu L. et al. Association analysis of ANK3 gene variants in nordic bipolar disorder and schizophrenia case-control samples // *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics.* — 2011. — Vol. 156, №8. — P. 969–974.
23. Yuan A., Yi Z., Wang Q. et al. ANK3 as a risk gene for schizophrenia: new data in Han Chinese and meta-analysis // *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics.* — 2012. — Vol. 159, №8. — P. 997–1005.
24. Zai C.C., Hwang R.W., De Luca V. et al. Association study of tardive dyskinesia and twelve DRD2 polymorphisms in schizophrenia patients // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* — 2006. — Vol. 5, №10. — P. 639–651.
25. Zhang X., Zhang C., Wu Z. et al. Association of genetic variation in CACNA1C with bipolar disorder in Han Chinese // *J. Affect. Disord.* — 2013. — Vol. 150, №2. — P. 261–265.

Replication of genome wide association study results: analysis of association of some polymorphic variants of *CACNA1C*, *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG* genes with the risk of paranoid schizophrenia and response to haloperidol

Gareeva A.E., Khusnutdinova E.K.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of Russian Academy of Sciences. Department of Human Genomics; 450054, Ufa, Pr. Oktyabrya, 71; tel./fax (347)235-60-88, e-mail: annagareeva@yandex.ru

As a result of our replication study in populations of Tatars and Russian Republic of Bashkortostan, we confirmed the association of polymorphic marker rs4765905 of α -subunit calcium channel L-type *CACNA1C* gene with the risk of paranoid schizophrenia. Thus, it was found that 1) high risk genetic markers of paranoid schizophrenia in Russians — genotype *CACNA1C**C/C (rs4765905) of *CACNA1C* gene (OR = 2,32); 2) genetic markers of low haloperidol treatment efficacy in respect of negative symptoms — genotype *CACNA1C**G/G (rs4765905) of *CACNA1C* gene in Tatars ($p = 0,016$); 3) high risk genetic markers of tardive dyskinesia caused by haloperidol treatment — genotype *ITIH4**C/C (rs2227281) of *ITIH4* gene in Tatars ($p = 0,04$). Our data suggest no contribution of polymorphic variants of genes *ITIH4*, *ANK3*, *HIST1H2AG* in the development of schizophrenia in Russians and Tatars from the Republic of Bashkortostan.

Key words: genome-wide analysis of associations, schizophrenia, pharmacogenetics, neuroleptics

Частота и спектр мутаций в гене *KRAS* при раке толстой кишки разной локализации и раке анального канала

Шубин В.П., Поспехова Н.И., Цуканов А.С., Рыбаков Е.Г., Панина М.В., Сушков О.И., Ачкасов С.И., Жданкина С.Н., Кашников В.Н., Фролов С.А., Шелыгин Ю.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр колопроктологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, ул. Саяма Адия, д.2, 123423; тел.: +7(499) 642-54-40, факс: +7(499) 199-04-09, e-mail: info@gncr.ru

Мутационный статус гена *KRAS* имеет прогностическое значение при лечении анти-EGFR препаратами и связан с неблагоприятным прогнозом развития заболевания. Целью проведённого исследования было охарактеризовать частоту и спектр мутаций в кодонах 12 и 13 гена *KRAS* у больных колоректальным раком или раком анального канала. Изучены 186 образцов злокачественных новообразований (134 — колоректальный рак и 52 — рак анального канала). Частота соматических мутаций в кодонах 12 и 13 гена *KRAS* при колоректальном раке составила 34,5%. Основное число мутаций выявлено 77,8% в 12-м кодоне и 22,2% — в 13-м кодоне гена *KRAS*. Впервые в России изучена частота мутаций при раке анального канала, составившая 1,9% (1/52). Полученные данные необходимы при проведении персонализированного лечения анти-EGFR препаратами пациентов с колоректальным раком или раком анального канала.

Ключевые слова: ген *KRAS*, анти-EGFR препарат, рак толстой кишки, рак анального канала

Введение

Первые данные о том, что мутантный ген *KRAS* может активировать сигнальный путь EGFR-RAS-RAF, опубликованы D. Сарон с соавторами в 1983 г. в журнале Nature. Эти результаты были получены при исследовании ДНК клеточных линий карцином лёгкого и толстой кишки [9].

В настоящее время ген *KRAS* — один из предикторов ответа опухоли на анти-EGFR-терапию. Этот ген, локализованный на хромосоме 12, кодирует одноимённый белок, включающий 188 аминокислот, который относится к семейству RAS [14]. Мутантные белки этого семейства активируют сигнальный путь EGFR-RAS-RAF, что, в свою очередь, приводит к неконтролируемому делению клеток, нарушению регуляции пролиферации и устойчивости к апоптозу [18]. Большинство работ по генам семейства RAS направлено на изучение мутационного статуса раковой опухоли и его влияния на применение таргетных препаратов (цетуксимаб, панитумумаб и т.п.) [13]. Кроме гена *KRAS* хорошо изучены и другие гены этого семейства: *NRAS* и *HRAS*. Однако основное количество мутаций (около 86%) находят именно в гене *KRAS* [2]. Мутации, чаще всего (95%) расположенные в кодонах 12 и 13 [21] этого гена, встречаются при раке поджелудочной железы — в 90% [5], щитовидной железы — в 55% [12], толстой кишки — в 40% [21], лёгкого в 35% [12]. Показано, что мутации в гене *KRAS* связаны не только с плохим ответом на таргетную терапию, но и с более агрессивным развитием опухоли [6]. Пациенты, имеющие соматические мутации в разных кодонах (12 и 13), которые получали одинаковую противоопухолевую терапию, имели разный ответ на неё. В частности, опухоли с мута-

циями в кодоне 13 имели лучший ответ на лечение по сравнению с опухолями, имевшими мутацию в кодоне 12 [15]. Имеются исследования, согласно которым опухоли с мутациями в кодоне 13 чаще ассоциированы с местными и отдалёнными метастазами [16].

С учётом вышесказанного весьма актуально исследование мутаций в гене *KRAS* для персонализированного подхода к лечению злокачественных новообразований. Данная статья обобщает результаты поиска и анализа мутаций в кодонах 12 и 13 гена *KRAS* в злокачественных опухолях разных отделов толстой кишки и анального канала.

Материалы и методы

Всего изучено 186 образцов злокачественных новообразований пациентов, проходивших лечение в ФГБУ «ГНЦ колопроктологии» Минздрава России. Диагнозы этих пациентов: у 13 чел. — рак слепой кишки, у 23 чел. — рак восходящей кишки, у 11 чел. — рак поперечной ободочной кишки, у 5 чел. — рак нисходящей кишки, у 33 чел. — рак сигмовидной кишки, у 49 чел. — рак прямой кишки и у 52 чел. — рак анального канала (табл. 1). ДНК выделяли из образцов опухолей, фиксированных парафином, или непосредственно из опухолей, удалённых во время операций. Выделение проводили с использованием набора QIAGEN, согласно протоколу производителя. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) амплифицировали фрагменты гена *KRAS*, используя праймеры-затравки:

Forward — 5'- TACTGGTGGAGTATTTGATAGTG-3',
Revers — 5'- CTGTATCAAAGAATGTGCCTG-3'.

Программа амплификации: 95°C — 10'; 45 циклов: 95°C — 15", 60°C — 30", 72°C — 30"; 72°C — 2'. Выявление мутаций в гене *KRAS* проводили путём автоматического секвенирования на приборе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США). Для определения и анализа мутаций использовали программное обеспечение фирмы Applied Biosystems (США). Статистическую обработку данных проводили, используя программу Statistica 10.0.

Результаты

Частота соматических мутаций в гене *KRAS* в исследованных 134 образцах рака толстого кишечника (РТК) составила 33,5% (45/134). Основная часть мутаций найдена в кодоне 12 — 77,8% (35/45). Остальные 22,2% (10/45) мутаций обнаружены в кодоне 13. Мутации в кодоне 12 наблюдались с частотой: G12D — 45,7% (16/35), G12V — 31,4% (11/35), G12S — 20,0% (7/35), G12A — 2,8% (1/35). В кодоне 13 найдена только одна мутация: G13D — 22,2% (10/45). Частоты мутаций в разных отделах толстой кишки следующие: в слепой кишке — 30,7% (4/13), в восходящей — 26,1% (6/23), в поперечной ободочной — 18,2% (2/11), в нисходящей — 60% (3/5), в сигмовидной — 42,4% (14/33), в прямой — 32,6% (16/49) (табл. 2). Частота мутаций в проксимальном отделе 25,5% (12/47) не отличается от данных по дистальному отделу — 37,2% (32/86) ($p = 0,18$). В умеренно дифференцированных аденокарциномах мутации в гене *KRAS* встретились в 38,0% (35/92), из них 77,1% (27/35) в кодоне 12 и 22,8% (8/35) — в кодоне 13. В слизистых аденокарциномах мутации обнаружены в 29,6% (8/27), из них в кодоне 12 — 75% (6/8), в кодоне 13 — 25% (2/8). В низкодифференцированных аденокарциномах мутации обнаружены только в кодоне 12 — 15,3% (2/13) (табл. 3).

При плоскоклеточном раке анального канала обнаружена лишь одна мутация в кодоне 12 (G12R).

Обсуждение

Колоректальный рак является одним из распространённых онкологических заболеваний в развитых странах [3], в том числе в России [4]. В настоящее время применение анти-EGFR препаратов при этой форме злокачественных новообразований является рутинным. Однако положительный эффект при их использовании наблюдается лишь при диком типе гена *KRAS*. В 2009 г. опубликованы данные двух крупных рандомизированных исследований OPUS и CRYSTAL, где показано, что присутствие мутации в одном из двух кодонов (12 или 13) гена *KRAS* связано с плохим ответом опухоли на терапию анти-EGFR препаратами, в частности цетуксимабом [22, 23].

В представленном исследовании изучена частота мутаций гена *KRAS* в разных отделах толстой кишки: от слепой до прямой кишки. Из данных табл. 2 видно, что эта частота разная (от 18,2% до 60%). В работе М. Yamachi с соавторами самый высокий процент мутаций в гене *KRAS* оказался в слепой кишке 111/221 (52%), а в других отделах — 27–35% ($p = 0,0001$) [24].

Частота мутаций в гене *KRAS* в правых отделах кишечника (слепая кишка, восходящая ободочная кишка, поперечная ободочная кишка) не отличается от частоты в левых отделах кишечника (нисходящая ободочная кишка, сигмовидная кишка, прямая кишка). В России аналогичные данные получены сотрудниками НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина [1].

В нашем исследовании основное количество мутаций в гене *KRAS* найдено в кодоне 12 (77,8%). Около половины мутаций в гене *KRAS* в кодоне 12 приходится на G12D. Вторая по частоте встречаемости в этом кодоне мутация — G12V. Эти две мутации встречаются при локализации опухоли во всех отделах толстого кишечника от слепой до

Данные о больных и характеристики опухолей

Таблица 1

Отделы толстой кишки	Число опухолей	Пол		Возраст, лет			Стадия				Гистологическое строение опухоли				
		Муж.	Жен.	Мин.	Макс.	Сред.	I (T ₁₋₂ N ₀ M ₀)	II (T ₃₋₄ N ₀ M ₀)	III (T ₁₋₄ N ₁₋₂ M ₀)	IV (T ₁₋₄ N ₁₋₂ M ₁)	УДА	СА	НДА	Плоск.	Другие
Слепая кишка	13	4	9	55	78	65,3	2	6	2	3	9	4	0		
Восходящая кишка	23	6	17	37	88	66,3	1	9	9	4	10	8	5		
Поперечная ободочная кишка	11	3	8	35	78	59,3	0	8	3	0	8	2	1		
Нисходящая кишка	5	2	3	43	81	62	0	5	0	0	5	0	0		
Сигмовидная кишка	33	19	14	32	76	58,6	0	12	9	12	24	8	1		
Прямая кишка	49	26	23	26	73	55,9	1	9	15	25	36	5	6		2
Анальный канал	52	5	47	35	79	59,1								47	5
Примечание. * — УДА — умеренно-дифференцированная аденокарцинома; СА — слизистая аденокарцинома; НДА — низкодифференцированная (малодифференцированная) аденокарцинома; Плоск. — плоскоклеточный рак															

прямой. Вместе с тем, мутацию G12S, которая встретила в 20% случаев, мы находили только в новообразованиях, расположенных в левых отделах толстой кишки (сигмовидная и прямая кишка). Достаточно редкие мутации G12A и G12R встретились в опухоли прямой кишки и при раке анального канала соответственно.

Рак анального канала — редкий вид злокачественных новообразований терминальной части желудочно-кишечного тракта — в основном (70–90%) представлен плоскоклеточным (эпидермоидным) раком, в 10–15% — аденокарциномами и в 3–5% другими опухолями (мелкоклеточный рак, меланома, неэпителиальные опухоли). Распространённость плоскоклеточного рака анального канала колеблется в пределах 0,5–0,9 случая на 100 тыс. населения. В России, предположительно, ежегодно выявляют около 1000 новых случаев рака анального канала [4]. В одном образце плоскоклеточного рака анального канала мы обнаружили мутацию G12R в гене *KRAS*. Согласно литературным данным, исследование соматических мутаций в гене *KRAS* при плоскоклеточном раке анального канала очень мало. Тем не менее, ни в одной из работ в гене *KRAS* мутации не встретили.

Мутацию G12R находят в единичных случаях при РТК и немелкоклеточном раке лёгкого [16, 17]. Y. Ima-mura с соавторами отмечают, что опухоли с мутацией G12R характеризуются как «агрессивные», т.е. быстро прогрессируют и имеют плохой прогноз [11].

Полученные спектр и частота мутаций в гене *KRAS* имеют как сходство, так и различия с данными литературы. Так, например, в работах J. Neumann с соавторами самой частой мутацией была G12D (36%), а самой редкой — G12R [17, 18]. По нашим данным, частота мутации G12S выше (20%), чем в работах других авторов (6,5–11%) [8, 17]. Ещё одной отличительной особенностью является то, что мы не встретили мутацию G12C, которая стоит на третьем месте (8%) по встречаемости у J. Neumann с соавторами [17].

Несмотря на то, что спектр и частота мутаций в гене *KRAS* в кодоне 12 могут несколько различаться, любая из мутаций в этом кодоне, приводящая к замене аминокислоты, активирует сигнальный путь EGFR-RAS-RAF.

В кодоне 13 нами выявлена мутация G13D в 22% наблюдений. По данным литературы, частота мутаций в кодоне 13 составляет 13,4–18,8% [8, 16, 17]. Существуют различные мнения о значении мутации G13D как прогностического маркера чувствительности к анти-EGFR препаратам при колоректальном раке. В работе G. Pajkos с соавторами показано, что наличие такой мутации в опухоли связано с более высокой частотой метастазирования [19]. W.S. Samowitz с соавторами, изучая выборку 1413 больных колоректальным раком, состоявшую из чернокожих, белых и испанцев, обнаружили высокую смертность пациентов, у которых в опухоли обнаруживали мутацию G13D [20]. В другом исследова-

Таблица 2

Частота соматических мутаций в гене *KRAS* в разных отделах толстой кишки

Локализация опухоли	Общее число опухолей	Кодон 12					Кодон 13	<i>KRAS</i>	
		G12D	G12V	G12S	G12A	G12R	G13D	Σ	%
Слепая кишка	13	1	1	0	0	0	2	4	30,7
Восходящая ободочная кишка	23	3	3	0	0	0	0	6	26,1
Поперечно-ободочная кишка	11	1	1	0	0	0	0	2	18,2
Нисходящая ободочная кишка	5	2	1	0	0	0	0	3	60
Сигмовидная кишка	33	6	2	3	0	0	3	14	42,4
Прямая кишка	49	3	3	4	1	0	5	16	32,6
Анальный канал	52	0	0	0	0	1	0	1	1,9
Все отделы	186	16	11	7	1	1	10	46	25,2

Таблица 3

Спектр мутаций в кодонах 12 и 13 в гене *KRAS* в опухолях разных гистологических подтипов

Гистологическое строение опухоли	Общее кол-во	Кодон 12					Кодон 13	<i>KRAS</i>	
		G12D	G12V	G12S	G12A	G12R	G13D	Σ	%
Умеренно-дифференцированная аденокарцинома	92	12	8	6	1	0	8	35	38
Слизистая аденокарцинома	27	4	1	1	0	0	2	8	29,6
Низкодифференцированная аденокарцинома	13	0	2	0	0	0	0	2	15,3
Плоскоклеточный рак	47	0	0	0	0	1	0	1	2,1

нии показано, что злокачественные опухоли толстой кишки с мутацией в кодоне 13 ведут себя более агрессивно и чаще связаны с более высоким риском отдалённого метастазирования, чем опухоли с мутацией в кодоне 12 [16]. Однако в работе Y. Imamura с соавторами подчёркивается, что прогностическое значение для чувствительности к анти-EGFR препаратам имеют мутации в кодоне 12, а мутации в кодоне 13 сопоставимы с диким типом гена *KRAS* [11].

В нашей работе образцы опухолей представлены четырьмя гистологическими подтипами. В умеренно дифференцированных и слизистых (муцинозных) аденокарциномах встретились мутации как в 12-м, так и 13-м кодонах, причём в первом частота мутаций была выше в обоих подтипах. Во многих исследованиях мутации кодонов 12 и 13 гена *KRAS* также обнаруживают при умеренно дифференцированных и слизистых (муцинозных) аденокарциномах. Однако некоторые авторы отмечают, что в слизистых аденокарциномах чаще встречаются мутации в кодоне 12 [11].

В низкодифференцированных аденокарциномах мы обнаружили только один вариант мутации в гене *KRAS* в кодоне 12 — G12V. Этот вариант мутации, по литературным источникам, ассоциирован с неблагоприятным прогнозом [8].

Впервые изучена частота мутаций в кодонах 12 и 13 гена *KRAS* при раке анального канала.

Выявлена крайне редкая (1,5% от всего спектра) мутация в гене *KRAS* — G12R — при плоскоклеточном раке анального канала.

Список литературы

1. Гагарин И.М., Мочальникова В.В., Горбунова В.А., Мазуренко Н.Н. Частота мутаций в гене *K-RAS* в опухолях толстой кишки в зависимости от локализации // Международная школа молодых ученых по молекулярной генетике «Геномика и биология клетки». Звенигород. 29 ноября — 3 декабря 2010 г. — С. 64—65.
2. Интернет-ресурсы: www.globocan.org.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2012 году. — М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2014. — С. 250.
4. Шелыгин Ю.А., Нечушкин М.И., Рыбаков Е.Г. Опухоли анального канала и перианальной кожи: Практическое руководство для врачей. — М.: Практическая медицина, 2011. — С. 128.
5. Almoguera C., Shibata D., Forrester K. et al. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant C-K-Ras genes // *Cell*. — 1988. — №53. — P. 549—554.
6. Arrington A.K., Heinrich E.L., Lee W. et al. Prognostic and Predictive Roles of KRAS Mutation in Colorectal Cancer // *Int. J. Mol. Sci.* — 2012. — Vol. 13, №10. — P. 12153—12168.
7. Bamford S., Dawson E., Forbes S. et al. The COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) database and website // *Br. J. Cancer*. — 2004. — №91. — P. 355—358.
8. Bazan V., Migliavacca M., Zanna I. et al. Specific codon 13 K-ras mutations are predictive of clinical outcome in colorectal cancer patients, whereas codon 12 K-ras mutations are associated with mucinous histotype // *Ann. Oncol.* — 2002. — Vol. 13, №9. — P. 1438—1446.
9. Capon D.J., Seeburg P.H., McGrath J.P. et al. Activation of Ki-ras2 gene in human colon and lung carcinomas by two different point mutations // *Nature*. — 1983. — Vol. 304, №5926. — P. 507—513.
10. De Roock W., Piessevaux H., De Schutter J. et al. KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab // *Ann. Oncol.* — 2008. — №19. — P. 508—515.
11. Imamura Y., Morikawa T., Liao X. Specific mutations in KRAS codons 12 and 13, and patient prognosis in 1075 BRAF wild-type colorectal cancers // *Clin. Cancer Res.* — 2012. — Vol. 18, №17. — P. 4753—4763.
12. Kranenburg O. The KRAS oncogene: Past, present, and future // *Biochim. Biophys. Acta*. — 2005. — №1756. — P. 81—82.
13. Lievre A., Bachet J., Le Corre D. et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer // *Cancer Res.* — 2006. — №66. — P. 3992—3995.
14. Malumbres M., Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years // *Nat. Rev. Cancer*. — 2003. — №3. — P. 459—465.
15. Messner I., Cadeddu G., Huckenbeck W. et al. KRAS p.G13D mutations are associated with sensitivity to anti-EGFR antibody treatment in colorectal cancer cell lines // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* — 2013. — Vol. 139, №2. — P. 201—209.
16. Modest D., Stintzing S., Laubender R. et al. Clinical characterization of patients with metastatic colorectal cancer depending on the KRAS status // *Anticancer Drugs*. — 2011. — Vol. 22, №9. — P. 913—918.
17. Neumann J., Zeindl-Eberhart E., Kirchner T., Jung A. Frequency and type of KRAS mutations in routine diagnostic analysis of metastatic colorectal cancer // *Pathol. Res. Pract.* — 2009. — №205. — P. 858—862.
18. Neumann J., Wehweck L., Maatz S. et al. Alterations in the EGFR pathway coincide in colorectal cancer and impact on prognosis // *Virchows Arch.* — 2013. — Vol. 463, №4. — P. 509—523.
19. Pajkos G., Kiss I., Sandor J. et al. The prognostic value of the presence of mutations at the codons 12, 13, 61 of K-ras oncogene in colorectal cancer // *Anticancer Res.* — 2000. — Vol. 20, №3A. — P. 1695—1701.
20. Samowitz W.S., Curtin K., Schaffer D. et al. Relationship of Ki-ras mutations in colon cancers to tumor location, stage, and survival: a population-based study // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2000. — Vol. 9, №11. — P. 1193—1197.
21. Tan C., Du X. KRAS mutation testing in metastatic colorectal cancer // *World J. Gastroenterol.* — 2012. — Vol. 18, №37. — P. 5171—5180.
22. Tejpar S., Bokemeyer C., Celik I. et al. Influence of KRAS G13D mutations on outcome in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) treated with first-line chemotherapy with or without cetuximab // Presented as oral presentation at the gastrointestinal (colorectal) cancer session at the 2011 ASCO meeting. — 2011. — Abstract №3511.
23. Van Cutsem E., Kohne C.H., Lang I. et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status // *J. Clin. Oncol.* — 2011. — Vol. 29, №15. — P. 2011—2019.
24. Yamauchi M., Morikawa T., Kuchiba A. et al. Assessment of colorectal cancer molecular features along bowel subsites challenges the conception of distinct dichotomy of proximal versus distal colorectum // *Gut*. — 2012. — Vol. 61, №6. — P. 847—854.

Frequency and spectrum *KRAS* mutations in different localization of colon cancer and anal cancer

Shubin V.P., Pospekhova N.I., Tsukanov A.S.,
Rybakov E.G., Panina M.V., Sushkov O.I., Achkasov S.I.,
Zhdankina S.N., Kashnikov V.N., Frolov S.A., Shelygin Ju.A.

State Scientific Center of Coloproctology,
str. Salam Adil, 2, 123423, ph. +7(499) 642-54-40, e-mail: info@gnck.ru

KRAS mutations have prognostic relevance for anti-EGFR treatment and poor prognosis. Aim of the study was describe frequency and spectrum of mutations in 12/13 codons of *KRAS* among colorectal and anal cancer patients. Sample of 186 malignant tumors were studied (134 — colorectal cancer and 52 — anal cancer). Frequency of *KRAS* somatic mutations (12/13 codons) of colorectal and anal cancer patients was 34,5%. Most mutations were found in 12 codon — 77,8%. In 13 codon mutation was detected in 22,2%. The frequency of *KRAS* mutations in anal cancer was 1,9%. It was the first study of *KRAS* status in Russia. Our results are needed for tailored treatment of colorectal and anal cancer by anti-EGFR drugs.

Key words: *KRAS*, anti-EGFR drug, colon cancer, anal cancer

Ассоциации полиморфных вариантов генов ядерного и митохондриального геномов с ишемической болезнью сердца*

Бабушкина Н.П.¹, Кучер А.Н.¹, Буйкин С.В.¹, Голубенко М.В.¹, Макеева О.А.¹, Брагина Е.Ю.¹, Гончарова И.А.¹, Тарасенко Н.В.¹, Пузырев К.В.¹, Шипулин В.М.², Пузырев В.П.¹

¹ — ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН, 634050, г.Томск, Набережная р.Ушайки, 10, факс (3822)513744, e-mail: valery.puzyrev@medgenetics.ru

² — ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН, 634012, Томск, ул. Киевская, 111а, факс: 8 (3822) 565830, e-mail: sv@cardio-tomsk.ru

В группе больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) проанализирован полиморфизм ядерных генов (генов подверженности заболеваниям сердечно-сосудистой системы — *ADRB2*, *NOS3*, *ACE*, *AGTR1*, *GNB3*, *PPP3R1*, *GATA4*; генов регуляции иммунного ответа — *LTA*, *TNF*, *TNFRSF1B*, *IL4*, *IL4R*, *IL12A*, *IL12B*, *IL12RB1*, *IFNG*, *IFNGR2*) и митохондриальной ДНК (мтДНК). При сравнении группы больных с популяционным контролем по частотам аллелей, генотипов, сочетаний генотипов и гаплотипов установлены ассоциации с ИБС семи изученных генов, относящихся как к генам предрасположенности к заболеваниям сердечно-сосудистой системы (*GNB3*, *ACE*, *NOS3*), так и к генам регуляции иммунного ответа (*TNF*, *LTA*, *TNFRSF1B* и *IL12RB1*). Статистически значимые различия между сравниваемыми группами выявлены по частотам аллелей и генотипов (для rs4291 (*ACE*), rs1061622 (*TNFRSF1B*), rs5443 (*GNB3*)), по сочетаниям генотипов (для замен в генах *ACE*, *NOS3*, *TNF/LTA*, *IL12RB1*) и по частотам гаплотипов (*TNF/LTA*).

Ключевые слова: генетический полиморфизм, ишемическая болезнь сердца, сердечно-сосудистая патология

Введение

Заболевания сердечно-сосудистой системы в настоящее время занимают ведущее положение в инвалидизации и смертности населения [4], доминируют среди них — артериальная гипертензия (АГ) и ИБС. Фактически, ИБС до сих пор остаётся одним из самых распространённых, прогрессирующих и прогностически неблагоприятных заболеваний сердечно-сосудистой системы. Согласно данным официальной статистики, в 2003 г. во всём мире около 30% смертности пришлось на долю ИБС, в России этот показатель составил 56% [16]. При этом уровень смертности от ИБС при сочетании с АГ почти в 2 раза превышает таковой при ИБС с нормотонией [11, 16]. В старших возрастных когортах в популяции частота АГ увеличивается; с возрастом изменяются характеристики и самой гипертензии [1]. Общность патофизиологических процессов, лежащих в основе ремоделирования сосудов и сердца, в итоге обусловила понимание их как непрерывного сердечно-сосудистого континуума [19]. В настоящее время известно уже более 200 факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний; немаловажную роль среди них играет генетическая компонента [11, 13, 14].

Генетическая компонента заболеваний сердечно-сосудистой системы активно изучается во всём мире, список генов подверженности постоянно расширяется. В поле зрения исследователей попадают гены, продукты которых участвуют в различных метаболических процессах — на

стадиях как эмбрионального развития, так и всех дальнейших этапов функционирования сердечно-сосудистой системы; всё чаще изучаются регуляторные гены либо регуляторные элементы генов, роль продуктов которых в патологическом процессе уже известна [34, 35]. Результаты этих исследований не всегда однозначны, а зачастую и противоречивы. Одной из причин возникающих противоречий является дизайн исследований, ориентированных на изучение либо изолированных патологий, либо коморбидных состояний, однако данная информация не всегда отображается в литературных источниках.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении ассоциаций ряда генов ядерного и митохондриального геномов (на уровне аллелей, генотипов, сочетаний генотипов и гаплотипов) с ИБС в сочетании с АГ.

Материалы и методы

Были обследованы 149 больных (129 мужчин и 20 женщин) с ИБС в сочетании с эссенциальной АГ; данная выборка далее по тексту обозначена как группа ИБС. Согласно анамнезу, 137 пациентов (92%) перенесли один или несколько инфарктов миокарда (ИМ), у остальных зарегистрирован стенозирующий атеросклероз. Средний возраст больных составил 53,5 года. Выборка сформирована на базе ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН г.Томска. В качестве контрольной группы была использована популяционная выборка жителей города Томска, включающая 96 чел. (в

* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 годы для проведения научных исследований коллективами НОЦ» (соглашение №8062).

том числе 42 мужчины и 54 женщины); средний возраст — 47,6 года. В обеих изученных группах русские составляли более 90%. У всех обследованных лиц получено информированное согласие на проведение исследования.

Проанализированы полиморфные варианты двух групп генов (гены-кандидаты заболеваний сердечно-сосудистой системы — *ADRB2*, *NOS3*, *ACE*, *AGTR1*, *GNB3*, *PPP3R1*, *GATA4*; гены регуляции иммунного ответа — *LTA*, *TNF*, *TNFRSF1B*, *IL4*, *IL4R*, *IL12A*, *IL12B*, *IL12RB1*, *IFNG*, *IFNGR2*) и митохондриальной ДНК (мтДНК: *MTCO1*, *MTTL2*, *MTCYB*, *MTND5*) (табл. 1). Всего изучено 23 SNP и 1 VNTR в 17 генах ядерного генома; в мтДНК проанализированы четыре SNP, характеризующих принадлежность индивидов к наиболее распространённым в европеоидных популяциях гаплогруппам мтДНК: H (C7028T), U (A12308G), T (A15607G) и J (G13708A). Генотипирование

исследованных полиморфных вариантов проведено, как описано ранее [2, 7—10, 29] (табл. 1).

Оценку соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди—Вайнберга проводили с использованием критерия χ^2 . Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами применяли критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность и точный тест Фишера. Неравновесие по сцеплению оценивали по алгоритму Хилла с использованием показателя D [22] и его нормированного показателя (ρ) [5]. Расчёт гаплотипов проводили по методу Хилла [22]. Гетерогенность по частотам генотипов и гаплотипов оценивали с помощью критерия χ^2 . Об ассоциации аллелей, гаплотипов и генотипов с патологическим состоянием судили по величине отношения шансов (OR) и границам 95%-ного доверительного интервала (CI) [25].

Таблица 1

Характеристика выбранных для исследования полиморфных вариантов генов подверженности многофакторным заболеваниям

Ген	Локализация гена	rs	Полиморфизм	Локализация в гене	Аминокислотная замена	Методы генотипирования*
<i>ACE</i>	17q23.3	rs4291	A-240T	Промотор	—	9
		rs4343	A2350G	Экзон 17	Thr776Thr	9
<i>AGTR1</i>	3q24	rs5186	A1166C	3'-UTR	—	9
<i>GNB3</i>	12p13	rs5443	C825T	Экзон 10	Ser275Ser	9
<i>NOS3</i>	7q36	rs2070744	T-786C	Промотор	—	9
		rs61722009	VNTR	Инtron 4	—	9
		rs1799983	G894T	Экзон 8	Asp298Glu	9
<i>ADRB2</i>	5q31-q32	rs1042713	A46G	Экзон 1	Arg16Gly	9
		rs1042714	C79G	Экзон 1	Gln27Glu	9
<i>PPP3R1</i>	2p15	rs11126176	A/G	Вблизи гена	—	AB ¹
<i>GATA4</i>	8p23.1-p22	rs804271	G/T	Вблизи гена	—	7
<i>LTA</i>	6p21.3	rs909253	A252G	Инtron 1	—	10
<i>TNF</i>	6p21.3	rs1800629	G-308A	5'-UTR	—	10
<i>TNFRSF1B</i>	1p36.3-p36.2	rs1061622	T676G	Экзон 6	Met196Arg	10
<i>IL4</i>	5q31	rs2243291	G+717C	Вблизи 3'-UTR	—	8
<i>IL4R</i>	16p12.1-p11.2	rs1801275	A1969G	Экзон 11	Gln576Arg	8
		rs2074570	A2726G	3'-UTR	—	8
<i>IL12A</i>	3q25.33-q26	rs568408	G1098A	3'-UTR	—	8
<i>IL12B</i>	5q31.1-q33.1	rs3212227	A1188C	3'-UTR	—	8
		rs3212220	G-405T	Инtron 1	—	8
<i>IL12RB1</i>	19p13.1	rs3746190	C2087T	3'-UTR	—	8
		rs11575926	G531A	Экзон 5	Arg156His	8
<i>IFNG</i>	12p14	rs2069705	C-3511T	Вблизи 5'-UTR	—	2
<i>IFNGR2</i>	21q22-11	rs17880053	-/G	Вблизи 5'-UTR	—	2
<i>MTCO1</i>	мтДНК	rs2015062	C7028T	Экзон	—	29
<i>MTTL2</i>	мтДНК	rs2853498	A12308G	тРНК	—	29
<i>MTCYB</i>	мтДНК	rs28357372	A15607G	Экзон	—	29
<i>MTND5</i>	мтДНК	rs28539178	G13708A	Экзон	Ala458Thr	29

Примечание. * — указаны номера ссылок на публикации, в которых описаны использованные методы; AB¹ — генотипирование выполнено с помощью Taq Man-проб согласно протоколу Taq Man Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, США)

**Частоты аллелей и генотипов
по изученным полиморфным вариантам генов
в выборке больных с ИБС
и в контрольной группе (%)**

Ген, полиморфизм	Группы	Частоты генотипов			n	Соответствие равновесию Харди— Вайнберга χ^2 (p)	Частота редкого аллеля	p	
								Генотипы	Аллели
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ACE, A2350G (rs4343)		AA	AG	GG			A		
	ИБС	25,35	47,18	27,47	142	0,44 (>0,05)	48,94	0,269	0,141
	Контроль	31,25	50,00	18,75	96	0,04 (>0,05)	56,25		
ACE, A-240T (rs4291)		AA	AT	TT			A		
	ИБС	43,30	36,08	20,62	97	5,55 (<0,05)	38,66	0,003	0,014
	Контроль	51,61	44,09	4,30	93	1,72 (>0,05)	26,34		
AGTR1, A1166C (rs5186)		AA	AC	CC			C		
	ИБС	54,11	40,41	5,48	146	0,50 (>0,05)	25,68	0,940	0,947
	Контроль	55,21	38,54	6,25	96	0,02 (>0,05)	25,52		
GNB3, C825T (rs5443)		CC	CT	TT			T		
	ИБС	42,65	44,12	13,23	136	0,16 (>0,05)	35,29	0,035	0,012
	Контроль	57,29	37,50	5,21	96	0,08 (>0,05)	23,96		
NOS3, T-786C (rs2070744)		TT	CT	CC			C		
	ИБС	42,53	44,03	13,44	134	0,19 (>0,05)	35,45	0,175	0,981
	Контроль	48,96	32,29	18,75	96	8,04 (<0,01)	34,90		
NOS3, VNTR		BB	AB	AA			A		
	ИБС	61,76	33,09	5,15	136	0,09 (>0,05)	21,69	0,403	0,280
	Контроль	67,71	30,21	2,08	96	0,36 (>0,05)	17,19		
NOS3, G894T (rs1799983)		GG	GT	TT			T		
	ИБС	50,00	41,89	8,11	148	0,04 (>0,05)	29,05	0,147	0,127
	Контроль	62,50	30,21	7,29	96	1,65 (>0,05)	22,4		
ADRB2, A46G (rs1042713)		GG	AG	AA			A		
	ИБС	42,47	47,94	9,59	146	0,82 (>0,05)	33,56	0,886	0,747
	Контроль	40,62	47,92	11,46	96	0,22 (>0,05)	35,42		
ADRB2, C79G (rs1042714)		CC	CG	GG			G		
	ИБС	34,69	46,26	19,05	147	0,39 (>0,05)	42,18	0,732	0,482
	Контроль	38,54	45,83	15,63	96	0,10 (>0,05)	38,54		

Таблица 2 (продолжение)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PPP3R1, A/G (rs11126176)		AA	AG	GG			C		
	ИБС	27,41	51,85	20,74	135	0,23 (>0,05)	53,33	0,837	0,971
	Контроль	26,14	55,68	18,18	88	1,28 (>0,05)	53,98		
GATA4, G/T (rs804271)		GG	GT	TT			T		
	ИБС	23,65	50,68	25,67	148	0,03 (>0,05)	51,01	0,490	0,560
	Контроль	30,11	44,08	25,81	93	1,28 (>0,05)	47,85		
LTA, A252G (rs909253)		AA	AG	GG			G		
	ИБС	48,90	43,80	7,30	137	0,48 (>0,05)	29,20	0,110	0,308
	Контроль	60,41	30,21	9,38	96	3,21 (>0,05)	24,48		
TNF, G-308A (rs1800629)		GG	GA	AA			A		
	ИБС	81,88	16,67	1,45	138	0,43 (>0,05)	9,78	0,217	0,150
	Контроль	76,04	18,75	5,21	96	5,88 (<0,05)	14,58		
TNFRSF1B, T676G (rs1061622)		TT	GT	GG			G		
	ИБС	49,65	35,66	14,69	143	5,02 (<0,05)	32,52	0,005	0,007
	Контроль	60,42	37,50	2,08	96	1,80 (>0,05)	20,83		
IL4, G+717C (rs2243291)		GG	CG	CC			C		
	ИБС	53,10	40,69	6,21	145	0,27 (>0,05)	26,55	0,988	0,981
	Контроль	52,08	41,67	6,25	96	0,29 (>0,05)	27,08		
IL4R, A1969G (rs1801275)		AA	AG	GG			G		
	ИБС	66,67	31,29	2,04	147	0,82 (>0,05)	17,69	0,188	0,275
	Контроль	76,04	20,83	3,13	96	1,17 (>0,05)	13,54		
IL4R, A2726G (rs2074570)		AA	AG	GG			G		
	ИБС	89,12	10,88	0	147	0,49 (>0,05)	5,44	0,666 (0,661)	0,693 (0,670)
	Контроль	91,67	8,33	0	96	0,18 (>0,05)	4,17		
IL12A, G1098A (rs568408)		GG	GA	AA			A		
	ИБС	61,49	36,49	2,02	148	2,46 (>0,05)	20,27	0,800	0,654
	Контроль	58,33	38,54	3,13	96	0,33 (>0,05)	22,40		
IL12B, A1188C (rs3212227)		AA	AC	CC			C		
	ИБС	63,95	34,01	2,04	147	1,56 (>0,05)	19,05	0,994	0,971
	Контроль	64,58	33,34	2,08	96	0,85 (>0,05)	18,75		
IL12B, G-405T (rs3212220)		GG	GT	TT			T		
	ИБС	60,54	37,42	2,04	147	2,79 (>0,05)	20,75	0,989	0,999
	Контроль	61,46	36,46	2,08	96	1,53 (>0,05)	20,31		

Таблица 2 (окружение)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
IL12RB1, C2087T (rs3746190)		CC	CT	TT			T		
	ИБС	41,89	40,54	17,57	148	2,83 (>0,05)	37,84	0,794	0,832
	Конт- роль	41,67	43,75	14,58	96	0,30 (>0,05)	36,46		
IL12RB1, G531A (rs11575926)		GG	GA	AA			A		
	ИБС	65,28	29,86	4,86	144	0,51 (>0,05)	19,79	0,538	0,652
	Конт- роль	66,67	31,25	2,08	96	0,50 (>0,05)	17,71		
IFNG, C-3511T (rs2069705)		CC	CT	TT			C		
	ИБС	29,86	47,22	22,92	144	0,37 (>0,05)	53,47	0,569	0,339
	Конт- роль	34,37	47,92	17,71	96	0,02 (>0,05)	58,33		
IFNGR2, -/G (rs17880053)		-/-	-/G	GG			G		
	ИБС	73,79	24,83	1,38	145	0,28 (>0,05)	13,79	0,152	0,139
	Конт- роль	62,5	36,46	1,04	96	2,83 (>0,05)	19,27		
мтДНК		H	U	T	J	Прочие	n	χ^2 (p)	
	ИБС	41,5	25,17	8,84	8,16	16,33	147	4,21 (0,38)	
	Конт- роль	39,58	22,92	5,21	6,25	26,04	96		

Примечание. n — число обследованных индивидов; χ^2 — критерий использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди—Вайнберга; p — достигнутый уровень статистической значимости; **жирным шрифтом** выделены различия, достигшие уровня статистической значимости. Полиморфизм мтДНК: «H» — C7028T; «U» — A12308G; «T» — A15607G; «J» — G13708A; «прочие» — мтДНК, относящиеся к другим гаплогруппам

Результаты и обсуждение

Характеристика изученных полиморфных вариантов и анализ внутригенных сочетаний генотипов

Отклонение наблюдаемого распределения генотипов от ожидаемого при равновесии Харди—Вайнберга зафиксировано для контрольной группы по локусам rs2070744 (*NOS3*) и rs1800629 (*TNF*), для группы пациентов с ИБС — по rs4291 (*ACE*) и по rs1061622 (*TNFRSF1B*); для всех указанных локусов отклонение от равновесия регистрировалось за счёт недостатка гетерозигот (табл. 2). Результаты исследования привлечённых к анализу полиморфных вариантов генов предрасположенности многофакторным заболеваниям в популяционной выборке (которая рассматривается в данном исследовании как контрольная) подробно описаны ранее [8–10].

В исследованных выборках наиболее распространённой является гаплогруппа H митохондриальной ДНК (41,50% и 40,28% соответственно в группах ИБС и контрольной), второй по частоте представлена гаплогруппа U (25,17% и 24,07% соответственно); существенно ниже встречаемость гаплогрупп T (8,84% и 8,80% соответственно) и J (8,16% и 10,18% соответственно), что согласуется с данными по другим русским популяциям [3, 12].

В ряде генов были изучены по несколько полиморфных вариантов, что позволило провести анализ внутригенных попарных сочетаний генотипов. Всего было проанализировано 9 парных генотипических сочетаний: три для гена *NOS3* (в данном гене изучены три полиморфных варианта), по одному — для пяти генов, в которых изучены по два SNP — *ACE*, *ADRB2*, *IL4R*, *IL12B*, *IL12RB1*; анализ сочетаний генотипов был выполнен также для тесно сцепленных генов *TNF* и *LTA* (в обоих генах изучено по одному SNP) (табл. 3). Все привлечённые для анализа полиморфные варианты как у больных ИБС, так и в популяционной выборке оказались в неравновесии по сцеплению, хотя сила сцепления для разных локусов была различна (табл. 3). Наименьшее различие между исследованными группами в значениях показателя ρ сцепленных локусов регистрируется для гена *IL12B* (+0,952 в популяционной выборке и +0,948 в группе с ИБС), наибольшее — для генов *LTA-TNF* (+0,726 — в популяционной выборке, +0,339 — в группе больных). Сила сцепления минимальна для сочетания rs61722009-rs1799983 в гене *NOS3* (–0,228 в выборке больных ИБС и –0,245 — в контроле), максимальна — для SNP в гене *IL12B* (+0,952 и +0,948 в контроле и в группе с ИБС соответственно).

Таблица 3

**Распределение попарных внутригенных комбинаций генотипов и гаплотипов
по изученным SNP в выборке больных с ИБС
и в группе популяционного контроля (%)**

Ген: полиморфные варианты	Сочетания генотипов	Популяционный контроль	ИБС	Гаплотипы	Популяционный контроль	ИБС
1	2	3	4	5	6	7
NOS3: rs2070744 — rs61722009	TT-BB	46,88	33,60	T — B	63,28	58,90
	TT-AB	2,08	7,20	C — B	19,53	20,30
	TT-AA	—	0,80	T — A	1,82	5,50
	CT-BB	16,67	25,60	C — A	15,37	15,30
	CT-AB	14,58	20,00	D ± s.e.	+0,094 ± 0,021	+0,079 ± 0,019
	CT-AA	1,04	—			
	CC-BB	4,17	4,00	ρ	+0,521	+0,406
	CC-AB	13,54	4,80	χ ²	26,07***	20,61***
	CC-AA	1,04	4,00			
NOS3: rs61722009 — rs1799983	BB-GG	39,58	27,94	B — G	60,41	50,70
	BB-GT	20,83	26,47	A — G	17,19	19,52
	BB-TT	7,29	7,35	B — T	22,40	27,61
	AB-GG	20,83	16,18	A — T	—	2,17
	AB-GT	9,38	16,91	D ± s.e.	-0,039 ± 0,010	-0,043 ± 0,013
	AB-TT	—	—			
	AA-GG	2,08	4,41	ρ	-0,245	-0,228
	AA-GT	—	—	χ ²	5,75*	7,06**
	AA-TT	—	0,74			
NOS3: rs2070744 — rs1799983	TT-GG	37,50	31,34	T — G	56,90	55,10
	TT-GT	11,46	10,45	C — G	20,70	16,91
	TT-TT	—	0,75	T — T	8,20	9,45
	CT-GG	18,75	16,42	C — T	14,20	18,53
	CT-GT	10,42	23,88	D ± s.e.	+0,064 ± 0,022	+0,086 ± 0,019
	CT-TT	3,12	3,73			
	CC-GG	6,25	3,73	ρ	+0,321	+0,401
	CC-GT	8,33	6,72	χ ²	9,91**	21,55***
	CC-TT	4,17	2,99			
LTA — TNF: rs909253 — rs1800629	AA-GG	60,42	46,56	A — G	75,52	68,55
	AA-AG	—	3,05	G — G	9,90	21,52
	AA-AA	—	—	A — A	—	2,44
	AG-GG	15,62	30,53	G — A	14,58	7,48
	AG-AG	14,58	11,45	D ± s.e.	+0,110 ± 0,023	+0,046 ± 0,016
	AG-AA	—	0,76			
	GG-GG	—	4,58	ρ	+0,726	+0,339
	GG-AG	4,17	2,29	χ ²	50,57***	15,09***
	GG-AA	5,21	0,76			

Таблица 3 (окончание)

1	2	3	4	5	6	7
ADRB2: rs1042713 — rs1042714	AA-CC	11,46	8,97	A — C	35,42	33,10
	AA-GC	—	—	G — C	26,04	24,83
	AA-GG	—	—	A — G	—	—
	AG-CC	19,79	20,69	G — G	38,54	42,07
	AG-GC	28,12	27,59	D ± s.e.	-0,137 ± 0,017	-0,139 ± 0,014
	AG-GG	—	—			
	GG-CC	7,29	4,83	ρ	-0,586	-0,560
	GG-GC	17,71	19,31	χ ²	33,02***	52,11***
	GG-GG	15,63	18,62			
ACE: rs4291 — rs4343	AA-AA	29,03	25,51	A — A	53,57	47,32
	AA-AG	15,05	16,33	T — A	2,89	1,15
	AA-GG	7,53	2,04	A — G	20,09	14,41
	AT-AA	2,15	—	T — G	23,46	37,12
	AT-AG	33,33	27,55	D ± s.e.	+0,120 ± 0,021	+0,174 ± 0,017
	AT-GG	8,60	8,16			
	TT-AA	1,08	—	ρ	+0,549	+0,716
	TT-AG	—	2,04	χ ²	28,01***	50,28***
	TT-GG	3,23	18,37			
IL4R: rs1801275 — rs2074570	AA-AA	76,04	65,99	A — A	86,46	81,92
	AA-AG	—	0,68	G — A	9,37	12,64
	AA-GG	—	—	A — G	—	0,40
	AG-AA	14,58	21,77	G — G	4,17	5,04
	AG-AG	6,25	9,52	D ± s.e.	+0,036 ± 0,017	+0,041 ± 0,014
	AG-GG	—	—			
	GG-AA	1,05	1,36	ρ	+0,527	+0,472
	GG-AG	2,08	0,68	χ ²	26,66***	32,70***
	GG-GG	—	—			
IL12B: rs3212227 — rs3212220	AA-GG	61,46	60,54	A — G	79,69	79,25
	AA-GT	3,13	3,40	C — G	—	—
	AA-TT	—	—	A — T	1,56	1,70
	AC-GG	—	—	C — T	18,75	19,05
	AC-GT	33,33	34,01	D ± s.e.	+0,149 ± 0,025	+0,151 ± 0,020
	AC-TT	—	—			
	CC-GG	—	—	ρ	+0,952	+0,948
	CC-GT	—	—	χ ²	86,91***	132,12***
	CC-TT	2,08	2,04			
IL12RB1: rs3746190 — rs11575926	CC-GG	33,33	40,97	C — G	58,30	61,32
	CC-AG	8,33	0,69	T — G	23,99	18,89
	CC-AA	—	—	C — A	5,24	0,83
	CT-GG	29,17	19,44	T — A	12,47	18,96
	CT-AG	14,58	20,83	D ± s.e.	+0,060 ± 0,021	+0,115 ± 0,169
	CT-AA	—	0,69			
	TT-GG	4,17	4,86	ρ	+0,327	+0,593
	TT-AG	8,34	8,33	χ ²	10,27**	50,71***
	TT-AA	2,08	4,17			

Примечание. D ± s.e. — величина неравновесия по сцеплению с ошибкой; критерий χ² использован для оценки статистической значимости показателя неравновесия по сцеплению; d.f. (число степеней свободы) = 1; ρ — нормированный показатель неравновесия по сцеплению; звёздочками обозначен достигнутый уровень значимости: *, **, *** для p < 0,05, 0,01 и 0,001 соответственно; **жирным шрифтом** выделены сочетания генотипов по которым различия между выборками статистически значимы

В большинстве случаев при анализе попарных сочетаний полиморфных вариантов были зарегистрированы все 4 возможных для диаллельной системы гаплотипа; по три гаплотипа были установлены: для группы с ИБС — в генах *IL12B* и *ADRB2*, в популяционной выборке — для сочетаний rs61722009-rs1799983 в гене *NOS3*, а также для генов *ADRB2*, *IL4R*, *IL12B* и *TNF-LTA* (табл. 3).

Ассоциации полиморфных вариантов генов с ИБС

При сравнении изученных выборок по частотам аллелей, генотипов, сочетаний генотипов, гаплотипов статистически значимые различия выявлены в трёх случаях по частотам аллелей и генотипов, в четырёх — по сочетаниям генотипов и в одном — по частотам гаплотипов (рисунок; табл. 2, 3). Статистически значимых различий по частотам гаплогрупп мтДНК между исследованными выборками не зарегистрировано.

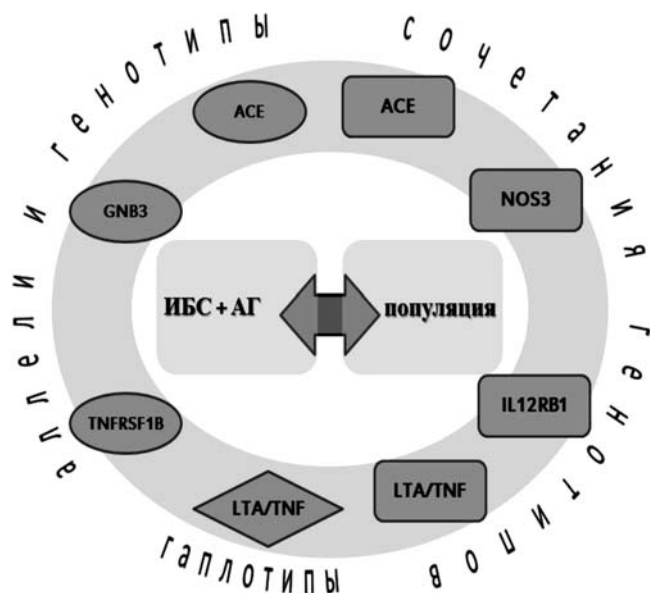
Для гена *ACE* в настоящем исследовании установлены статистически значимые различия между выборкой ИБС и контрольной группой для полиморфного варианта rs4291 по частотам аллелей ($\chi^2 = 6,003$, $p = 0,014$) и генотипов ($\chi^2 = 11,46$, $p = 0,003$), а также по частотам сочетаний генотипов вариантов rs4291 и rs4343 ($\chi^2 = 18,86$, d.f. = 8, $p = 0,016$). Для аллеля Т по rs4291 гена *ACE* установлена ассоциация с ИБС (OR = 1,76) (табл. 4); в группе больных «ИБС+АГ» генотип ТТ встречается в 4,8 раза чаще, чем в контроле (OR = 5,78 (CI: 1,81–15,26), $\chi^2 = 10,02$, $p = 0,002$) (табл. 2). Сочетание генотипов ТТ-GG по двум изученным SNP гена *ACE* также можно рассматривать как predisposing к развитию ИБС (OR = 5,94) (табл. 3, 4).

Зарегистрированные ассоциации изученных полиморфных вариантов гена *ACE* с ИБС, в целом, согласуются с ранее опубликованными данными. Так, известны ассоциации полиморфных вариантов гена *ACE* с инфарктом миокарда, уровнем артериального давления, метаболическим синдромом, с широким спектром метаболических фенотипов [17, 31, 33]. Данные ассоциации объяснимы и с физиологических позиций, поскольку установлено, что замена А-240Т в регионе промотора значимо влияет на концентрацию продукта гена *ACE* — ангиотензин I превращающего фермента (АПФ), который обуславливает конвертацию ангиотензина I в ангиотензин II и играет важную роль в регуляции артериального давления и поддержании минерального баланса [18, 33].

В настоящем исследовании по частотам аллелей и генотипов низкополиморфных SNP генов *LTA* и *TNF* не было выявлено различий между группой больных ИБС и популяционной выборкой (табл. 2). Тем не менее, сравниваемые группы статистически значимо различались по частотам сочетаний генотипов rs909253 (*LTA*) и rs1800629 (*TNF*) ($\chi^2 = 20,37$, d.f. = 7, $p = 0,005$) и соответствующих гаплотипов ($\chi^2 = 9,01$, d.f. = 3, $p = 0,029$): «рисковыми» для развития сердечно-сосудистой патологии являются сочетание генотипов AG-GG (OR = 2,37) и

гаплотип G-G (OR = 2,34) (табл. 4). Кроме того, статистически значимые различия между контрольной группой и выборкой больных с ИБС наблюдаются по частотам и аллелей ($\chi^2 = 10,77$, $p = 0,005$), и генотипов ($\chi^2 = 7,24$, $p = 0,007$) rs1061622 гена *TNFRSF1B*; при этом predisposing к патологии эффект редкого аллеля G (OR = 1,83) реализуется только через гомозиготный генотип (OR = 6,63) (табл. 4); у больных аллель G регистрировался в 1,6 раза чаще, а генотип GG — в 7 раз чаще, чем в популяционной выборке (табл. 2).

Необходимо отметить, что гены *TNF* и *LTA*, образующие кластер в регионе бр21.3, кодируют белки суперсемейства TNF: фактор некроза опухоли α (TNF α , ФНО α , продукт гена *TNF*) и лимфотоксин α (TNFB, продукт гена *LTA*). Большая часть метаболических эффектов ФНО α и часть эффектов лимфотоксина α осуществляется через рецептор TNFRSF1B (кодируемый геном *TNFRSF1B*). Гены факторов некроза опухоли и их рецепторов, строго говоря, относятся к генам регуляции иммунного ответа. Однако, учитывая широкий спектр биологических процессов, в регуляцию которых вовлечены продукты этих генов, установление ассоциаций их полиморфных вариантов с формированием predisposition к заболеваниям сердечно-сосудистой системы не вызывает удивления. Вместе с тем, если гены *TNF* и *LTA* часто привлекаются к ассоциативному анализу при изучении сердечно-сосудистой патологии, то для гена *TNFRSF1B* такие исследования редки. Тем не менее, для всех трёх генов описаны ассоциации с заболеваниями сердечно-сосудистой системы [15, 34].



Схематическое изображение выявленных различий между популяционной выборкой и группой больных ИБС на уровне аллелей и генотипов (гены указаны в овалах), сочетаний генотипов (гены указаны в прямоугольниках), гаплотипов (гены указаны в ромбе).

Статистически значимые различия между выборкой больных с ИБС и контрольной группой зарегистрированы также по частотам аллелей ($\chi^2 = 6,73$, $p = 0,035$) и генотипов ($\chi^2 = 6,29$, $p = 0,012$) rs5443 гена *GNB3* (табл. 2). Предрасполагающим к развитию сердечно-сосудистой патологии является редкий аллель Т (OR = 1,73) (табл. 4). При этом, у больных ИБС генотип СТ встречается в 1,18 раза, а генотип ТТ — в 2,54 раза чаще, чем в популяционной выборке; для совокупности генотипов СТ и ТТ значение отношения шансов (OR = 1,80) также достигало уровня статистической значимости (соответственно, для генотипа СС характерен протективный эффект — OR = 0,55) (табл. 4).

Анализируемая замена С825Т в гене *GNB3* функционально значима: при наличии аллеля 825Т синтезируется укороченный вариант белка, что приводит к усилению передачи сигнала связываемым им G-белком γ -3 [27]. Данные литературы, касающиеся вовлечённости изученного SNP гена *GNB3* в формирование патологических состояний, противоречивы. В одних исследованиях ассоциации с заболеваниями установлены для аллеля 825С или генотипа С825С (с эссенциальной гипертонией, повышенным артериальным давлением, маркерами ремоделирования сосудов, с массой тела и индексом массы тела, агрегацией тромбоцитов), в других — для альтернативного аллеля (с гипертонией, ожирением и диабетической нефропатией, с ожирением у лиц с повышенным артериальным давлением, с цереброваскулярными нарушениями [20, 28 и др.]). Возможно, что эффекты данного полиморфного варианта модифицируются сопутствующими заболеваниями и/или средовыми факторами.

По частотам генотипических комбинаций двух полиморфных вариантов гена *NOS3* (rs2070744-rs61722009) зарегистрированы статистически значимые различия между исследованными выборками: выявлено протективное по отношению к развитию ИБС сочетание генотипов — СС-АВ (OR = 0,34) (табл. 4). Кодированная геном *NOS3* эндотелиальная синтаза оксида азота оказывает прямое отрицательное инотропное действие на сократимость миокарда, регулирует реакции кардиомиоцитов на адренергические и холинергические стимулы. Полиморфные варианты гена *NOS3*, для которых установлена ассоциация с ИБС в настоящем исследовании, являются функционально значимыми: VNTR может действовать как энхансер/репрессор экспрессии *NOS3* [30]; промоторная замена Т-786С (rs2070744) вовлечена в регуляцию активности продукта гена [24]. Поэтому неудивительно, что данные варианты активно привлекались для изучения генетической основы различных сердечно-сосудистых заболеваний [15; 32; и др.], но выводы разных исследовательских групп зачастую неоднозначны. Противоречивость полученных результатов наблюдается в отношении как наличия/отсутствия ассоциаций с одной и той же патологией, так и отнесения к категории неблагоприятных тех или иных аллелей и генотипов. В связи с этим, также нельзя исключить модифицирующий эффект сопутствующих патологий или средовых факторов, что подтверждается данными о разнонаправленных эффектах аллелей на уровень экспрессии при разных функциональных состояниях организма [24].

В настоящем исследовании анализировались два SNP, локализованных в гене *IL12RB1*, для каждого из которых в отдельности статистически значимых разли-

Таблица 4

Ассоциированные с ИБС генетические варианты

Ген (полиморфные варианты)	Ассоциированные варианты*	OR	95% CI	χ^2 (p)
Ассоциированные генотипы и аллельные варианты				
ACE (rs4291)	Т	1,76	1,11–2,79	6,00 (0,014)
	ТТ	5,78	1,81–15,26	10,02 (0,002)
GNB3 (rs5443)	Т	1,73	1,12–2,68	6,29 (0,012)
	СТ и ТТ	1,80	1,03–3,17	4,26 (0,039)
	СС	0,55	0,32–0,97	4,26 (0,039)
TNFRSF1B (rs1061622)	G	1,83	1,17–2,87	7,24 (0,007)
	GG	6,63	1,74–25,26	9,09 (0,003)
Ассоциированные сочетания генотипов и гаплотипы				
ACE (rs4291-rs4343)	ТТ-GG	5,94	1,82–19,36	9,69 (0,002)
NOS3 (rs2070744-rs61722009)	СС-АВ	0,34	0,13–0,89	4,23 (0,04)
LTA-TNF (rs909253-rs1800629)	AG-GG	2,37	1,17–4,88	5,92 (0,015)
	G-G	2,34	1,02–5,48	4,02 (0,045)
IL12RB1 (rs3746190-rs11575926)	СС-AG	0,11	0,02–0,63	7,32 (0,007 (p ^f = 0,003))
Примечание. * — аллели, генотипы, сочетания генотипов и гаплотипы; OR — отношение шансов; 95% CI — границы 95%-ного доверительного интервала; χ^2 (p) — критерий χ^2 и его уровень значимости (рассчитано по [25]); p ^f — уровень значимости для двустороннего точного критерия Фишера				

чий между обследованными группами по частотам аллелей и генотипов выявлено не было. В то же время, различия регистрировались при анализе сочетаний генотипов по этим полиморфным вариантам ($\chi^2 = 14,89$, d.f. = 7, $p = 0,038$): протективным ($OR = 0,11$) по отношению к развитию ИБС является сочетание генотипов CC-AG (rs3746190-rs11575926) (табл. 3, 4). Ген *IL12RB1* кодирует b1-субъединицу рецептора к интерлейкину-12 [26]. Данных, касающихся вовлечённости полиморфизма гена *IL12RB1* в формирование предрасположенности к заболеваниям сердечно-сосудистой системы, в доступной литературе обнаружено не было. Тем не менее, ассоциация полиморфизма данного гена с ИБС не является неожиданной, поскольку иммуно-воспалительным реакциям, и, соответственно, провоспалительным цитокинам отводится существенная роль как в развитии атеросклероза [6], так и в развитии ИБС в отсутствие коронарной болезни сердца [23].

Заключение

Таким образом, в настоящем исследовании выявлены ассоциации семи изученных генов с ИБС в сочетании с АГ, из них три (*GNB3*, *ACE*, *NOS3*) относятся к генам предрасположенности к заболеваниям сердечно-сосудистой системы и четыре (*TNF*, *LTA*, *TNFRSF1B* и *IL12RB1*) — к генам регуляции иммунного ответа. Отметим, что ассоциации с ИБС в ряде случаев установлены только при анализе внутригенных сочетаний генотипов (*NOS3*, *IL12RB1* и *TNF/LTA*). Тот факт, что не для всех из ассоциированных с ИБС в настоящем исследовании генов ранее были показаны ассоциации с сердечно-сосудистой патологией, ещё раз свидетельствует о наличии более сложных корреляций генотипа с фенотипом сочетанных патологий по сравнению с изолированными состояниями. В последнее время появились полногеномные исследования именно коморбидных состояний, показывающие, что даже при сочетании двух патологий есть три категории генов (гены, связанные с заболеванием «1», но не связанные с заболеванием «2»; гены, связанные с заболеванием «2», но не связанные с заболеванием «1»; гены, связанные с заболеванием «1» и заболеванием «2») [21]. В настоящем исследовании были выявлены гены, имеющие отношение к развитию именно синтропного состояния ИБС в сочетании с АГ, что может объяснять также отсутствие некоторых «ожидаемых» ассоциаций (с отдельными SNP генов подверженности сердечно-сосудистым заболеваниям). Кроме того, полученные на примере сочетания ИБС с АГ результаты подтверждают существенную роль воспаления в развитии сердечно-сосудистой патологии. Поскольку генетическая компонента играет немаловажную роль как в детерминации патологии в целом, так и в формировании отдельных патогенетически значимых признаков заболевания, большой интерес представляет проведение ассоциативных исследований и на уровне эндофенотипов. Результаты такого анализа будут представлены в следующем сообщении.

Список литературы

1. Гераскина Л.А., Машин В.В., Фоянник А.В. Гипертоническая энцефалопатия, ремоделирование сердца и хроническая сердечная недостаточность // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2006. — №5(3). — С. 22–27.
2. Гончарова И.А., Х. Гамаль Абд Эль-Азиз Наср, Белобородова Е.В. и др. Полиморфизм генов-модификаторов иммунного ответа при заболеваниях печени различной этиологии // Медицинская генетика. — 2010. — №12. — С. 20–24.
3. Деренко М.В. Молекулярная филогеография коренного населения Северной Азии по данным об изменчивости митохондриальной ДНК: Дисс. на соискание учёной степени д.б.н. — Магадан, 2009. — 372 с.
4. Елисеева А.Ф., Шторина Г.Б., Цинзерлинг В.А. Картина морфологических изменений пародонта на фоне ишемической болезни сердца и без нее // Астраханский медицинский журнал. — 2012. — Т. 7, №4. — С. 107–110.
5. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. — М.: Наука, 1991. — 271 с.
6. Закирова А.Н., Закирова Н.Э., Николаева И.Е. и др. Иммуновоспалительные реакции при стабильном течении ишемической болезни сердца // Медицинский вестник Башкортостана. 2012. — Т. 7, №4. — С. 26–28.
7. Иванова О.Г., Макеева О.А., Лежнев А.А. и др. Связь полиморфизма гена транскрипционного фактора *GATA4* с эхокардиографическими параметрами в популяции и у больных с ишемической болезнью сердца // Якутский медицинский журнал. — 2009. — №2. — С. 102–104.
8. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Брагина Е.Ю. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов интерлейкинов и их рецепторов у представителей четырех этнических групп сибирского региона // Медицинская генетика. — 2009. — Т. 10. — С. 43–52.
9. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Маркова В.В. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов-кандидатов заболеваний сердечно-сосудистой системы у представителей четырех этнических групп сибирского региона // Медицинская генетика. — 2010. — №5. — С. 24–34.
10. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Тарасенко Н.В. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов факторов некроза опухоли и их рецепторов у представителей четырех этнических групп сибирского региона // Медицинская генетика. — 2010. — №6. — С. 16–23.
11. Лазан С.С., Берштейн Л.Л., Гришкин Ю.Н. Значение оценки факторов сердечно-сосудистого риска в прогнозировании ишемической болезни сердца // Вестник российской военно-медицинской академии. — 2011. — №4 (36). — С. 185–194.
12. Морозова И.Ю., Наумова О.Ю., Рычков С.Ю., Жукова О.В. Полиморфизм митохондриальной ДНК в русском населении пяти областей европейской части России // Генетика. — 2005. — Т. 41, №9. — С. 1265–1271.
13. Подольская А.А., Галявич А.С., Майкова Е.В. и др. Роль генов антиоксидантной системы в формировании клинических фенотипов ишемической болезни сердца // Казанский медицинский журнал. — 2013. — Т. 94, №2. — С. 228–234.
14. Пузырев В.П., Макеева О.А., Голубенко М.В. Гены синтропий и сердечно-сосудистый континуум // Вестник ВОГиС. — 2006. — Т. 10, №3. — С. 479–491.
15. Пузырев В.П., Фрейдин М.Б., Кучер А.Н. Генетическое разнообразие народонаселения и болезни человека. — Томск: Печатная мануфактура, 2007. — 320 с.
16. Шальнова С.А., Деев А.Д., Оганов Р.Г. Факторы, влияющие на смертность от сердечно-сосудистых заболеваний

в российской популяции // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2005. — №4(1). — С. 4—9.

17. Cambien F., Poirier O., Lecerf L. et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction // *Nature*. — 1992. — Vol. 359, №6396. — P. 641—644.

18. Chung C.M., Wang R.Y., Chen J.W. et al. A genome-wide association study identifies new loci for ACE activity: potential implications for response to ACE inhibitor // *Pharmacogenomics J.* — 2010. — Vol. 10, №6. — P. 537—544.

19. Dzau V., Braunwald E. Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: a workshop consensus statement // *Am. Heart. J.* — 1991. — Vol. 121. — P. 1244—1263.

20. Dusse F., Frey U.H., Bilalic A. The *GNB3* C825T polymorphism influences platelet aggregation in human whole blood // *Pharmacogenet. Genomics*. — 2012. — Vol. 22, №1. — P. 43—49.

21. Edwards A.C., Aliev F., Bierut L.J. et al. Genome-wide association study of comorbid depressive syndrome and alcohol dependence // *Psychiatr. Genet.* — 2012. — Vol. 22. — P. 31—41.

22. Hill W.G. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations // *Heredity*. — 1974. — Vol. 33, №2. — P. 229—239.

23. Marzilli M., Merz C.N.B., Boden W.E. et al. Обструктивный коронарный атеросклероз и ишемическая болезнь сердца: неуловимая связь! // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. — 2012. — Т. 8, №5. — С. 721—726. (оригинал статьи Marzilli M., Merz C.N.B., Boden W.E. et al. Obstructive Coronary Atherosclerosis and Ischemic Heart Disease: An Elusive Link! // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2012. — Vol. 60 (11). — P. 951—956.

24. Miyamoto Y., Saito Y., Nakayama M. et al. Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a -786T→C mutation associated with coronary

spastic angina // *Hum. Mol. Genet.* — 2000. — Vol. 9. — P. 2629—2637.

25. Morris J.A., Gardner M.J. Calculating confidence intervals for relative risk (odds ratios) and standardized ratios and rates // *British Medical Journal*. — 1988. — Vol. 296. — P. 1313—1316.

26. Presky D.H., Yang H., Minetti L.J. et al. A functional IL-12 receptor complex is composed of two beta-type cytokine receptor subunits // *PNAS USA*. — 1996. — Vol. 93. — P. 14002—14007.

27. Roskopf D., Busch S., Manthey I. et al. G protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms // *Hypertension*. — 2000. — Vol. 36. — P. 33—41.

28. Siffert W., Roskopf D., Siffert G. et al. Association of a human G-protein beta-3 subunit variant with hypertension // *Nature Genet.* — 1998. — Vol. 18. — P. 45—48.

29. Torroni A., Huoponen K., Francalacci P. et al. Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations // *Genetics*. — 1996. — Vol. 144. — P. 1835—1850.

30. Wang J., Dudley D., Wang X.L. Haplotype-specific effects on endothelial NO synthase promoter efficiency modifiable by cigarette smoking // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2002. — Vol. 22. — P. 1—4.

31. Xi B., Ruiter R., Chen J. et al. The *ACE* insertion/deletion polymorphism and its association with metabolic syndrome // *Metabolism*. — 2012. — Vol. 61, №6. — P. 891—897.

32. Zhang X., Lynch A.I., Davis B.R. et al. Pharmacogenetic association of *NOS3* variants with cardiovascular disease in patients with hypertension: the GenHAT study // *PLoS One*. — 2012. — Vol. 7, №3. — P. e34217.

33. Zhu X., Bouzekry N., Southam L. et al. Linkage and association analysis of angiotensin I-converting enzyme (*ACE*)-gene polymorphisms with ACE concentration and blood pressure // *Am. J. Hum. Genet.* — 2001. — Vol. 68. — P. 1139—1148.

34. <http://geneticassociationdb.nih.gov/cgi-bin/index.cgi>

35. <http://www.hugenavigator.net/>

Association of polymorphic variants of nuclear and mitochondrial genes with ischemic heart disease

Babushkina N.P.¹, Kucher A.N.¹, Buikin S.V.¹, Golubenko M.V.¹, Makeeva O.A.¹, Bragina E.Yu.¹, Goncharova I.A.¹, Tarasenko N.V.¹, Puzyrev K.V.¹, Shipulin V.M.², Puzyrev V.P.¹

¹ — Institute of Medical Genetics SB RAMS,

Ushaika Embankment, 10, Tomsk, 634050, Russia, fax: (3822)513744, e-mail: valery.puzyrev@medgenetics.ru

² — Institute of Cardiology SB RAMS,

634012, Tomsk, Kievskaya, 111a, fax: 8 (3822) 565830, sv@cardio-tomsk.ru

In a sample of patients with ischemic heart disease, polymorphism in nuclear genes (cardiovascular disease susceptibility genes — *ADRB2*, *NOS3*, *ACE*, *AGTR1*, *GNB3*, *PPP3R1*, *GATA4*; genes for the regulation of immune response — *LTA*, *TNF*, *TNFRSF1V*, *IL4*, *IL4R*, *IL12A*, *IL12B*, *IL12RB1*, *IFNG*, *IFNGR2*) was analyzed, as well as mitochondrial DNA (mtDNA) polymorphism. When comparing frequencies of alleles, genotypes, haplotypes and genotype combinations in the sample of patients with the population-wide control group, seven studied genes showed association with ischemic heart disease. They are both genes predisposing to cardiovascular diseases (*GNB3*, *ACE*, *NOS3*) and genes for the regulation of immune response (*TNF*, *LTA*, *TNFRSF1B* and *IL12RB1*). Statistically significant differences between the compared groups were elicited for the allele and genotype frequencies of rs4291 (*ACE*), rs1061622 (*TNFRSF1B*), rs5443 (*GNB3*), for genotype combinations of *ACE*, *NOS3*, *TNF/LTA*, *IL12RB1*, and for haplotype frequencies of *TNF/LTA* region.

Key words: genetic polymorphism, ischemic heart disease, cardiovascular disease

Правила оформления статей в журнале «Медицинская генетика»

Настоящие правила являются приложением к договору публичной оферты, размещённому на сайте www.med-gen.ru, в разделе «Журнал «Медицинская генетика».

«Медицинская генетика» — ежемесячный рецензируемый научно-практический журнал, публикующий результаты исследований отечественных и зарубежных учёных по современным проблемам генетики человека и медицинской генетики. К публикации принимаются ранее не опубликованные работы по профилю журнала: теоретические и обзорные статьи, результаты завершённых оригинальных исследований, краткие сообщения, описания клинических случаев, рецензии на книги, комментарии читателей к ранее опубликованным статьям и письма к редактору, информация о научных мероприятиях. Не принимаются к печати статьи, представляющие собой отдельные этапы незавершённых исследований, а также статьи, посвящённые исследованиям, выполненным с нарушением этических норм и правил и норм гуманного обращения с биообъектами. Решение о публикации принимается редколлегией журнала после рецензирования рукописи с учётом научной значимости и актуальности представленных материалов. При рассмотрении полученных авторских материалов редакционная коллегия руководствуется «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» (www.ICMJE.org). Статьи, отклонённые редакционной коллегией, повторно не принимаются и не рассматриваются.

Статья должна быть написана на русском языке, представлена в одном печатном экземпляре в формате любой версии текстового редактора Microsoft Word for Windows и прислана в электронном виде на e-mail редакции. Статья должна сопровождаться направлением (сопроводительным письмом) от учреждения, где была выполнена научная работа, в котором должны быть отражены:

- информация о предшествовавших или повторных публикациях или о представлении в другой журнал любой части этой работы;
- заявление о финансовых или других взаимоотношениях, которые могут привести к «конфликту интересов»;
- заявление о том, что статья прочитана и одобрена всеми авторами, все требования к авторству соблюдены и все авторы уверены, что рукопись отражает действительно проделанную работу;
- заявление, что рукопись не содержит сведений, не подлежащих к опубликованию в открытой печати;
- указание на наличие письменных информированных согласий от пациентов на участие в исследовании и/или на публикацию информации о них, включая фотографии;

- указание на одобрение исследования локальным или центральным этическим комитетом.

В конце статьи должны быть подписи всех авторов и полностью указаны фамилия, имя, отчество, полный почтовый адрес, номер телефона, адрес электронной почты автора, осуществляющего связь с редакцией. Материалы, не отвечающие этим требованиям, не принимаются.

Печатать следует на одной стороне листа формата А4 через 2 интервала, шрифтом Times Roman, 12 пунктов без переносов и выравнивания по правому краю. Все поля страницы должны быть не менее 25 мм. Нумерация страниц, включая первую, приводится внизу по центру. Общий объём рукописи, включая аннотации на русском и английском языках, список литературы, таблицы, рисунки и подписи под рисунками, не должен превышать для оригинальных статей 16 страниц, для обзорных и теоретических — 32 страницы, для кратких сообщений — 8 страниц. Число таблиц и число рисунков не должно быть более пяти, за исключением особых случаев, одобренных редколлегией журнала. Размеры рисунков и таблиц не должны превышать одной страницы формата А4. Статьи большего объёма могут быть опубликованы в исключительных случаях по решению редакционной коллегии.

Структура статьи:

1. Название статьи, напечатанное строчными буквами без разрядки и выделения;
2. Фамилия(и) и инициалы автора(ов);
3. Место работы автора(ов): полное название учреждения (аббревиатуры недопустимы), город, почтовый адрес с индексом, адрес электронной почты (отметить арабскими цифрами соответствие авторов учреждениям, в которых они работают);
4. Аннотация (объёмом не более 0,5 стр.);
5. Ключевые слова (не более 5);
6. Экспериментальные оригинальные статьи должны иметь разделы: введение, материалы и методы, результаты, обсуждение. Два последних раздела могут быть объединены;
7. Теоретические и обзорные статьи могут иметь иные подразделы.
8. Краткие сообщения печатаются без подразделения на части.
9. В завершении рукописи в обязательном порядке должны быть упомянуты все лица и организации, оказавшие финансовую поддержку исследованию (в виде

грантов, дарения или предоставления оборудования, реактивов, расходных материалов, лекарств или всего этого вместе), а также принявшие другое финансовое или личное участие, которое может привести к конфликту интересов, или декларировано отсутствие у авторов конфликта интересов.

10. В конце текста статьи могут быть выражены признательность отдельным лицам и (или) научным или иным фондам и организациям, оказавшим помощь в выполнении работы;

11. После текста статьи приводится список литературы;

12. Каждая таблица печатается на отдельной странице;

13. На отдельной странице приводятся подписи к рисункам, с указанием названия статьи и авторов;

14. По-английски на отдельной странице печатаются название статьи, фамилия (фамилии) и инициалы автора (авторов), название учреждения, его адрес, включая адрес электронной почты, перевод аннотации статьи (не более 0,5 стр.), ключевые слова (не более 5).

Названия разделов печатаются заглавными буквами на отдельной строке. Подзаголовки внутри разделов также печатаются на отдельной строке. На левом поле по тексту статьи указываются места расположения рисунков и таблиц. Сложные математические формулы печатаются на отдельной строке (следует использовать редактор формул, встроенный в текстовый редактор Word). Формулы нумеруются справа в круглых скобках в случае ссылок на них по ходу текста статьи

Данные рисунков не должны повторять материалы таблиц. Рисунки должны быть чёткими с минимальным количеством обозначений. Детали на рисунках обозначаются арабскими цифрами, либо русскими буквами, которые расшифровываются в подрисовочных подписях. В подписях к микрофотографиям необходимо указать метод окраски, если препарат окрашен, и увеличение.

Электронная версия рисунков, схем, фотографий должна быть представлена в точечных форматах tiff, jpeg или gif (300–600 dpi) или в векторных форматах Adobe Illustrator (ai, eps), Corel Draw (cdr). Файлы с иллюстрациями должны быть названы таким образом, чтобы было понятно, к какой статье они принадлежат, и каким по порядку является рисунок.

Цитируемая литература (не более 25 для оригинальных работ и не более 50 для обзорных статей) приводится в алфавитном порядке (вначале на русском языке). **Не допускаются ссылки на неопубликованные работы, материалы конференций, диссертации (можно указывать в качестве источника автореферат диссертации).** В тексте номер ссылки заключён в квадратные скобки и соответствует нумерации в списке литературы.

Ссылка на публикацию в периодическом издании должна содержать фамилии и инициалы авторов, название статьи, название журнала, год, том, номер журнала и номера страниц.

Примеры оформления ссылок:

Сурин В.Л. Лабораторная диагностика острой перемежающейся порфирии // *Генетика*. — 2001. — Т. 2, №5. — С. 690—697.

Gu X.K. The porphyrias: recent advances // *Clin. Chem.* — 1986. — Vol. 32, №3. — P. 1255—1265.

В случае цитирования книг, монографий ссылка содержит фамилию и инициалы автора, название, место издания, название издательства, год издания, число страниц. Пример оформления ссылки:

Кадурина Т.И. *Наследственные коллагенопатии (клиника, диагностика, лечение и диспансеризация)*. — СПб.: Невский Диалект, 2000. — 271 с.

Ссылка на материалы авторефератов диссертаций:

Котлукова Н.П. *Кардиоваскулярная патология у новорожденных и детей раннего возраста: Автореф. дисс. на соискание учёной степени д.м.н.* — М., 2001. — 57 с.

Рецензирование статьи осуществляется в соответствии с утверждёнными правилами, с которыми можно ознакомиться на сайте www.med-gen.ru.

Редакция оставляет за собой право редактировать текст при обнаружении технических или смысловых дефектов, либо возвращать статью автору для исправления.

Датой поступления статьи считается день получения редакцией окончательного текста.

Отклонённые статьи не возвращаются.

Авторский гонорар не выплачивается.

Все статьи, в том числе статьи аспирантов и докторантов, публикуются бесплатно.

В случае обнаружения ошибок или описок в ранее опубликованных статьях журнал публикует в одном из последующих номеров на отдельной странице перечень ошибок и описок с цитированием оригинального текста статьи и со ссылкой на статью. При этом в оглавление номера включается раздел «Исправления». В случае выявления недостоверных данных в уже опубликованной статье редакция журнала публикует опровержение. Опровержение (как и редакторское мнение) помещается в журнале на отдельной странице и включается в оглавление. В тексте опровержения редактор приводит доказательства недостоверности данных, опубликованных в статье, и приводит все необходимые цитаты.

Статьи следует направлять по адресу:

115478, Москва, ул.Москворечье, 1,
Медико-генетический научный центр РАМН,
редакция журнала «Медицинская генетика».

Электронный вариант статьи следует направлять на электронный адрес редакции L_Tarlycheva@med-gen.ru.