

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 молекулярной 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

ХУСНУТДИНОВА Э.К.
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 редакцией журнала «Медицинская генетика» обязательно. За содержание рекламных публикаций ответственность 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

2015 г. Том 14. №5 (155)

СОДЕРЖАНИЕ

НАУЧНЫЕ ОБЗОРЫ

- Баранова Е.Е., Иванова Л.Ю., Журавлева И.В., Ижевская В.Л., Гинтер Е.К.*
Возможность оценки эффективности медико-генетического консультирования.
Обзор литературы 3
- Кучер А.Н.*
Роль генетических маркёров и нутриентов в развитии многофакторных заболеваний 8

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Каретникова Н.А., Екимов А.Н., Баранова Е.Е., Бахарев В.А., Трофимов Д.Ю., Гус А.И.*
Применение метода микроматричной сравнительной геномной гибридизации в пренатальной диагностике 18
- Спицын В.А., Кузьмина Л.П., Макаров С.В., Карапетян М.К., Попова М.В., Бычковская Л.С., Самохин А.С., Спицына Н.Х.*
Особенности распределения полиморфизма генов *ACE*, *CHIT1*, *PON1*, *SIRT1* и *NOS3* у больных вибрационной болезнью 23
- Бабушкина Н.П., Брагина Е.Ю., Буйкин С.В., Салтыкова И.В., Назаренко М.С., Тарасенко Н.В., Кулиш Е.В., Маркова В.В., Половкова О.Г., Кучер А.Н.*
Ассоциации полиморфных вариантов генов подверженности бронхиальной астме 28
- Любчик Н.И., Бобоев К.Т.*
Изучение роли полиморфизма генов свёртывающей системы в возникновении преждевременных родов у женщин узбекской популяции 37

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- Белова Н.А., Бучинская Н.В., Захарова Е.Ю., Калиниченко Н.Ю., Кенис В.М., Куцев С.И., Мельченко Е.В., Михайлова Л.К., Новиков П.В., Тюльпаков А.Н., Рябых С.О.*
Клинические рекомендации по диагностике и лечению гипопосфатазии 42

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.
KHUSNUTDINOVA E.K.
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

2015. Volume 14. №5 (155)

Content

REVIEWS

**Baranova E.E., Ivanova L.Yu., Zhuravleva I.V.,
Izhevskaya V.L., Ginter E.K.**
Possibility of the estimation
of the genetic counseling efficiency: review3

Kucher A.N.
The role of genetic markers and nutrients
in the development of common diseases8

ARTICLES

**Karetnikova N.A., Ekimov A.N., Baranova E.E.,
Bakharev V.A., Trofimov D.Ju., Gus A.I.**
The application of array comparative
genomic hybridization (aCGH)
technology for prenatal diagnosis18

**Spitsyn V.A., Kuzmina L.P., Makarov S.V., Karapetian M.K.,
Popova M.V., Bichkovskaya L.S., Samokhin A.S., Spitsyna N.Kh.**
Pattern of the *ACE*, *CHIT1*, *PON1*, *SIRT1*
and *NOS3* gene polymorphism distributions
in vibration syndrome patients23

**Babushkina N.P., Bragina E.Y., Buikin S.V.,
Saltykova I.V., Nazarenko M.S., Tarasenko N.V.,
Kulish E.V., Markova V.V., Polovkova O.G., Kucher A.N.**
Association of polymorphic variants of susceptibility genes
common diseases with bronchial asthma28

Lubchich N.I., Boboev K.T.
Study of the role of polymorphism
of gene of haemostasis system in occurrence of preterm birth
among women of Uzbek population37

CLINICAL RECOMENDATION

**Belova N.A., Buchinskaya N.V., Zakharova E.Ju.,
Kalinichenko N.Ju., Kenis V.M., Kutsev S.I., Melchenko E.V.,
Mikhailova L.K., Tiulpakov A.N., Riabykh S.O.**
Clinical guidelines for the diagnosis and treatment
of hypophosphatasia42

Возможность оценки эффективности медико-генетического консультирования. Обзор литературы

Баранова Е.Е.¹, Иванова Л.Ю.³, Журавлева И.В.³, Ижевская В.Л.², Гинтер Е.К.^{1,2}

¹ — ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, Москва, e-mail: baranova.gen@gmail.com

² — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, 1

³ — ФГБУН «Институт социологии» РАН, Москва

Приведены определение медико-генетического консультирования (МГК), историческая справка и современное представление о допустимых стилях МГК и способах оценки его эффективности. Подчёркнута роль психолого-педагогических навыков врача-генетика для осуществления им эффективного МГК, отмечена необходимость внедрения в образовательный процесс по специальности «Генетика» соответствующих модулей и привлечения специалистов-психологов.

Ключевые слова: медико-генетическое консультирование, психологический подход, оценка эффективности

В последние годы достигнуты определённые успехи в области профилактики наследственной и врождённой патологии, что связано с широким внедрением в практику здравоохранения таких видов медицинской помощи, как МГК и пренатальная диагностика. По современному определению МГК, принятому в 2006 г. Национальным обществом генетиков-консультантов США: «Генетическое консультирование — это процесс помощи людям в понимании и адаптации к медицинским, психологическим и семейным особенностям болезни, обусловленной в большей или меньшей степени наследственными факторами». Завершение международной программы «Геном человека», развитие клинической и молекулярной генетики, обнаружение генетических причин многих сотен наследственных заболеваний значительно повышают его востребованность. В нашей стране МГК осуществляет врач-генетик, в задачи которого входят: установление точного диагноза наследственного заболевания, составление медико-генетического прогноза, помощь семье в принятии решения относительно дальнейшего поведения, в том числе репродуктивного. Кроме этого, врачу-генетику приходится решать задачи, связанные с консультированием пациентов по результатам различных генетических исследований.

Одной из основных проблем МГК является оценка его эффективности. На сегодняшний день не разработано единой методологии оценки эффективности МГК, по-разному понимается и сам термин *эффективность*. Например, под понятием *эффективность* часто подразумевают экономические критерии, что, в целом, является обоснованным. Однако в медицине не всегда возможно свести оценку эффективности какого-либо действия врача только к экономическим показателям, в связи с этим постоянно происходит поиск новых критериев.

Исходя из определения МГК, этот процесс заключается в попытке одного или нескольких подготовленных

в области медицинской генетики лиц провести для индивидуума или семьи:

- интерпретацию семейной и медицинской историй для оценки риска возникновения или повторения заболевания;
- обучение некоторым генетическим закономерностям, представлениям о наследственных болезнях, разъяснение смысла генетического тестирования, возможности помощи, профилактики, ресурсов и исследований;
- оказание помощи консультирующимся в принятии решения относительно репродуктивного поведения, генетического тестирования и в адаптации к наличию в семье больного или риску его появления [1, 36].

Таким образом, основой МГК является диалог между консультантом и консультирующимся. В процессе МГК, консультирующемуся предоставляется информация о диагнозе, прогнозе и способе борьбы с заболеванием. На современном этапе усилена роль информационной составляющей МГК путём включения информации о генетическом тестировании и социальной поддержке, которую могут оказать семье разнообразные общественные и медицинские организации.

До недавнего времени основной целью МГК считалось предотвращение новых случаев наследственных болезней. Эффективность МГК при этом обычно оценивали по соответствию репродуктивного поведения семьи совету генетика [5]. Такой критерий оценки наиболее очевиден при директивном подходе к консультированию [13]. Предполагалось, что достаточно информированная семья, послушавшись совета врача-генетика, примет решение отказаться от деторождения при высоком повторном риске наследственного заболевания. Использование в практической медицине пренатальной диагностики наследственных болезней лишь усилило это направление в МГК, поскольку дало возможность

прервать беременность плодом с наследственной патологией [31].

В ряде случаев, с одной стороны, директивный подход могут предпочитать сами врачи, с другой стороны, многие консультирующиеся часто ждут от врача-генетика именно совета [40]. Однако большая часть исследователей указывает на необходимость недирективного консультирования [28, 44]. Так, например, в 2011 г. М. Ренпасchini с соавторами опубликовали результаты многолетнего исследования, в котором показано, что, в целом, наиболее продуктивные долгосрочные результаты достигаются не при попытках «убедить пациента» (директивный подход), а при отношении к пациенту как к партнёру, т.е. при желании помочь пациенту принять решение, правильное именно для него (недирективный подход) [35].

Цель врача-консультанта при недирективном подходе — дать возможность людям принять осознанные решения, без психологического давления и стресса [41]. Между тем, директивный подход к МГК может применяться, например, в случае, когда требуется донести до родителей необходимость диетотерапии при некоторых наследственных заболеваниях обмена веществ [4, 45].

Адекватность применения различных стилей МГК генетиком-консультантом будет зависеть от его умения использовать психологические приёмы, а сам стиль консультирования на современном этапе может существенно различаться от ситуации к ситуации, предполагая индивидуальный подход [15, 44].

Учитывая современное определение МГК и его цели, можно говорить о трех основных направлениях возможной оценки эффективности МГК: оценка информационного и психологического компонентов и удовлетворённости консультирующихся, — что позволяет разрабатывать новую стратегию оценки МГК на основе этих направлений. По результатам обширной работы, проведённой С.И. Козловой, высказано предположение, что при недирективном подходе к МГК адекватным критерием его эффективности может служить изменение информированности пациентов, например улучшение знаний пациентов о причинах наследственных болезней [5]. Важный компонент МГК — объяснение пациентам величины и степени генетического риска для их семей (первичного или повторного) [18]. Запоминание пациентами значений генетического риска, а также правильная его интерпретация предлагаются рядом авторов в качестве критерия эффективности МГК [16, 30].

Особенностью МГК является то обстоятельство, что «истинно консультирующимся» часто является вся семья [20]. В таком случае генетику-консультанту приходится учитывать семейные представления о заболевании и ожидания членов семьи, несмотря на то, что их представления могут быть далеки от реальности и различаться у разных членов семьи. Для того, чтобы вникать в существующие при этом проблемы, врачу-генетику необ-

ходимо владеть достаточным спектром психотерапевтических приёмов. Между тем, как раз психологическому аспекту МГК длительное время не уделялось достаточного внимания, хотя некоторые авторы постулировали внедрение психологических аспектов в МГК ещё в 60-е годы прошлого века [27]. Основные преимущества психологического подхода к МГК: способствование пониманию медико-генетической информации, облегчение принятия решения, уменьшение психологического стресса, установление пациентами контроля и адаптации к ситуации, вызвавшей стресс [13]. Среди работ отечественных исследователей можно выделить работы Г.Г. Гузеева, который разработал общую психодинамическую модель поведения семьи в условиях стресса. При учёте этой модели в своей работе врачу-генетику будет легче достигнуть эффективного МГК, т.е. плодотворно решить поставленные перед собой и пациентом задачи [2, 3].

Среди всех психологических проблем, возникающих у пациентов, наиболее часто встречается чувство вины из-за рождения больного ребёнка в семье. При этом родители могут обвинять друг друга в носительстве «мутантных генов», что в конечном итоге может негативно повлиять на взаимоотношения в семье [29]. Также описан довольно высокий уровень беспокойства пациентов изотягощённых семей относительно вероятности рождения больного ребёнка [3].

Врачу-генетику, несомненно, сложно полностью избавить пациента от чувства вины или снизить его обеспокоенность [21], особенно при сообщении или подтверждении диагноза наследственного заболевания. При этом, по данным некоторых авторов, скорее произойдёт усиление негативного психоэмоционального фона у пациентов [25]. Ведущую роль в эффективном МГК в таких обстоятельствах будет играть умение врача-генетика реагировать на проявление первой реакции пациентов на психологическую травму. Психологи описывают такие наиболее частые проявления психологической травмы, как «оглушённость», при которой пациент становится неспособным адекватно осознавать информацию, отрицание, изоляция или интеллектуализация, при которой происходит вытеснение эмоциональной составляющей информации, пациент при этом может держаться сухо и отстранённо [6]. В благоприятной ситуации одновременно с включением механизмов психологической защиты включаются механизмы, направленные на восстановление утраченной целостной картины мира — горевание. Горевание — нормальный процесс, который включает ряд этапов, а исходом является принятие травмирующего события. Большинству семей требуется не менее полугода на горевание, однако в ряде случаев может потребоваться гораздо больше времени, может произойти «застывание» на каком-либо из этапов [7, 22]. Врачу важно распознавать, на каком этапе горевания находятся пациенты, и применять адекватные ситуации психотерапевтические приёмы. Важно заметить,

что сильная эмоциональная нагрузка, падающая на врача, может вызвать у него самого чувство тревоги, вины или непосильной ответственности, что в дальнейшем грозит ему серьёзными психологическими проблемами. В данном случае врачу-генетику рекомендуется воспользоваться двумя основными советами от психологов: во-первых, необходимо воспринимать себя как «проводника» негативной информации, а не как его источник, во-вторых, сообщение пациентам о возможности дальнейшей медицинской, социальной и психологической помощи несколько разгружает зону ответственности врача. Необходимо заложить возможность повторных контактов с пациентами, когда они будут готовы воспринимать дополнительную информацию [17].

Информирование пациентов и оценка их восприятия этой информации сами по себе являются критерием эффективного МГК. Знания пациентов следует пополнять как в области медицинской генетики, рисках наследственного заболевания в семье, так и об их возможностях контролировать заболевание [16, 33, 39]. Для оценки того, действительно ли пациент понял сообщённую ему информацию или просто имеет хорошую память, можно применять специальные проверочные вопросы. Показано, что на запоминание пациентами информации может оказывать влияние характеристика самого заболевания, с которым обратилась в медико-генетическую консультацию семья. Наибольшее значение имеют возможность его коррекции или контроля, тяжесть, возраст, с которого начинается заболевание, риск повторения его в семье, наличие умственной отсталости или внешних дефектов у больного [3, 5, 9, 10].

Эффективное понимание медико-генетической информации может быть связано с возрастом [34], местом жительства, социально-экономическим положением [23, 24, 26], уровнем образования пациентов [25, 34].

Важное значение имеет и то, в каком виде представляется медико-генетическая информация [32], что уже, в свою очередь, зависит от способностей самого врача-генетика [19]. Показано, что врач-генетик, вооружённый необходимым психолого-педагогическим инструментарием, может осуществлять эффективное МГК даже у пациентов с невысоким уровнем образования [14].

Одним из очевидных критериев оценки эффективности МГК также является субъективная оценка полезности, важности МГК для самих пациентов [13], а также их удовлетворённости [8]. Оценку полезности МГК для пациентов при этом также для наибольшей достоверности можно совместить с оценкой реализации целей пациентов [12, 42]. Однако, несмотря на то, что в различных исследованиях чаще отмечается высокий уровень удовлетворённости от МГК [8, 46], по ней сложно судить об эффективности МГК в ряде других аспектов. В данном случае удовлетворённость пациентов скорее является индикатором эффективности налаживания контакта «врач—пациент». Например, паци-

енты могут быть не удовлетворены из-за того, что им была предоставлена информация, к которой они оказались не готовы [37]. В данном случае ещё раз следует подчеркнуть необходимость психотерапевтического подхода к МГК.

В результате проведённого анализа литературных источников можно сделать ряд заключений. В первую очередь, следует подчеркнуть произошедший сдвиг в тактике МГК: от директивного подхода через недирективный к индивидуальному подходу с учётом психологических особенностей пациентов. Возможно, поэтому очевидный способ оценки МГК по соответствию репродуктивных планов совету генетика в последние годы отходит на второй план. Факторами, вносящими различного рода искажения в такую оценку, также являются: отношение семьи к прерыванию беременности, культурные и религиозные особенности. Навязывание же врачом-генетиком собственных предпочтений считается недопустимым.

Наиболее предпочтительными современными критериями эффективности МГК могут считаться: оценка уровня понимания медико-генетической информации и оценка адекватности действий врача-генетика психологическому состоянию пациентов, то есть оценка удовлетворённости пациентов, степень реализации их целей, снижение психоэмоциональных проблем. Существует целый ряд факторов как в личной, семейной истории пациента, так и зависящих от врача-генетика, которые могут влиять на эффективность МГК. Однако наиболее сильным фактором, несомненно, является возможность и готовность врача-генетика пользоваться в своей работе специальными психотерапевтическими приёмами. Следует учитывать, что на самого врача-генетика может оказывать влияние постоянное негативное психоэмоциональное воздействие, в связи с чем ему необходимо уметь оградиться от негативных эмоциональных переживаний для предотвращения профессиональных проблем в дальнейшем. Такие умения могут быть получены только на занятиях со специалистами-психологами, в связи с чем включение в образовательный процесс «психолого-педагогического» модуля обязательно.

Необходимо подчеркнуть, что дальнейшее развитие медико-генетической помощи и внедрение современных молекулярно-генетических методов невозможно без соответствующего развития МГК для помощи семье в адаптации и пониманию медико-генетической информации, принятию осознанных решений, удовлетворённости медико-генетической помощью. Внедрение оценки эффективности МГК в рутинную практику медико-генетической службы, в свою очередь, позволит повысить эффективность использования ресурсов, затрачиваемых на высокотехнологичную медицинскую помощь.

Список литературы

1. Гинтер Е.К., Некоторые проблемы медико-генетического консультирования // Медицинская генетика. — 2007. — Т. 6, №5 (59). — Р. 3—7.
2. Гузев Г.Г., Семаго М.М. Медико-генетическая консультация: эмоциональное состояние и понимание информации родителями // Дефектология. — 1992. — №1. — Р. 18—22.
3. Гузев Г.Г. Эффективность генетического консультирования. — М.: ООО «Медиа Групп», 2005. — 250 с.
4. Ижевская В.Л., Козлова С.И. Медико-генетическое консультирование в России: некоторые этические аспекты // Медицинская генетика. — 2004. — Т. 3, №8. — С. 370—375.
5. Козлова С.И. Современные проблемы медико-генетического консультирования: Науч. обзор / Ред. А.Ф. Захаров. — М.: ВНИИМИ, 1983. — С. 92.
6. Козлова С.И., Айвазян Е.Б., Киртоки А.Е., Гинтер Е.К. Психологические основы медико-генетического консультирования: Учеб. пособие. — М.: ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», 2013. — С. 68.
7. Семаго М.М., Семаго Н.Я. Особенности коррекционной работы с семьей в процессе консультирования ребенка с отклоняющимся развитием // Школа и Здоровье. — 1996. — Т. 3, №3. — С. 40—54.
8. Aalfs C.M. et al. A comparison of counselee and counselor satisfaction in reproductive genetic counseling // Clin. Genet. — 2007. — Vol. 72(2). — Р. 74—82.
9. Abuelo D. Genetic evaluation and counseling for craniofacial anomalies // Med. Health R I. — 2002. — Vol. 85(12). — Р. 373—378.
10. Albada A., Ausems M.G., van Dulmen S. Counselee participation in follow-up breast cancer genetic counselling visits and associations with achievement of the preferred role, cognitive outcomes, risk perception alignment and perceived personal control // Soc. Sci. Med. — 2014. — Vol. 116. — Р. 178—186.
11. Austin J.C., Honer W.G. The potential impact of genetic counseling for mental illness // Clin. Genet. — 2005. — Vol. 67(2). — Р. 134—142.
12. Bartels D.M. et al. Nondirectiveness in genetic counseling: a survey of practitioners // Am. J. Med. Genet. — 1997. — Vol. 72(2). — Р. 172—179.
13. Biesecker B.B. Goals of genetic counseling // Clin. Genet. — 2001. — Vol. 60(5). — Р. 323—330.
14. Campacci N. et al. Knowledge About Hereditary Cancer of Women with Family Histories of Breast, Colorectal, or Both Types of Cancer // J. Cancer Educ. — 2014.
15. Chieng W.S., Chan N., Lee S.C. Non-directive genetic counselling — respect for autonomy or unprofessional practice? // Ann. Acad. Med. Singapore. — 2011. — Vol. 40(1). — Р. 36—42.
16. Ciske D.J. et al. Genetic counseling and neonatal screening for cystic fibrosis: an assessment of the communication process // Pediatrics. — 2001. — Vol. 107(4). — Р. 699—705.
17. Dommering C.J. et al. Reproductive decision-making: a qualitative study among couples at increased risk of having a child with retinoblastoma // Clin. Genet. — 2010. — Vol. 78(4). — Р. 334—341.
18. Edwards A., Elwyn G., Stott N. Communicating risk reductions. Researchers should present results with both relative and absolute risks // BMJ. — 1999. — Vol. 318(7183). — Р. 603; author reply 603—604.
19. Ellington L. et al. Exploring genetic counseling communication patterns: the role of teaching and counseling approaches // J. Genet. Couns. — 2006. — Vol. 15(3). — Р. 179—189.
20. Evers-Kiebooms G. et al. Family planning decisions after the birth of a cystic fibrosis child. The impact of prenatal diagnosis // Scand. J. Gastroenterol. — Suppl. — 1988. — Vol. 143. — Р. 38—46.
21. Frich J.C., Malterud K., Fugelli P. Experiences of guilt and shame in patients with familial hypercholesterolemia: a qualitative interview study // Patient Educ. Couns. — 2007. — Vol. 69(1—3). — Р. 108—113.
22. Givens J.L. et al. Grief among family members of nursing home residents with advanced dementia // Am. J. Geriatr. Psychiatry. — 2011. — Vol. 19(6). — Р. 543—550.
23. Hanning K.A. et al. Why do women not return family history forms when referred to breast cancer genetics services? A mixed-method study // Health Expect. 2014.
24. Hughes C. et al. Sociocultural influences on participation in genetic risk assessment and testing among African American women // Patient Educ. Couns. — 2003. — Vol. 51(2). — Р. 107—114.
25. Ibrahim N.K. et al. Premarital Screening and Genetic Counseling program: knowledge, attitude, and satisfaction of attendees of governmental outpatient clinics in Jeddah // J. Infect Public Health. — 2013. — 6(1). — Р. 41—54.
26. Joseph G. et al. Efficient identification and referral of low-income women at high risk for hereditary breast cancer: a practice-based approach // Public Health Genomics. — 2012. — Vol. 15(3—4). — Р. 172—180.
27. Kallmann F.J. Psychiatric aspects of genetic counseling // Am. J. Hum. Genet. — 1956. — 8(2). — Р. 97—101.
28. Kessler S. Psychological aspects of genetic counseling. XIV. Nondirectiveness and counseling skills // Genet. Test. — 2001. — 5(3). — Р. 187—191.
29. Kladny B. et al. Genetic counseling following the detection of hemoglobinopathy trait on the newborn screen is well received, improves knowledge, and relieves anxiety // Genet. Med. — 2011. — Vol. 13(7). — Р. 658—661.
30. Langfelder-Schwind E. et al. Cystic fibrosis prenatal screening in genetic counseling practice: recommendations of the National Society of Genetic Counselors // J. Genet. Couns. — 2005. — Vol. 14(1). — Р. 1—15.
31. Maruotti G.M. et al. Prenatal screening and counseling for genetic disorders // J. Matern. Fetal Neonatal Med. — 2013. — 26. — Suppl. 2. — Р. 68—71.
32. Melas P.A. et al. Information related to prenatal genetic counseling: interpretation by adolescents, effects on risk perception and ethical implications // J. Genet. Couns. — Vol. 21(4). — Р. 536—546.
33. Miesfeldt S. et al. Knowledge about breast cancer risk factors and hereditary breast cancer among early-onset breast cancer survivors // Fam. Cancer. — 2001. — 1(3—4). — Р. 135—141.
34. Morren M. et al. Perceived genetic knowledge, attitudes towards genetic testing, and the relationship between these among patients with a chronic disease. Patient Educ Couns, 2007. 65(2). — Р. 197—204.
35. Pennacchini M., Pensieri C. Is non-directive communication in genetic counseling possible? // Clin. Ter. — 2011. — Vol. 162(5). — e141—4.
36. Resta R. et al. A new definition of Genetic Counseling: National Society of Genetic Counselors' Task Force report // J. Genet. Couns. — 2006. — 15(2). — Р. 77—83.
37. Shiloh S., Avdor O., Goodman R.M. Satisfaction with genetic counseling: dimensions and measurement // Am. J. Med. Genet. — 1990. — Vol. 37(4). — Р. 522—529.
38. Tercyak K.P. et al. Effects of coping style and BRCA1 and BRCA2 test results on anxiety among women participating in genetic counseling and testing for breast and ovarian cancer risk // Health Psychol. — 2001. — Vol. 20(3). — Р. 217—222.
39. Tluczek A. et al. Parents' knowledge of neonatal screening and response to false-positive cystic fibrosis testing // J. Dev. Behav. Pediatr. — 1992. — Vol. 13(3). — Р. 181—186.
40. Toth A., Nyari T., Szabo J. Changing views on the goal of reproductive genetic counselling in Hungary // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. — 2008. — Vol. 137(1). — Р. 3—9.

41. Turnpenny P., Ellard S. Elements of Medical Genetics. 14th ed. — Philadelphia: Elsevier, 2011. — P. 263—272.
42. Van Asperen C.J. et al. What do women really want to know? Motives for attending familial breast cancer clinics // J. Med. Genet. — 2002. — Vol. 39(6). — P. 410—414.
43. Weil J. Psychosocial genetic counseling in the post-nondirective era: a point of view // J. Genet. Couns. — 2003. — 12(3). — P. 199—211.
44. Weil J. et al. The relationship of nondirectiveness to genetic counseling: report of a workshop at the 2003 NSGC Annual Education Conference // J. Genet. Couns. — 2006. — Vol. 15(2). — P. 85—93.
45. Wertz D.C. Emerging risks of genetic testing // J. Med. Pract. Manage. — 2001. — Vol. 17(3). — P. 166—168.
46. Williams S., Weinman J., Dale J. Doctor-patient communication and patient satisfaction: a review // Fam. Pract. — 1998. — Vol. 15(5). — P. 480—492.

Possibility of the estimation of the genetic counseling efficiency: review

Baranova E.E.¹, Ivanova L.Yu.³, Zhuravleva I.V.³, Izhevskaya V.L.², Ginter E.K.^{1,2}

¹ — Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health, Moscow; e-mail: baranova.gen @ gmail.com

² — Research Centre of Medical Genetics, Moscow

³ — Institute of Sociology, Russian Academy of Sciences, Moscow

The modern definition of the genetic counselling and its history as well as general approach of the genetic counselling and the estimate of its efficiency are shown in this review. It is emphasized the role of genetic counselors' psychological and pedagogical skills is important for efficiency of the genetic counseling. Also it is necessary to attract professional psychologists in the genetics educational process.

Key words: genetic counseling, psychological approach, estimation of the efficiency

Роль генетических маркёров и нутриентов в развитии многофакторных заболеваний

Кучер А.Н.

ФГБНУ «НИИ медицинской генетики», 634059, г.Томск, Набережная реки Ушайки, д.10; aksana.kucher@medgenetics.ru
Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050, г.Томск, пр. Ленина, д.36

В кратком обзоре рассматриваются вопросы взаимоотношений генетических маркёров и нутриентов с точки зрения их значимости для развития многофакторных заболеваний. Приводятся примеры генетически обусловленных индивидуальных особенностей в уровне ряда нутриентов; вовлечённости нутриентов в метаболические пути (в частности, в фолат-зависимый метаболизм одноуглеродных соединений) и функционирование отдельных генов; а также данные об ассоциациях нутриентов и задействованных в регуляции уровня нутриентов генов (и полиморфных вариантов) с заболеваниями многофакторной природы.

Ключевые слова: гены, нутриенты, генетические ассоциации, нутригеномика, многофакторные заболевания

Введение

Неинфекционные болезни занимают ведущее место в структуре заболеваемости и смертности населения, при этом регистрируется рост распространённости различных заболеваний данной категории как в России, так и в мире [1, 9]. Неинфекционные заболевания в большинстве случаев имеют многофакторную природу, и в основе их развития лежат многочисленные генетические и средовые факторы. Значит, изменения как генетической структуры популяций, так и средовых факторов могут выступать в качестве причины увеличения частоты регистрации данных патологий.

Формирование генетического разнообразия популяций происходило на протяжении многих поколений, в результате чего образовались генофонды, адаптированные к конкретной среде обитания. В настоящее время наблюдается стремительное преобразование структуры популяций: большинство населения проживает в урбанизированных популяциях, миграционные процессы значимы для обширных территорий и многочисленных регионов мира. Изменяется и среда обитания — с одной стороны, она становится более комфортной (менее зависимой от природно-климатических условий), с другой — более агрессивной (активно вводятся в обиход лекарственные препараты, пищевые добавки и новые химические вещества) и т.д. Но, пожалуй, наиболее стремительно происходит изменение образа жизни (высокие психоэмоциональные нагрузки, малоподвижный образ жизни, несбалансированное питание и т.д.). Всё это может приводить к распространению болезней цивилизации — гипертонии, ишемической болезни сердца, сахарного диабета, ожирения и многих других. Но остаётся нерешённым вопрос, какие из стремительно меняющихся в современном обществе факторов оказывают наиболее значимое влияние на рост числа неинфекционных заболеваний, которые рассматриваются ВОЗ как главная проблема для здоровья в XXI веке [1].

Среди факторов, которые могут влиять на риск развития заболеваний многофакторной природы в современных популяциях, не последняя роль принадлежит характеру питания. В случае длительного использования несбалансированных диет или несоответствия характера питания генетически обусловленным потребностям организма, могут возникать те или иные патологические состояния. J.R. Speakman [41] предложил очень простую схему, объясняющую распространённость ожирения в современных популяциях, но эта схема наглядно демонстрирует и потенциальные возможности развития других заболеваний (рис. 1). Так, при активном образе жизни и сбалансированном питании людям для компенсации энергозатрат и обеспечения организма полезными веществами (нутриентами) необходимо употребить некоторый объём пищи (на рис. 1, столбцы А). Если ведётся малоподвижный образ жизни (что характерно для большинства представителей современных популяций), потребности в энергозатратах снижаются, и для их удовлетворения необходимо меньшее количество пищи, но при этом объёме организм будет недополучать необходимые для нормальной жизнедеятельности питательные вещества (на рис. 1, столбцы В), что может неблагоприятно сказаться на здоровье; если объём потребления продуктов увеличить до уровня, обеспечивающего минимально необходимые потребности питательных веществ, организм будет потреблять избыточное количество калорий, что приведет к развитию ожирения (рис. 1, столбцы С). Столбцы D и E (рис. 1) иллюстрируют ситуацию, когда питание несбалансированное (также является характерной чертой современного общества): в первом случае (D) организм недополучает питательные вещества (что может привести к развитию той или иной патологии), во втором (E) — потребляет избыточный объём калорий (что может привести к развитию ожирения). В современном обществе подавляющее большинство жителей ведёт малоподвижный образ жизни (необходимо меньше энергозатрат), но повышенные

психоэмоциональные нагрузки требуют большего потребления ряда микро- и макронутриентов. В то же время характер питания также стремительно меняется — в диете преобладают высококалорийные рафинированные продукты, с низким содержанием жизненно необходимых макро- и микронутриентов [2, 3]. В итоге, дефицит нутриентов широко распространен. Например, у пожилых австралийцев потребление от рекомендуемой нормы составляет: селена — 5%, кальция — 10%, железа — 11%, витамина А — 7%, витамина D — 10% (цит. по [29]); по данным многоцентрового исследования, проведенного в России, 47,8% пациентов лечебных учреждений имеют дефицит магния [6] и т.д.

Известно, что дефицит ряда микронутриентов (человеку для нормального функционирования организма требуется приблизительно 40 различных микронутриентов) приводит к развитию заболеваний сердечно-сосудистой системы (витамины группы В, витамин Е, каротиноиды; кальций, магний и др.), онкопатологии (фолаты, каротиноиды), дефектов нервной трубки (фолаты), изменению массы костей (витамин D); дефицит витаминов (В₁₂, В₆, фолиевая кислота, никотиновая кислота) и некоторых металлов (Fe, Zn) может приводить к различным повреждениям ДНК; к повреждениям, характерным для радиационного воздействия (радиационная мимикрия), приводит дефицит витамина С (при этом увеличивается риск развития онкопатологии и катаракты (в 4 раза)) и витамина Е (увеличивается риск развития рака толстой кишки (в 2 раза), болезней сердца (в 1,5 раза), иммунной дисфункции) и др. (цит. по [26]). При этом следует иметь в виду, что в зависимости от генетических особенностей индивиды могут иметь различные потребности в макро- и микронутриентах, необходимых для нормального функционирования организма.

Причина генетических различий в потребности индивидов в тех или иных питательных веществах — различные средовые условия, в которых происходила эволюция популяций, выходцами из которых они являются. Например, экологические параметры (в частности, «полярный регион») оказались ассоциированы с SNP, локализованными в генах, продукты которых вовлечены в энергетический метаболизм (*ME2*, *ME3*); в популяциях, где главным компонентом диеты являются клубни и корнеплоды, специфичными оказались распределения частот аллелей в генах, задействованных в метаболизме крахмала и сахарозы (*GAA*, *GBE1*, *GBA3*), в биосинтезе фолатов (*MTRR*), а при преобладании в питании злаков — в гене *PLRP2* (гидролизует галактолипиды — главный компонент триглицеридов у растений); индивиды из популяций, в которых традиционно в диете высока доля крахмалсодержащих продуктов, в среднем имеют большее число копий гена *AMY1*, чем те, в питании которых доля таких продуктов невысока (этот ген кодирует амилазу слюны, а число копий гена положительно коррелирует с уровнем ами-

лазы) [23, 37]. И таких данных, доказывающих роль конкретных средовых факторов в детерминации особенностей генотипической структуры популяций, накапливается все больше (см. [12, 22, 23]). Интересно, что в ряде случаев для генов и полиморфных вариантов, для которых установлена зависимость частоты регистрации аллелей от экологических факторов или типа диеты, зарегистрированы ассоциации с болезнями или патогенетически значимыми признаками (табл. 1).

Нутригенетика и нутригеномика

Рассматривать взаимодействия «нутриенты — генетические особенности» можно с двух точек зрения: во-первых, употребление специфических пищевых компонентов в случае некоторых генетических особенностей может привести к развитию болезни, во-вторых, потребность в тех или иных нутриентах может быть генетически детерминирована. В качестве примеров для первой ситуации можно привести такие наследственные заболевания, как фенилкетонурия (токсический эффект фенилаланина у лиц с мутацией в гене фенилаланингидроксилазы — *PAH*), галактоземия (нарушение превращения галактозы в глюкозу, в результате мутации гена, ответственного за синтез галактозо-1- фосфатуридилтрансферазы — *GALT*) и др., второй — наследственные формы гипомегалии (известны гипомегалии 1, 2, 3, 4, 5 и 6 типа) (см. [34]). Как особенности ответа на те или иные нутриенты, так и потребности в них могут определяться не только редкими вариантами (приводящими к развитию моногенных наследственных заболеваний), но и полиморфными вариантами.

Вопросам индивидуальных реакций на приём нутриентов в зависимости от генетических особенностей населения занимаются специалисты в области нутригенетики. Другое направление исследований — нутри-

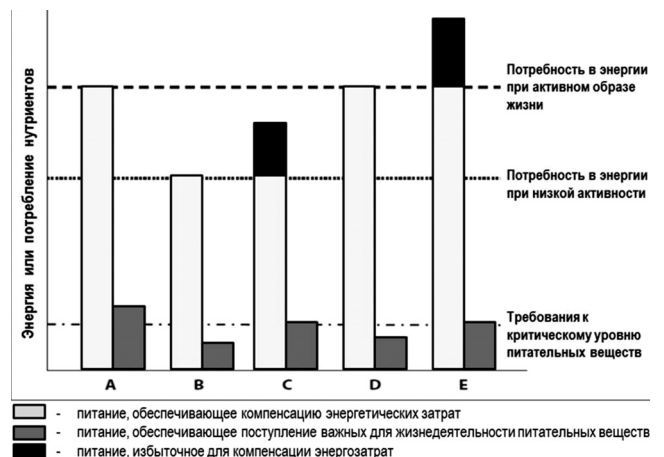


Рис. 1. Схематическое изображение уровня потребления энергии и нутриентов в зависимости от образа жизни и характера питания. Схематически приведены уровни потребления энергии и нутриен-

геномика — стремится обеспечить генетическое понимание того как химический состав диеты (т.е. питание) определяет баланс между здоровьем и болезнью посредством изменения экспрессии и/или структуры генов у индивидов [26]. J. Kaput и R.L. Rodriguez [26] сформулировали пять основных положений нутригеномики:

- 1) обычный химический состав пищи влияет на геном человека либо напрямую, либо опосредованно;
- 2) при определённых условиях у некоторых индивидов особенности питания могут выступать в качестве серьезного фактора риска ряда заболеваний;
- 3) некоторые регулируемые питательными веществами (диетой) гены, вероятно, играют роль в определении начала, прогрессии и/или клинической картины течения хронических заболеваний;
- 4) степень влияния диеты на баланс между болезнью и здоровьем может определяться индивидуальными генетическими особенностями;
- 5) подбор диеты, основанный на знаниях о пищевых потребностях, обеспеченности каждого отдельного организма нутриентами и генотипе («индивидуализированное питание») может быть использован для предупреждения, облегчения течения или лечения хронических заболеваний.

Нутригенетика и нутригеномика — активно развивающиеся направления, которые в дальнейшем могут значительно расширить понимание механизмов функционирования генома (в том числе и через взаимодействие генов и нутриентов), а также закономерностей формирования здоровья и развития многофакторных болезней (см., например, [14, 18, 20, 21, 33]).

Ассоциированность генетических маркёров с уровнем нутриентов

Как показали многочисленные исследования (в том числе и GWAS, см. табл. 2), уровень нутриентов в организме (чаще оценка содержания нутриентов проводится в сыворотке крови) может различаться у индивидов с различными генетическими вариантами. Такая ситуация наблюдалась, в частности, в отношении уровня витаминов в сыворотке крови — А, В₆, В₁₂, D, Е, фолиевой кислоты, а также такого нутриента как магний (табл. 2). Известны и другие примеры генетической обусловленности в потребности нутриентов: rs2236225 в гене *MTHFD1* — развитие дефицита холина при его низком содержании в употребляемой пище; rs12325817 гена *PEMT* — большая потребность в холине у женщин [16, 27] и др.

Таблица 1

Гены, подверженные отбору в популяциях человека, предполагаемые селективные факторы, и ассоциированные с генами болезни (патогенетически значимые признаки)*

Ген	Предполагаемый фактор отбора	Фенотип (болезнь/признак)
<i>CYP3A5</i>	Климат: солевой обмен	Гипертония, преэклампсия, уровень некоторых метаболитов в крови
<i>AGT</i>		
<i>LEPR</i>	Климат: устойчивость к холоду	Нарушение метаболизма, ожирение, С-реактивный белок
<i>FABP2</i>		
<i>GNB3</i>		
<i>FADS2</i>	Экология	Артериальное давление
		Липидные показатели (триглицериды, общий холестерин и др.), ответ на лечение статинами, метаболический синдром, уровень гликированного гемоглобина, ЭКГ-параметры, ревматоидный артрит
<i>TNXB</i>	Диета: мясо-молочные продукты	Количество эозинофилов, возрастная макулярная дегенерация, системная красная волчанка, уровень фосфолипидов
<i>KCNQ1</i>	Диета: клубни и корнеплоды	Сахарный диабет типа 2
<i>MTRR</i>		Метаболизм фолатов
<i>ICOS</i>	Климат: температура зимой	Ферменты печени (АСТ, АЛТ), глютенная болезнь
<i>TMEM212</i>	Климат: Относительная влажность летом	Индекс массы тела, биполярные расстройства, шизофрения, ответ на терапию блокаторами рецепторов ангиотензина
<i>GLI3</i>	Климат: Температура зимой	Возрастная макулярная дегенерация, аллергический ринит, артериальное давление
<i>ADRA2A</i>	Климат: Осадки зимой и солнечное излучение летом	Уровень глюкозы натощак, агрегация тромбоцитов
<i>POLD3</i>	Температура зимой	Колоректальный рак

Примечание. * Составлено по [22-24, 36, 44, 45]

Таблица 2

**Полиморфные варианты, показавшие ассоциации
с уровнем некоторых витаминов в организме человека и потреблением нутриентов (по данным GWAS*)**

Витамины и нутриенты	rs	Ген	Другие признаки, ассоциированные с SNP	Другие признаки, ассоциированные с генами
1	2	3	4	5
Витамин B ₁₂	492602	<i>FUT2</i>	Уровень общего холестерина	Уровень гомоцистеина, болезнь Крона, уровень ферментов печени, биполярные расстройства, общий холестерин
	1047781		Маркёры онкопатологии	
	602662		—	
	2298585	<i>MS4A3</i>	—	Болезнь Альцгеймера
	526934	<i>TCN1</i>	—	—
	3760776	<i>FUT6</i>	Маркёры онкопатологии, уровень N-гликанов	Уровень карциноэмбрионального антигена
	41281112	<i>CLYBL</i>	—	Ревматоидный артрит, окружность талии, гиперреактивность/дефицит внимания
	1801222	<i>CUBN</i>	—	Уровень гомоцистеина, выделение альбумина с мочой, общий объём головного мозга, диастолическое давление
	11254363		—	
	9473555	<i>MUT</i>	—	Уровень гомоцистеина
	10515552	—	—	—
	12377462	—	—	—
Витамин B6	4654748	<i>NBPF3</i>	Активная форма перидоксаль-5'-фосфата	Уровень фосфора, печеночные ферменты
Витамин D	2282679	<i>GC</i>	Недостаточность витамина D	Неалкогольный гепатоз, уровень метаболизма
	3829251	<i>NADSYN1</i>	—	Недостаточность витамина D
	2060793	<i>CYP2R1</i>	—	Недостаточность витамина D
Витамин A	10882272	<i>FFAR4</i>	—	—
	1667255		—	
Витамин E	964184	<i>ZPR1 (ZNF259)</i>	Изменение в уровне альфа-токоферола в ответ на приём витамина E, уровень общего холестерина, липопротеиды высокой плотности; липопротеиды низкой плотности, триглицериды, активность липопротеин-ассоциированной фосфолипазы 2, гипертриглицеридемия; ишемическая болезнь сердца	Ишемический инсульт, метаболический синдром, ассоциированные с ожирением признаки, триглицериды — артериальное давление, окружность талии — триглицериды
	2108622	<i>CYP4F2</i>	Уровень глицеролфосфохолина, уровень альфа-токоферола, поддерживающая доза варфарина и аценокумарола	—
	11057830	<i>SCARB1</i>	—	Активность и уровень липопротеин-ассоциированной фосфолипазы 2, почечно-клеточная карцинома
Фолат	982393	<i>FIGN</i>	—	—
	153734	<i>PRICKLE2-AS1</i>	—	Кальцификация коронарных артерий
Магний	4072037	<i>MUC1</i>	Рак пищевода, рак желудка	—
	13146355	<i>SHROOM3</i>	Параметры функционирования почек	Показатели функционирования почек (скорость клубочковой фильтрации, уровень креатинина и др.), хронические заболевания почек
	7965584	—	—	—
	11144134	<i>TRPM6</i>	—	—
	3925584	—	Хронические заболевания почек	—

Таблица 2 (окончание)

1	2	3	4	5
Магний	7197653	<i>PRMT7</i>	—	—
	2592394	—	—	—
	448378	<i>MECOM</i>	Систолическое артериальное давление	Остеопороз, показатели функционирования почек, показатели функционирования лёгких, диастолическое артериальное давление, старение
	4561213	<i>LUZP2</i>	—	Болезнь Альцгеймера, биомаркёры статуса железа
Углеводы	197273	<i>TANK</i>	—	Ответ на противовирусную терапию, уровень образования
	10163409	<i>FTO</i>	—	Индекс массы тела, вес, ожирение, окружность талии, подкожная жировая ткань, метаболический синдром, диабет типа 2, липопротеиды низкой плотности, меланома, остеоартрит, уровень глобулина, связывающего половые гормоны, менархе
	838145	<i>IZUMO1</i>	—	—
Жиры	838145	<i>IZUMO1</i>	—	—
Белки	838133	<i>FGF21</i>	Уровень гомоцистеина	—
	1421085	<i>FTO</i>	Ожирение	См. выше
Примечание. * — составлено по [16, 24]				

Для ассоциированных с уровнем тех или иных нутриентов полиморфных вариантов генов зарегистрированы также ассоциации с заболеваниями и клинически значимыми признаками, в том числе — заболеваниями сердечно-сосудистой системы, нарушением обменных процессов, онкозаболевания и другими (табл. 2). Поскольку при полногеномных ассоциативных исследованиях оказавшиеся информативными варианты могут маркировать регион локализации функционально значимого гена для соответствующей патологии, дополнительную информацию можно получить при анализе выявленных ассоциаций хромосомных регионов с заболеваниями. В этом отношении очень показательны результаты, полученные для полиморфных вариантов, генов (табл. 2) и хромосомных вариантов, для которых установлена ассоциация с уровнем магния (см. [24]).

Дефицит магния (который широко распространён в современных популяциях) может выступать в качестве фактора риска развития большого числа заболеваний, причём уже разработаны и используются в лечебной практике рекомендации для лечения ряда болезней препаратами магния [6, 8, 11, 13]. С другой стороны, было установлено, что гипомагниемия ассоциирована с рядом полиморфных вариантов (в том числе и с вариантами, локализованными в гене, мутации в котором приводят к развитию моногенной формы гипомагниемии — *TRPM6*) [24, 32]. При этом наблюдается удивительное соответствие между спектром заболеваний, при которых регистрируется дефицит магния, с одной стороны, и перечнем болезней, для которых установлены ассоциации

либо непосредственно с вариантами, показавшими связь с уровнем магния в сыворотке крови, либо с регионами локализации этих вариантов, с другой. Так, дефицит магния регистрируется при таких состояниях как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, инфаркт миокарда, хроническая сердечная недостаточность, нарушение сердечного ритма, пролапс митрального клапана, тромбозы, дислипидемии, избыточный вес, метаболический синдром, нарушение толерантности к глюкозе и сахарный диабет, остеопороз, бронхиальная астма, неврологические, психические заболевания и др., и для этих же патологий (а также патогенетически значимых при данных заболеваниях признаков) установлены ассоциации с хромосомными регионами локализации ассоциированных с уровнем магния полиморфных вариантов.

В ряде случаев для полиморфных вариантов, ассоциированных с уровнем тех или иных нутриентов, показаны существенные различия по частоте регистрации аллелей у представителей различных расовых групп населения (см. рис. 2А, приведены данные по NCBI [25]). Например, по rs964184 гена *ZNF259* (ассоциирован с уровнем витамина Е) частота аллеля С варьирует в пределах 0,125—0,900, по rs1047781 гена *FUT2* (ассоциирован с уровнем витамина В₁₂) аллель Т не регистрировался в обследованных выборках европеоидов и достигал величины 0,478 у представителей других групп населения (рис. 2А). Отчётливые межрасовые различия по частоте аллельных вариантов зарегистрированы также для rs10882272, локализованного

в гене *FFAR4* (для данного SNP установлена ассоциация с уровнем витамина А) (см. рис. 2В). Ген *FFAR4* кодирует рецептор свободных жирных кислот 4, он взаимодействует с омега-3 жирной кислотой, регулирует внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , гомеостаз, секрецию пептидов в желудочно-кишечном тракте, определяет предрасположенность к ожирению и вкусовые предпочтения.

Потребление макронутриентов также может различаться в зависимости от генотипических особенностей (табл. 2). По данным метаанализа GWAS с уровнем по-

требления белка установлена ассоциация rs1421085 (ген *FTO*), для которого ранее была показана ассоциация с более высокими значениями индекса массы тела, а rs838145 (локализован в интроне гена *IZUMO1*) был ассоциирован с высоким уровнем потребления углеводов и низким уровнем потребления жиров [43]. Что касается последнего из упомянутых SNP, то авторы отнесли к категории кандидатного ген фактора роста фибробластов *FGF21* (локализован вблизи гена *IZUMO1*), продукт которого вовлечён в метаболизм глюкозы и липидов, так как данный полиморфный вариант был ассоциирован

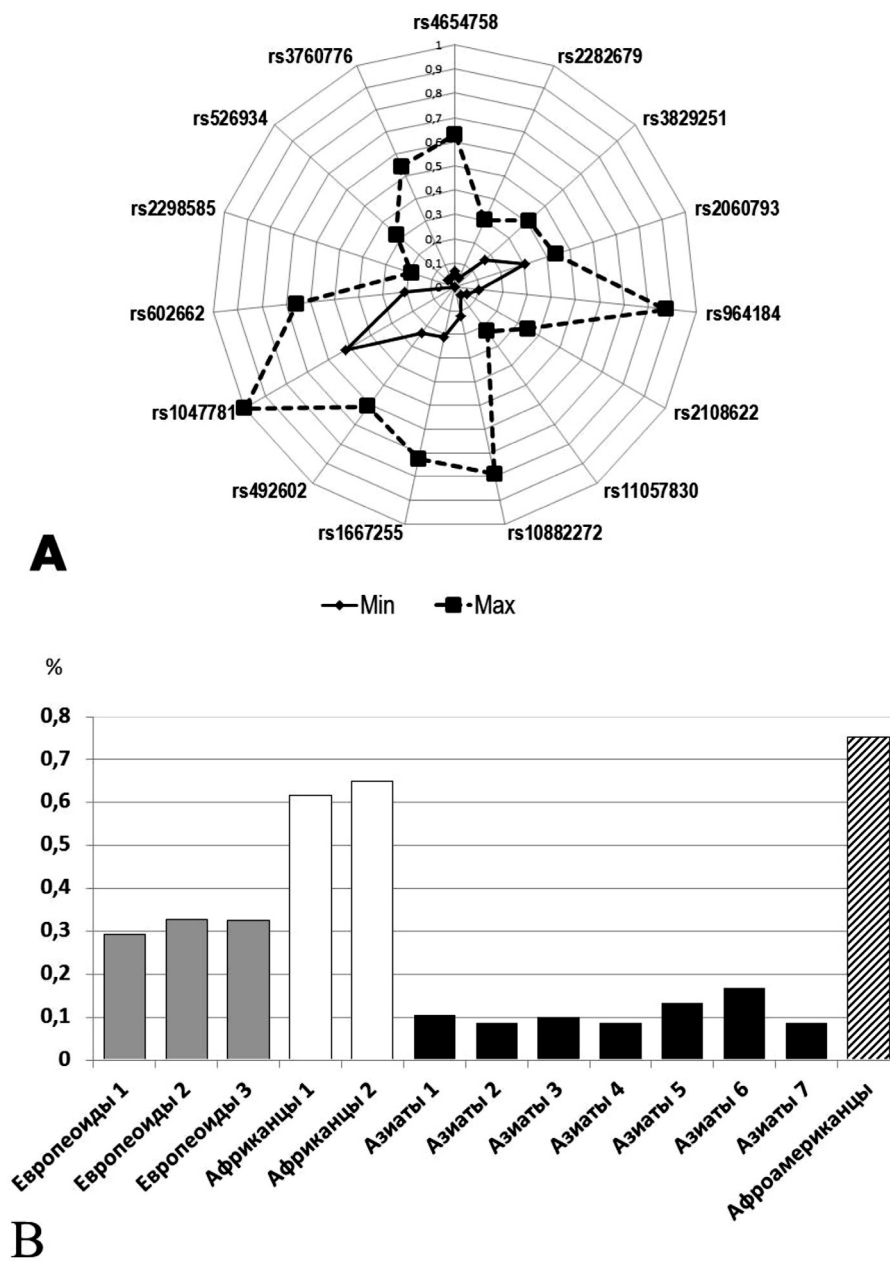


Рис. 2. Минимальные и максимальные значения частот аллелей по SNP, для которых установлены ассоциации с уровнем витаминов (А) и распределение частоты аллеля А по rs10882272, локализованному в гене *FFAR4*, у представителей различных рас (В).

с концентрацией циркулирующего белка FGF21 (но не с уровнем мРНК). Особенности питания были выявлены у пациентов с сахарным диабетом типа 2, имеющих генотип AA по rs9939609 гена *FTO*: для них было характерно повышенное потребление жиров и низкий уровень потребления клетчатки [42].

Нутриенты могут модулировать ассоциации с патологическими состояниями, как это было показано, в частности, для полиморфных вариантов генов *PLIN*, *FTO*, *MC4R* [28, 35, 40]. Так, недостаточность витамина D способствует увеличению веса у детей, обладающих рисковым аллелем rs9939609 гена *FTO*, но такой зависимости не зарегистрировано у детей с нормальным потреблением витамина. Несмотря на то, что не установлено зависимости ряда антропометрических показателей, информативных для оценки ожирения (окружность талии и бедер, индекс массы тела) от генотипов по полиморфному варианту 11482G/A (rs894160) гена *PLIN*, у лиц, в питании которых был высокий уровень потребления сложных углеводов, более редкий аллель (A) выступал в качестве протективного для развития ожирения, а у индивидов с низким уровнем потребления сложных углеводов, напротив, данный аллельный вариант показал ассоциацию с риском развития ожирения. Только у лиц, не придерживающихся средиземноморской диеты, показан риск развития сахарного диабета типа 2 у обладателей производных аллелей по rs9939609 гена *FTO* и rs17782313 гена *MC4R*, по сравнению с обладателями предковых аллелей.

С учётом вышеприведённых данных вполне ожидаемым является то, что ответ на приём макро- и микронутриентов также может быть генетически детерминированным. Так, при проведении полногеномного ассоциативного исследования J. M. Major с соавторами [30] выявили ряд SNP, включая три независимых локуса (rs964184, rs12272004, rs7834588), ассоциированных с уровнем альфа-токоферола в сыворотке крови в ответ на длительный приём витамина E, причём, два первых из трех указанных вариантов локализованы вблизи генов, задействованных в транспорте и метаболизме витамина E (*BUD13*, *CYP4F2*), а третий — в гене *NKAIN3* (Na⁺/K⁺ transporting ATPase interacting 3). Более выраженное снижение веса в ответ на низкокалорийную диету (с высоким содержанием как мононенасыщенных, так и полиненасыщенных жиров) наблюдалось у лиц, гомозиготных по аллелю Trp64 полиморфного варианта Trp64Arg гена *ADRB3*, по сравнению с обладателями других генотипов, а улучшение таких показателей как уровень холестерина, липопротеинов низкой плотности, триглицеридов, глюкозы, инсулина и др. было более значимо у обладателей гетерозиготных генотипов по данному полиморфному варианту [17]. Установлено также, что у здоровых мужчин полиморфный вариант 211377C/G гена адипонектина (*ADIPOQ*) может выступать в качестве фактора, обуславливающего различия в чувствительности к инсулину после применения ди-

ты, обогащённой мононенасыщенными жирными кислотами, и диеты, обогащённой углеводами [36].

Кроме того, ассоциированные с уровнем нутриентов хромосомные регионы были также информативны при оценке атипичных реакций на приём лекарственных препаратов [24]. Например, ассоциация с тиазид-индуцированными неблагоприятными реакциями у больных гипертонией зарегистрирована для регионов 3q26.2 и 11q23.3, в которых локализованы гены, ассоциированные с уровнем магния (*MECOM*, *LUZP2*), при этом тиазидные диуретики могут являться причиной развития гипомagneмии.

Влияние нутриентов на функционирование генома

Не только потребности в макро- и микронутриентах могут зависеть от генетических вариантов тех или иных генов, но сами нутриенты оказывают влияние на функционирование генов, что достигается посредством различных механизмов:

1) нутриенты могут непосредственно взаимодействовать с рецептором, который связывается с ДНК и индуцирует экспрессию генов (например, взаимодействие витамина D с геном рецептора витамина D (*VDR*), кальция — с кальцинурином) и т.д.;

2) нутриенты участвуют в эпигенетических модификациях (на уровне регуляции транскрипции (посредством метилирования ДНК и гистонов) и трансляции (посредством остановки трансляции мРНК с помощью микро-РНК) [31, 46].

В обзоре M.D. Lusock с соавторами [29] приведены гены, эффект которых в той или иной степени зависит от компонентов пищи, в том числе *SLC24A5* (витамин D), *AMY1* (крахмал), *LCT* (лактоза), *ALDH2* (алкоголь), *ACE* (соль), кластер генов *FAD* (полиненасыщенные жирные кислоты), *C282Y* (железо), *AGT* (мясо), *CYP450* и *GST* (растительные алкалоиды и другие ксенобиотики) и др. Известно, что и макронутриенты (жиры, белки, алкоголь) и микронутриенты (витамин E) изменяют уровень экспрессии многих микро-РНК и вовлечены в фолат-зависимый метаболизм одноуглеродных соединений (витамины B₁₂, B₆, B₂, фолат, Zn, Se, белок и др.), играющий ключевую роль в процессах метилирования ДНК и гистонов (рис. 3).

Эпигенетическая модификация генома как причина развития многофакторных болезней — одно из активно развивающихся направлений современных геномных исследований [19, 31, 39]. Предложено несколько моделей формирования риска болезни на основании изменения ДНК:

1) модель формирования риска независимо от эпигенетических механизмов (эта модель преобладала в исследованиях по изучению генетики многофакторных болезней до настоящего времени);

2) гены могут выступать в качестве посредников эпигенетических модификаций других генов (т.е. измене-

ния в генах, управляющих «эпигенотипом»; например, в генах фолатного цикла, что может сказаться на поддержании метилирования ДНК);

3) модель, где эффект генетического варианта будет зависеть от его эпигенетического контекста (подробнее — см. [19]).

Из трёх моделей, две так или иначе учитывают эпигенетические изменения в организме. Следует отметить, что с возрастом довольно интенсивно происходит накопление эпигенетических изменений (более выражены, чем соматические геномные нарушения), и это может быть одним из объяснений накопления многофакторных болезней у пожилых людей. В исследовании В.С. Christensen с соавторами [15] выявлено около 300 локусов, для которых характерен возраст-зависимый характер метилирования, и для многих из этих генов зарегистрированы ассоциации с многофакторными заболеваниями, «накапливающимися» у лиц пожилого возраста (например, для гена *ESR1* — с онкозаболеваниями, внезапной остановкой сердца, ожирением, минеральной плотностью костей и др., *TERT* — с онкозаболеваниями, минеральной плотностью костей и др.,

MGMT — с метаболическими маркерами атеросклероза и т.д.

Для генов, продукты которых задействованы в процессах метилирования, также известны ассоциации с многочисленными заболеваниями многофакторной природы и клинически значимыми биохимическими показателями. Так, полиморфные варианты, локализованные в гене *SHMT*, ассоциированы с различными онкологическими заболеваниями; в гене *MTRR* — с дефицитом фолиевой кислоты и витамина B_{12} , гипергомоцистеинемией, онкопатологией, тромбоэмболией; в гене *COMT* — с различными психическими заболеваниями (шизофрения, болезнь Альцгеймера и др.), гипертонией, ишемией миокарда, метаболитами крови; в гене *CBS* — с уровнем гомоцистеина, уровнем микроэлемента Se в крови; в гене *MTHFR* — с уровнем гомоцистеина, сахарным диабетом 1 типа и 2 типа, гипертонией, гиперхолестеринемией, атеросклерозом, инфарктом миокарда, инсультом и т.д. [24, 47]. Одним из наиболее изученных генетических вариантов является C677T в гене *MTHFR*, замена C на T приводит к снижению ферментативной активности и обладатели гомозиготного геноти-

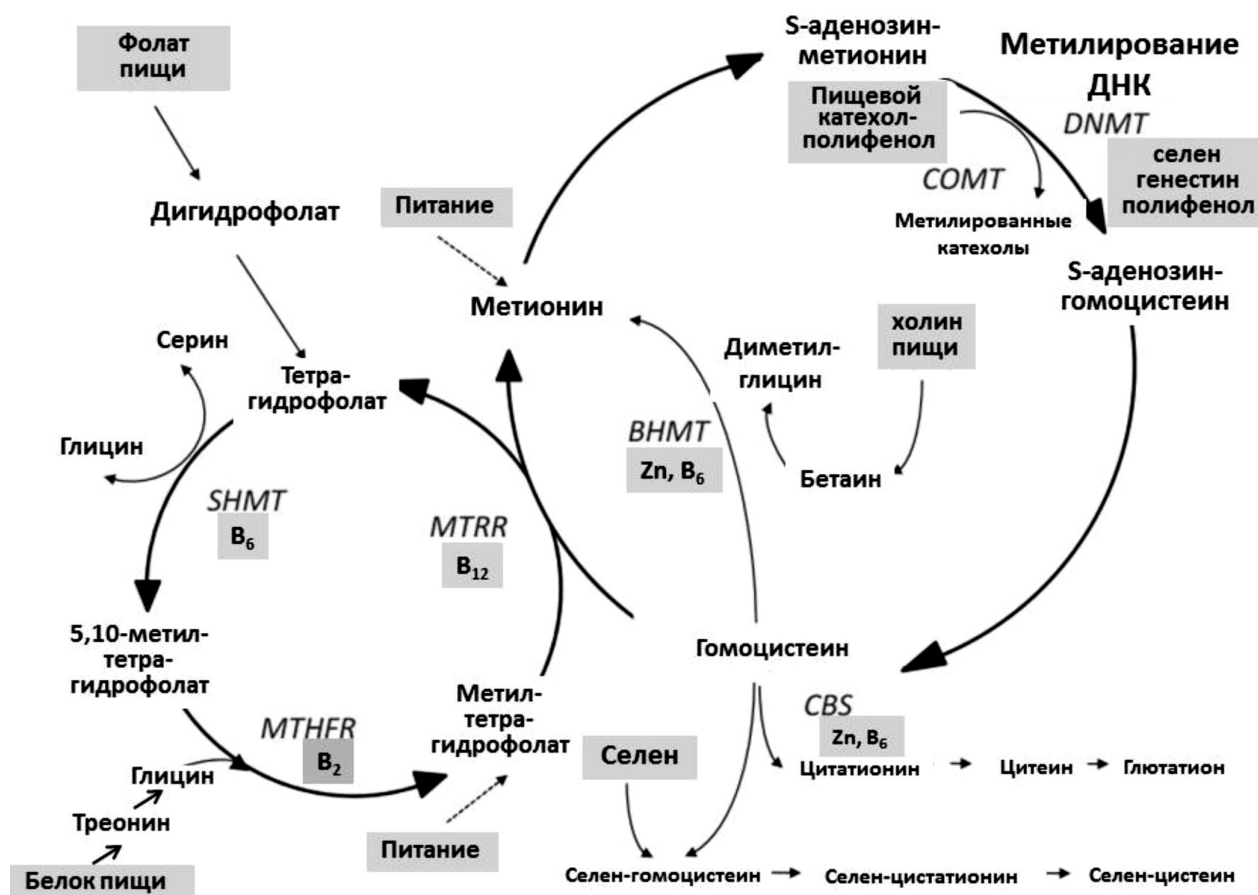


Рис. 3. Основные пути фолат-зависимого метаболизма одноуглеродных соединений. Курсивом приведены гены, продукты которых вовлечены в данный физиологический процесс, на сером фоне указаны нутриенты и компоненты питания, значимые для данного метаболического пути (адаптировано из [31]).

па имеют повышенный уровень гомоцистеина, пока они не начинают принимать высокие дозы фолата. Но так как нутриенты являются донорами метильных групп, а микронутриенты кофакторами энзимов, задействованных в фолат-зависимом метаболизме одноуглеродных соединений (рис. 3), не только генетический полиморфизм, но и недостаток любого из этих веществ может повлиять на работу генов и функциональное состояние организма в целом. При этом, уровень нутриентов, как было показано выше, также определяется генетическими факторами.

Таким образом, приведённые в настоящем обзоре данные указывают на то, что для понимания причин распространения болезней многофакторной природы в современных популяциях важным представляется исходить из следующих посылов. Во-первых, генетическое разнообразие популяций и этнических групп формировалось вследствие длительных эволюционных преобразований, в результате которых происходила их адаптация к конкретным условиям среды обитания. Во-вторых, среди факторов среды, к наиболее стремительно меняющимся в современном обществе следует отнести характер питания; соответственно, меняется обеспеченность организма жизненно необходимыми нутриентами. В-третьих, недостаток (как и избыток) некоторых нутриентов может выступать в качестве причины развития многих заболеваний неинфекционной природы. В-четвёртых, как потребности в уровне нутриентов, так и их эффекты на функционирование генома могут отличаться у индивидов в зависимости от генетического статуса. Понимание значимости микронутриентов в развитии сложного наследуемых состояний уже сейчас привело к разработке профилактических и лечебных программ для различных заболеваний многофакторной природы (болезни сердечно-сосудистой системы, дефект нервной трубки, онкопатология и др.) [3—5, 7, 10, 11, 31]. Но такие программы будут ещё более эффективны, если рекомендуемые профилактические и лечебные программы на основе коррекции уровня потребления нутриентов будут учитывать генетический статус каждого конкретного индивида.

Список литературы

- 10 ведущих причин смерти в мире // Информационный бюллетень. — №310, Май 2014 г. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/ru/> (дата обращения — февраль 2015 г.)
2. Всемирная организация здравоохранения. Рацион питания и предупреждение хронических заболеваний / Доклад Совместного консультативного совещания ВОЗ/ФАО. Женева, 2003, http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_916_rus.pdf?ua=1&ua=1 (дата обращения — февраль 2015 г.)
3. Всемирная организация здравоохранения. Рацион, питание и предупреждение хронических заболеваний / Доклад исследовательской группы ВОЗ. 1993 г. — 208 с.
4. Гаппаров М.М., Мойсёнок Ф.Г. Биохимические основы нутрициологии // Питание и обмен веществ. Сб. научн. статей. — Вып. 3. Минск: «Белорусская наука», 2008. — С. 5—19.
5. Гольцов В.Р., Багненко С.Ф., Луфт В.М. и др. Нутриционная поддержка в лечении острого деструктивного панкреатита // Анналы хирургической гепатологии. — 2009. — Т. 14, №1. — С. 18—22.
6. Громова О.А. Калачева А.Г., Торшин И.Ю. и др. О диагностике дефицита магния. Часть 1. // Архив внутренней медицины. — 2014. — №2(16). — С. 5—10.
7. Громова О.А., Калачева А.Г., Торшин И.Ю. и др. Недостаточность магния — фактор риска коморбидных состояний: результаты крупномасштабного скрининга магниевоего статуса в регионах // Фраматека. — 2013. — №6. — С. 116—129.
8. Громова О.А., Торшин И.Ю., Гришина Т.Р. Мировой опыт применения цитрата магния в медицине // Трудный пациент. — 2010. — Т. 8, №8. — С. 20—27.
9. Калабеков И.Г. Российские реформы в цифрах и фактах. <http://refru.ru> (дата обращения — февраль 2015 г.)
10. Луфт В.М. Клиническая трофология: становление и перспективы развития / Питание и обмен веществ. Сб. научн. статей. — Вып. 3. Минск: «Белорусская наука», 2008. — С. 197—174.
11. Недогода С.В. Роль препаратов магния в ведении пациентов терапевтического профиля // Лечащий врач. — 2009. — №6. — С. 61—66.
12. Пузырев В.П., Кучер А.Н. Эволюционно-онтогенетические аспекты патогенетики хронических болезней человека // Генетика. — 2011. — Т. 47, №12. — С. 1573—1585.
13. Шилов А.М., Мельник М.В., Осия А.О. и др. Роль дефицита магния в патогенезе метаболического синдрома // Рус. Мед. журнал. — 2008. — Т. 16, №21. — С. 1439—1444.
14. Berna G., Oliveras-Lopez M.J., Jurado-Ruiz E. et al. Nutri-genetics and nutrigenomics insights into diabetes etiopathogenesis // Nutrients. — 2014. — Vol. 6(11). — P. 5338—5369.
15. Christensen B.C., Houseman E.A., Marsit C.J. et al. Aging and Environmental Exposures Alter Tissue-Specific DNA Methylation Dependent upon CpG Island Context // PLoS Genetics. — 2009. — Vol. 5. — Is. 8. — e1000602.
16. Chu A.Y., Workalemahu T., Paynter N.P. et al. Novel locus including FGF21 is associated with dietary macronutrient intake // Hum. Mol. Genet. — 2013. — Vol. 22, №9. — P. 1895—1902.
17. de Luis D.A., Aller R., Izaola O. et al. Genetic variation in the beta 3-adrenoreceptor gene (Trp64Arg polymorphism) and its influence on anthropometric parameters and insulin resistance under a high monounsaturated versus a high polyunsaturated fat hypocaloric diet // Ann. Nutr. Metab. — 2013. — Vol. 62(4). — P. 303—309.
18. Elliott R., Ong T.J. Nutritional genomics // Br. Med. J. — 2002. — Vol. 324. — P. 1438—1442.
19. Feinberg A.P. Genome-scale approaches to the epigenetics of common human disease // Virchows Arch. — 2010. — Vol. 456. — P. 13—21.
20. Fenech M., El-Sohemy A., Cahill L. et al. Nutrigenetics and nutrigenomics: viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice // J. Nutrigenet. Nutrigenomics. — 2011. — Vol. 4(2). — P. 69—89.
21. Frazier-Wood A.C. Dietary Patterns, Genes, and Health: Challenges and Obstacles to be Overcome // Curr. Nutr. Rep. — 2015. — Vol. 4. — P. 82—87.
22. Hancock A.M., Witonsky D.B., Ehler E. et al. Human adaptation to diet, subsistence, and ecoregion are due to subtle shifts in allele frequency // PNAS. — 2010. — Vol. 107. — Suppl. 2. — P. 8924—8930.
23. Hancock A.M., Witonsky D.B., Gordon A.S. et al. Adaptations to climate in candidate genes for common metabolic disorders // PLoS Genet. — 2008. — Vol. 4. — e32.
24. Hindorff L.A., MacArthur J., Morales J. et al. A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. Available at: www.ge-

nome.gov/ gwastudies. Accessed (дата обращения — февраль 2015 г.).

25. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>. (дата обращения — февраль 2015 г.)

26. Kaput J., Rodriguez R.L. Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era // *Physiol. Genomics*. — 2004. — Vol. 16. — P. 166–177.

27. Kohlmeier M., da Costa K.A., Fisher L.M., Zeisel S.H. Genetic variation of folate-mediated one-carbon transfer pathway predicts susceptibility to choline deficiency in human // *PNAS*. — 2005. — Vol. 102. — P. 16025–16030.

28. Lourenco B.H., Qi L., Willett W.C. et al. FTO genotype, vitamin D status, and weight gain during childhood // *Diabetes*. — 2014. — Vol. 63(2). — P. 808–814.

29. Lucock M.D., Martin C.E., Yates Z.R., Veysey M. Diet and Our Genetic Legacy in the Recent Anthropocene: A Darwinian Perspective to Nutritional Health // *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. — 2014. — Vol. 19(1). — P. 68–83.

30. Major J.M., Yu K., Chung Ch.C. Genome-Wide Association Study Identifies Three Common Variants Associated with Serologic Response to Vitamin E in Men // *J. Nutr.* — 2012. — Vol. 142. — P. 866–871.

31. McKay J.A., Mathers J.C. Diet induced epigenetic changes and their implication for health // *Acta Physiol.* — 2011. — Vol. 202. — P. 103–118.

32. Meyer T.E., Verwoert G.C., Hwang S.J. et al. Genetic Factors for Osteoporosis Consortium; Meta Analysis of Glucose and Insulin Related Traits Consortium. Genome-wide association studies of serum magnesium, potassium, and sodium concentrations identify six Loci influencing serum magnesium levels // *PLoS Genet.* — 2010. — Vol. 6(8). — pii: e1001045.

33. Nuno N.B., Heuberger R. Nutrigenetic associations with cardiovascular disease // *Rev. Cardiovasc. Med.* — 2014. — Vol. 15(3). — P. 217–225.

34. Online Mendelian Inheritance in Man. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/> (дата обращения — февраль 2015 г.).

35. Ortega-Azorin C., Sorli J.V., Asensio E.M. et al. Association of the FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 polymorphism with type 2 diabetes are modulated by diet, being higher when adherence to the Mediterranean diet pattern is low // *Cardiovas. Diabetol.* — 2012. — Vol. 11. — P. 137. (<http://www.cardiab.com/content/11/1/137>).

36. Perez-Martinez P., Lopez-Miranda J., Cruz-Teno C. et al. Adiponectin Gene Variants Are Associated with Insulin Sensitivity in Response to Dietary Fat Consumption in Caucasian Men // *J. Nutr.* — 2008. — Vol. 138. — P. 1609–1614.

37. Perry G.H., Dominy N.J., Claw K.G. et al. Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation // *Nat. Genet.* — 2007. — Vol. 39, №10. — P. 1256–1260.

38. Raj S.M., Pagani L., Romero I.G. et al. A general linear model-based approach for inferring selection to climate // *BMC Genetics*. — 2013. — Vol. 14. — P. 87. <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/14/87/>.

39. Relton C.L., Smith G.D. Epigenetic Epidemiology of common complex disease: prospects for prediction, prevention, and treatment // *PLoS Medicine*. — 2010. — Vol. 7, №10. — e1000356.

40. Smith C.E., Tucker K.L., Yiannakouris N. Perilipin Polymorphism Interacts with Dietary Carbohydrates to Modulate Anthropometric Traits in Hispanics of Caribbean Origin // *J. Nutr.* — 2008. — Vol. 138. — P. 1852–1858.

41. Speakman J.R. Evolutionary Perspectives on the Obesity Epidemic: Adaptive, Maladaptive, and Neutral Viewpoints // *Annu. Rev. Nutr.* — 2013. — Vol. 33. — P. 289–317.

42. Stemburgo T., Azevedo M.J., Gross J.L. et al. The rs9939609 polymorphism in the FTO gene is associated with fat and fiber intakes in patients with 2 diabetes // *J. Nutrigenet. Nutrigenom.* — 2013. — Vol. 6(2). — P. 97–106.

43. Tanaka T., Ngwa J.S., van Rooij F.J. et al. Genome-wide meta-analysis of observational studies shows common genetic variants associated with macronutrient intake // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2013. — Vol. 97(6). — P. 1395–1402.

44. Thompson E.E., Kuttub-Boulos H., Witonsky D. et al. CYP3A variation and the evolution of salt-sensitivity variants // *Am. J. Hum. Genet.* — 2004. — Vol. 75, №6. — P. 1059–1069.

45. Young J.H., Chang Y.P., Kim J.D. et al. Differential susceptibility to hypertension is due to selection during the out-of-Africa expansion // *PLoS Genet.* — 2005. — Vol. 1, №6. — e82.

46. Zeisel S.H. Nutrigenomics and metabolomics will change clinical nutrition and public health practice: insights from studies on dietary requirements for choline // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2007. — Vol. 86. — P. 542–548.

47. Zhang Y., De S., Garne J.R. et al. Systematic analysis, comparison, and integration of disease based human genetic association data and mouse genetic phenotypic information // *BMC Medical Genomics*. — 2010. — Vol. 3 (1). <http://www.biomedcentral.com/1755-8794/3/1>

The role of genetic markers and nutrients in the development of common diseases

Kucher A.N.

Research Institute of Medical Genetics, 10 Nab. Ushaiki, Tomsk 634050, Russia aksana.kucher@medgenetics.ru
National Research Tomsk State University, 36 Lenin Prospekt, Tomsk, 634050, Russia

The review discusses the relationship of genetic markers and nutrients regarding their importance for the development of common diseases. The article gives examples of genetically determined individual differences in the level of a number of nutrients; involvement of nutrients in the metabolic pathways (particularly in folate-dependent one-carbon metabolism pathway) and in the function of different genes; as well as data on associations of nutrients and genes involved in their regulation with diseases of multifactorial nature.

Key words: genes, nutrients, genetic association, nutrigenomics, common diseases

Применение метода микроматричной сравнительной геномной гибридизации в пренатальной диагностике*

Каретникова Н.А.¹, Екимов А.Н.¹, Баранова Е.Е.^{1,2}, Бахарев В.А.¹, Трофимов Д.Ю.¹, Гус А.И.¹

¹ — ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Москва, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, e-mail: n_karetnikova@oparina4.ru

² — ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д.2/1

Представлен собственный опыт применения метода микроматричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH) при обследовании плодов с увеличением толщины воротникового пространства и нормальным кариотипом в I триместре беременности. В 8,3% наблюдений были выявлены патогенные и вероятно патогенные микрохромосомные изменения (CNV), одно из которых было представлено редким синдромом микроделеции 13q. Беременность с данной патологией сопровождалась тяжёлыми пороками развития плода и была прервана. Метод aCGH может являться существенным дополнением к классической цитогенетике, а в ряде случаев выступать его альтернативой.

Ключевые слова: микроматричная сравнительная геномная гибридизация (aCGH), пренатальная диагностика, кариотип плода, хромосомная патология, вариации числа копий ДНК (copy number variation — CNV)

Введение

Исследование кариотипа плода в настоящее время является основным методом диагностики хромосомной патологии. Однако стандартный цитогенетический анализ имеет ряд ограничений, обусловленных разрешающей способностью оптического прибора, квалификацией специалиста, характером патологических изменений (например, микроделетций) и др. Поэтому для повышения эффективности пренатальной диагностики назрела необходимость использования дополнительного арсенала современных методов. В первую очередь к ним относят молекулярно-генетические, с помощью которых можно выявлять микрохромосомные аномалии. В настоящее время в мире основным методом их определения является aCGH. Он позволяет повысить разрешение цитогенетического анализа примерно в 20 раз и установить избыток или недостаток генетического материала размером ≥ 400 т. п. н. [1]. Частота патогенных микрохромосомных аномалий в 11–14 недель беременности у плодов с увеличенным размером воротниковой области при нормальном кариотипе колеблется от 1 до 5% [2, 3]. Это указывает на высокую чувствительность aCGH в обнаружении микрохромосомного дисбаланса. Колебания значений частоты микрохромосомных аномалий могут быть обусловлены малым размером выборки и особенностями её формирования. В то же время существует и иная точка зрения, согласно которой увеличение воротниковой области плода при отсутствии у него пороков развития по данным УЗИ не связано с микрохромосомными аномалиями [4].

В связи с этим, целью исследования являлось определение диагностической значимости aCGH при увеличении воротниковой области плода с нормальным кариотипом.

Материал и методы

Обследованы 57 женщин в сроке беременности 11–15 недель. У всех пациенток были исследованы ворсины хориона или ткани плаценты. Показанием к проведению обследования было наличие у плода увеличения воротниковой области по данным УЗИ, изолированного или в сочетании с пороками развития — основная группа ($n = 36$). Контрольная группа была представлена 21 наблюдением, где супруги являлись носителями хромосомных или моногенных нарушений. Полученный материал анализировали цитогенетическим и молекулярно-генетическим методами. Цитогенетический анализ включал исследование кариотипа по стандартной методике с использованием G-окрашивания [5]. Молекулярно-генетическое исследование проводили методом aCGH. Подготовку образцов осуществляли в соответствии с протоколом производителя. Выделение ДНК из полученного материала проводили с использованием набора InvitrogenPureLink® Genomic DNA Mini-Kit (США). Полногеномную гибридизацию образцов ДНК выполняли на микрочипах SurePrint G3 Human CGH MicroarrayKit, 8x60K, (Agilent, США). Для обработки данных использовали программу Cytogenomics (Agilent, США). Результаты оценивали с учётом рекомендаций Американского колледжа медицинской гене-

* Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

тики [6]. Согласно рекомендациям, обнаруженные вариации числа копий ДНК (copy number variation — CNV) определяли как доброкачественные, патогенные и с неопределённой клинической значимостью. К патогенным относили критические регионы, описанные в базах данных клинически значимых CNV. Эта категория включала большие CNV (размер от 1 млн п.н.), отвечающие за микроделеционные и микродупликационные синдромы. CNV с неопределённой клинической значимостью подразделяли на вероятно патогенные и вероятно доброкачественные. Вероятно патогенные (likely pathogenic) — CNV, ранее не описанные в базах данных как патогенные, точки разрывов в которых соответствует генам, повреждение которых может привести к определённой клинической картине. Доброкачественные изменения (benign) были описаны в базах данных как доброкачественный вариант, который присутствует не менее, чем у 1% общей популяции. Однако на представленность некоторых CNV могут оказывать влияние популяционные особенности, например, некоторые CNV, встречающиеся в Российской Федерации практически отсутствуют в большинстве зарубежных баз данных. Поэтому на базе Центра создана собственная база CNV из 247 клинически охарактеризованных образцов, которая постоянно пополняется.

Результаты

В опытной группе у 16 женщин (44,5%) плод имел хромосомную патологию и у 20 (55,5%) — нормальный кариотип. Хромосомная патология включала: трисомию по хромосоме 21 — 10 наблюдений, трисомию по хромосоме 18 — 2, трисомию по хромосоме 13 — 1, моносомию и трисомию по X-хромосоме — 2 и 1 соответственно. Результаты, полученные цитогенетическим и молекулярно-генетическим методами, были идентичны.

В группе сравнения у плода женщины-носительницы робертсоновской транслокации 45,XX,der(13;14);(q10;q10)

диагностирован кариотип, аналогичный материнскому. Методом aCGH хромосомная перестройка не была обнаружена.

Далее рассматривали CNV при нормальном кариотипе плода. В контрольной группе были выявлены только доброкачественные и вероятно доброкачественные изменения. В опытной группе у плодов трёх пациенток (8%) определены CNV, охарактеризованные как патогенные и вероятно патогенные (таблица). При статистической обработке результатов достоверной разницы между группами выявлено не было ($\chi^2 = 1,85$; $p = 0,1741$).

Приводим подробное описание этих наблюдений.

У плода пациентки 34 лет обнаружена дупликация длинного плеча 10-й хромосомы, вероятно патогенный вариант (рисунок). Помимо дупликации выявлена частичная моносомия по длинному плечу хромосомы 13 — редкий микроделеционный синдром 13q (патогенный вариант) (рисунок).

У женщины 30 лет по результатам aCGH у плода была выявлена делеция длинного плеча хромосомы 14, охарактеризованная как вероятно патогенная. В область делеции включены следующие OMIM-аннотированные гены (Online Mendelian Inheritance in Man): *HECTD1*, *COCH*, *AP4S1*, *STRN3*, *SCFD1*, *HEATR5A* и *MIR624*, из которых один — (*COCH*) — ассоциирован с аутосомно-доминантной несиндромальной прогрессирующей нейросенсорной тугоухостью, обусловленной с вестибулярной дисфункцией.

У плода из несостоявшейся двойни женщины 32 лет, обследуемого по поводу гигромы шеи была найдена делеция короткого плеча 1-й хромосомы, охарактеризованная как вероятно патогенная. В базе данных NCBI подобная делеция не описана. Область делеции затрагивает OMIM-аннотированный ген *SLC16A1* (OMIM 600682), при дефектах которого описаны аутосомно-доминантные синдромы, характеризующиеся, в целом, мягким клиническим фенотипом [7, 8].

Таблица

Результаты обследования женщин при наличии плодов с патогенными и вероятно патогенными CNV

Возраст пациентки (лет)	Срок беременности (нед.)	Данные УЗИ	Кариотип плода	Результат aCGH
34	13—14	Размер воротниковой области — 2,9 мм, 2-й контур головки, отек шеи, сглаженный профиль, реверсный кровоток	46,XX	10q26.11q26.3(120 678 170-135 404 523)x3, Размер: 15 млн п.н., вероятно патогенная 13q31.3q34(93 390 362-115 059 020)x1, Размер: 22 млн п.н., патогенная
30	14	Угроза прерывания, величина воротниковой области — 7,0 мм	46,ХУ	14q12(31 171 531-31 858 468)x1, 687 т.п.н., вероятно патогенная
32	14	Несостоявшаяся двойня, гигрома шеи d — 0,7 см	46,ХУ	1p13.2(113 456 266-113 474 655)x1, 19 т.п.н., вероятно патогенная

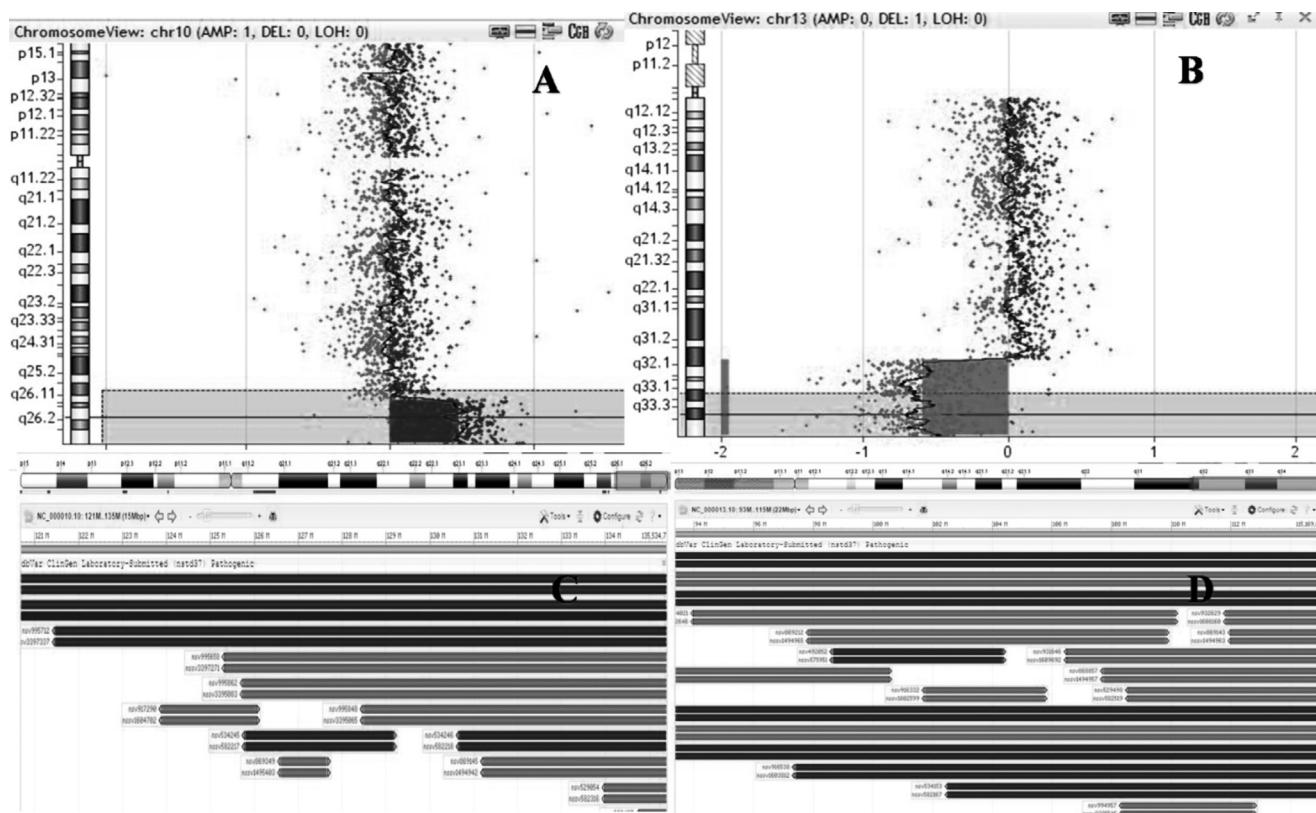
Обсуждение

Наиболее эффективным инструментом предотвращения рождения детей с хромосомной патологией до настоящего времени является инвазивная пренатальная диагностика. Для анализа полученного при инвазивной диагностике материала ранее в клинике был доступен только ограниченный спектр методов: «классическое» кариотипирование путём GTG-окрашивания, позволяющее определить изменения на уровне целых хромосом или выпадение/добавление их крупных фрагментов (не менее 6–9 млн п.н.), SNP-анализ, при котором можно выявлять изменения только определённых 1–2 п.н. в геноме, FISH-диагностика таргетных (строго определённых) делеций или дупликаций с использованием специальных зондов и метод QF-PCR для детекции количественных нарушений ДНК (анеуплоидий) по ограниченному числу хромосом [9]. Однако, помимо количественных нарушений хромосом, в развитии пороков развития и задержке психомоторного развития ребёнка играют роль и микрохромосомные аномалии — микродупликации и микроделеции участков хромосом, которые не обнаруживаются при рутинном цитогенетическом исследовании [10]. В настоящее время стандартом

технологии, позволяющей выявлять микрохромосомные аномалии, является aCGH [1].

Увеличение воротниковой области плода является «золотым стандартом» при формировании группы риска по хромосомным аномалиям плода. Однако, по данным литературы, чувствительность стандартного кариотипирования при увеличении толщины воротникового пространства у плода недостаточна, так как пропускается целый ряд микрохромосомных синдромов [11–13]. В связи с этим предлагают использовать метод aCGH. В связи с ведущейся дискуссией относительно клинической значимости пренатального тестирования на микрохромосомные аномалии при увеличении воротниковой области у плода было решено оценить клиническую значимость метода aCGH при наличии у плода этой особенности фенотипа и нормального кариотипа.

Методом aCGH в 3,8% (у трёх беременных) обнаружены CNV, классифицированные как патогенные и вероятно патогенные, что в целом соответствует данным литературы [14]. Достоверной разницы с группой контроля выявлено не было, вероятно, из-за малого объёма выборки. У плода одной беременной женщины был выявлен ранее описанный редкий микроделеции-



Результаты молекулярно-генетического обследования плода пациентки 34 лет.

А) Дупликация 10q26.11q26.3(120 678 170-135 404 523)x3 в программе Agilent CytoGenomics Edition2.7.22.0;

В) в базе <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

С) Делеция 13q31.3q34(93 390 362-115 059 020)x1 в программе Agilent CytoGenomics Edition 2.7.22.0;

Д) в базе <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

онный синдром, позднее подтверждённый ультразвуковым исследованием и потребовавший прерывания беременности.

У другой пациентки, диагностированная в области длинного плеча 14-й хромосомы делеция, была оценена как вероятно патогенная, поскольку один из находящихся в ней генов — *COCH* ассоциирован с вестибулярной дисфункцией, приводящей к прогрессирующей нейросенсорной тугоухости. По данным литературы, нарушение слуха у пациентов с данной формой тугоухости чаще происходит между 20 и 30 годами, начиная с потери восприятия высоких частот, и существенно прогрессирует к 40—50 годам [14]. Вторая вероятно патогенная делеция была обнаружена в области короткого плеча 1-й хромосомы — 3-е наблюдение. OMIM-аннотированный ген *SLC16A1* (600682), который затрагивает зона делеции, по данным литературы, сопряжён с ауто-сочно-доминантными синдромами, характеризующимися, в целом, мягким клиническим фенотипом [7, 8]. Прерывание беременности в ситуациях с вероятно патогенными изменениями не требуется.

У метода aCGH имеется ряд особенностей. Ограничением данного метода является невозможность выявлять сбалансированные хромосомные перестройки, полиплоидию, однородительские дисомии (ОРД), мозаицизм. Это подтверждено и результатами настоящего исследования: хробертсоновская транслокация у плода не обнаружена, так как кариотип был сбалансированным. Кроме того, имеется вероятность выявить микрохромосомные аномалии с неопределённой клинической значимостью. Сообщение семье таких результатов обследования плода требует особой квалификации и умения использовать психотерапевтический подход к медико-генетическому консультированию врачами-генетиками, консультирующими пациентов для недопущения повышения тревожности беременной женщины. Рекомендации по медико-генетическому консультированию пациентов, в случае пренатального тестирования методом aCGH, разработаны комитетом по генетике Американского колледжа акушеров и гинекологов [14].

Несмотря на это, современные молекулярно-генетические методы, несомненно, будут занимать все большее место в клинике. Американский Конгресс акушеров и гинекологов (ACOG) рекомендовал проводить диагностику методом aCGH в случаях любых изменений, выявляемых при ультразвуковой диагностике, как дополнение к классическому цитогенетическому методу. В некоторых странах aCGH уже является тестом первой линии при выявлении у плода пороков развития и/или маркёров хромосомных аномалий [15], позволяющим точнее, чем классическое кариотипирование, давать прогноз жизни и здоровья детей [16]. Метод aCGH может снимать некото-

рые ограничения стандартного кариотипирования, являться существенным к нему дополнением, а также в ряде случаев выступать его альтернативой.

Список литературы

1. Munne S. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy and translocations using array comparative genomic hybridization // *Curr. Genomics*. — 2013. — 13(6). — P. 463—470.
2. Leung T.Y. et al. Identification of submicroscopic chromosomal aberrations in fetuses with increased nuchal translucency and apparently normal karyotype // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* — 2011. — 38(3). — P. 314—319.
3. Lichtenbelt K.D., Knoers N.V., Schuring-Blom G.H. From karyotyping to array-CGH in prenatal diagnosis // *Cytogenet. Genome Res.* — 2011. — 135(3—4). — P. 241—250.
4. Huang J. et al. Is high fetal nuchal translucency associated with submicroscopic chromosomal abnormalities on array CGH? // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* — 2014. — 43(6). — P. 620—624.
5. Moorhead P.S. et al. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood // *Exp. Cell Res.* — 1960. — 20. — P. 613—616.
6. Kearney H.M. et al. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants // *Genet. Med.* — 2011. — 13(7). — P. 680—685.
7. Otonkoski T. et al. Physical exercise-induced hyperinsulinemic hypoglycemia is an autosomal-dominant trait characterized by abnormal pyruvate-induced insulin release // *Diabetes*. — 2003. — 52(1). — P. 199—204.
8. Merezinskaya N. et al. Mutations in MCT1 cDNA in patients with symptomatic deficiency in lactate transport // *Muscle Nerve*. — 2000. — 23(1). — P. 90—97.
9. Hulten M.A., Dhanjal S., Pertl B. Rapid and simple prenatal diagnosis of common chromosome disorders: advantages and disadvantages of the molecular methods FISH and QF-PCR // *Reproduction*. — 2003. — 126(3). — P. 279—297.
10. Cheung S.W. et al. Development and validation of a CGH microarray for clinical cytogenetic diagnosis // *Genet. Me.* — 2005. — 7(6). — P. 422—432.
11. Shaffer L.G., Bejjani B.A. A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays // *Hum. Reprod. Update*. — 2004. — 10(3). — P. 221—226.
12. Frol'kis A.V. [Functional dumping syndrome] // *Sov Med*. — 1990(9). — P. 83—88.
13. Chen C.P. et al., Partial monosomy 13q (13q21.32—>qter) and partial trisomy 8p (8p1—>pter) presenting with anencephaly and increased nuchal translucency: array comparative genomic hybridization characterization // *Taiwan J. Obstet. Gynecol.* — 2011. — 50(2). — P. 205—211.
14. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis // *Obstet. Gynecol.* — 2013. — 122(6). — P. 1374—1377.
15. Zilina O. et al. Chromosomal microarray analysis as a first-tier clinical diagnostic test: Estonian experience // *Mol. Genet. Genomic Med.* — 2014. — 2(2). — P. 166—175.
16. Resta N., Memo L. Chromosomal microarray (CMA) analysis in infants with congenital anomalies: when is it really helpful? // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* — 2012. — 25 Suppl. 4. — P. 124—126.

The application of array comparative genomic hybridization (aCGH) technology for prenatal diagnosis

Karetnikova N.A.¹, Ekimov A.N.¹, Baranova E.E.^{1,2}, Bakharev V.A.¹, Trofimov D.Ju.¹, Gus A.I.¹

¹ — Federal State Budget Institution «Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology», Ministry of Health. Oparin street, 4, Moscow, Russian Federation, 117997, e-mail: n_karetnikova@oparina4.ru

² — Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health. Barricadnaya street, 2/1, Moscow, 125993

The article presents our experience with the method of array comparative genomic hybridization (aCGH) during examining fetuses with increasing of the nuchal translucency and normal karyotype in the I trimester of pregnancy. On the basis of recommended algorithms pathogenic and likely pathogenic copy number variation (CNV) were identified in 8.3% cases. One CNV was presented as a rare 13q deletion syndrome. Pregnancy with this syndrome was terminated due to association with severe malformations of the fetus. CGH method can be applied as an essential complement to standard cytogenetic methods or its alternative in some cases.

Key words: array comparative genomic hybridization (aCGH), prenatal diagnosis, fetal karyotype, chromosomal abnormality, copy number variation (CNV)

Особенности распределения полиморфизма генов *ACE*, *CHIT1*, *PON1*, *SIRT1* и *NOS3* у больных вибрационной болезнью*

Спицын В.А.¹, Кузьмина Л.П.², Макаров С.В.¹, Карапетян М.К.¹,
Попова М.В.¹, Бычкова Л.С.¹, Самохин А.С.¹, Спицына Н.Х.³

¹ — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, 115478, ул. Москворечье, 1. e-mail: ecolab@med-gen.ru

² — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда», Москва

³ — ФГБНУ «Институт этнологии и антропологии им. Н.Н.Миклухо-Маклая», Москва

Представлены результаты молекулярно-генетического исследования полиморфизма в генах *ACE*, *CHIT1*, *SIRT1*, *NOS3* и *PON1* в группе больных вибрационной болезнью (ВБ) в сравнении с контрольной выборкой лиц преимущественно русской национальности. Среди больных ВБ установлено подобие в распределении частот генов *ACE*, *CHIT1*, *NOS3* с распространением таковых у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Получена информация о статистически значимых различиях в частотах полиморфных вариантов генов *ACE* и *NOS3* между когортами больных ВБ и контролем. Замечено своеобразие в частотах генотипов *CHIT1* у пациентов с ВБ. Не подтверждена ранее установленная связь между ВБ и генотипами *SIRT1*.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, *ACE*, *CHIT1*, *SIRT1*, *NOS3*, *PON1*, вибрационная болезнь

Введение

Наличие в производственных процессах таких технологических эффектов, как вибрация, электромагнитные волны, шум, усиливает влияние неблагоприятных факторов на здоровье лиц, в них занятых. Заболевания, обусловленные подобными факторами, отличаются своеобразием патологических процессов, полисиндромностью и наличием специфических и неспецифических симптомов, усложняющих диагностику. Систематическое воздействие вибрации на организм приводит к нарушению систем поддержания гомеостаза и развитию патологических состояний.

ВБ — профессиональное заболевание, развивающееся при воздействии ритмических колебаний на организм человека. Данное заболевание занимает одно из ведущих мест в профессиональной патологии. ВБ может рассматриваться в качестве модели системного первично-дистрофического процесса, обусловленного нарушением универсальных механизмов гомеостаза [3, 5]. Это заболевание может сопровождаться нарушениями нейрогормональной регуляции, микроциркуляции, тканевого и клеточного метаболизма [3, 5, 12]. Высоко-частотная вибрация оказывает сосудосуживающее воздействие, вплоть до проявления симптомов спазма сосудов. В зависимости от степени вибрационной чувствительности человека меняется и интенсивность выраженности спазма. С течением времени в организме развиваются изменения дистрофического характера. В целом, в основе вибрационной болезни лежит целый ряд нер-

вных и рефлекторных нарушений в системах, регулирующих тонус сосудов [2, 3]. Вибрационная болезнь в зависимости от степени выраженности действующей вибрации характеризуется тремя формами патологического процесса [2]:

- вибрационная болезнь вследствие воздействия локальной вибрации;
- вибрационная болезнь вследствие воздействия смешанной вибрации;
- вибрационная болезнь вследствие воздействия общей вибрации.

По тяжести заболевания выделяются 4 стадии заболевания: начальная, умеренно-выраженная, выраженная и генерализованная. При этом в патогенезе ВБ различают 7 синдромов: ангиодистонический (вегетососудистые нарушения в конечностях, нарушение капиллярного кровообращения), ангиоспастический (синдром «белых пальцев»), синдром вегетативного полиневрита, невротический, вегетомиофасцит, дизэнцефальный и вестибулярный.

К настоящему времени существуют лишь единичные публикации, касающиеся изучения ассоциаций генетических полиморфизмов с ВБ. В работе В.В. Карповой [7] представлены характеристики распределения серологических и генетико-биохимических маркёров при ВБ. При анализе групп крови AB0, Rh, MN, а также сывороточных маркёров HP и GC специфического для больных ВБ распределения маркёров отмечено не было. Исследование В.В. Переверзевой [10] касалось изучения

* Авторы выражают благодарность д.м.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики человека ФГБНУ Института биохимии и генетики УНЦ РАН Джемилевой Лиле Усеиновне за помощь в определении генотипов *SIRT1*. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований по проекту №14-06-00422а.

HLA-антигенов при ВБ у шахтеров Магаданской области, страдающих ВБ. У больных ВБ наблюдалось отсутствие антигенов Cw1 и B22, и при этом достоверно чаще встречался фактор B16. В рассматриваемом аспекте наиболее интересным представляется обнаружение ассоциации между вариантом ВБ — синдрома «белых пальцев» (VWF) и одним из полиморфизмов в гене сиртуина-1 (*SIRT1*) [20]. Оказалось, что только 4 из 113 полиморфизмов определяют экспрессию гена *SIRT1* и только аллель G связан с развитием синдрома VWF. Вариант ВБ — VWF, или болезнь псевдо-Рейно, — является сосудодистастическим заболеванием рук, которое выражается в нарушении кровоснабжения и иннервации пальцев рук. Коллектив авторов [20] показал, что в выборке больных однонуклеотидный полиморфизм A2191G в 9-м экзоне характеризуется следующими частотами: A/A — 70,5%, A/G — 29,5% и G/G — 0%, тогда как в популяционном контроле получены значения частот генотипов *SIRT1*: A/A — 99,7%; A/G — 0,3%, G/G — 0,5% и различия между больными ВБ и контролем достоверны. Сиртуин-1 регулирует активацию других генов — он вовлечен в регуляцию эндотелиальной синтазы окиси азота (*NOS3*).

Целью настоящей работы было определение роли генетической компоненты и возможного вклада полиморфизма генов *ACE*, *CHIT1*, *SIRT1*, *NOS3* и *PON1* в развитие ВБ.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили 96 образцов крови больных ВБ из ФГБНУ «НИИ медицины труда». В качестве контрольных выборок использовался

материал лаборатории экологической генетики ФГБНУ «МГНЦ» из популяционных выборок от лиц преимущественно восточнославянского происхождения. Сбор биоматериала одобренный Этическим комитетом ФГБНУ «МГНЦ» осуществлялся с получением информированного согласия от каждого обследуемого на участие в исследовании. Для выделения ДНК из периферической крови использовался набор «ДНК-сорб-В» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора) в соответствии с рекомендациями производителя.

Генотипирование по инсерционно-делеционным полиморфизмам в генах *ACE* (rs1799752), *CHIT1* (rs3831317) и *NOS3* (27-п.н.-повтор в 4 интроне) производилось методом PCR-AFLP, по *MboI*-полиморфным вариантам в локусе *PON1* (rs662) — методом PCR-RFLP. Для детекции полиморфного варианта гена *SIRT1* (rs35224060) была подобрана система с тремя аллельспецифическими праймерами (*SIRT_D* 5'-TACAAGTACAGAAATAATGAAGTT-3' и два модифицированных -*SIRT_UpA* 5'-ATCAAGAGGCAATTAATGAATCTA-3' и *SIRT_UpG* 5'-ATCAAGAGGCAATTAATGAAGGTG-3'). Амплификацию *NOS3* проводили на приборе C1000 (Bio-Rad) в течение 33 циклов в 25 мкл реакционной смеси, содержащей: 0,1–100 нг ДНК; 0,2 мМ каждого dNTP; по 1 мкМ каждого праймера (5'-CTATGGTAGTGCCTTGGCTGGAGG-3' и 5'-ACCGCCCAGGGAAGCTCCGCT-3'); 0,5 ед. Taq-полимеразы, 2,5 мкл 10-кратного буфера DreamTaq Green (Thermo Fisher Scientific Inc.). Амплифицированные фрагменты (169 и 196 п.н. — соответствующие 4а и 4б аллелям) разделяли методом электрофореза в 3%-ном агарозном геле с последующей визуализацией в УФ свете. Детальные опи-

Численности генотипов генов *ACE*, *CHIT1*, *PON1*, *SIRT1* и *NOS3* в выборках больных вибрационной болезнью (ВБ) и в контроле

Таблица 1

Ген	Генотип	Больные ВБ			Контроль		
		No	Ne	χ^2_{HW}	No	Ne	χ^2_{HW}
<i>ACE</i> *	DD	36	32,09	2,6827 d.f. = 1 p > 0,05	57	63,50	2,7342 d.f. = 1 p > 0,05
	ID	39	46,83		137	123,98	
	II	21	17,09		54	60,51	
<i>CHIT1</i>	TT	56	56,27	0,0242 d.f. = 1 p > 0,05	73	74,73	1,5507 d.f. = 1 p > 0,05
	TH	35	34,45		32	28,55	
	HH	5	5,27		1	2,73	
<i>PON1</i>	QQ	36	34,80	0,4949 d.f. = 1 p > 0,05	122	126,63	3,1274 d.f. = 1 p > 0,05
	QR	26	28,41		86	76,74	
	RR	7	5,75		7	11,63	
<i>SIRT1</i>	AA	96			138		
	AG	0			0		
	GG	0			0		
<i>NOS3</i>	BB	63	61,60	0,8356 d.f. = 1 p > 0,05	151	150,32	0,2510 d.f. = 1 p > 0,05
	AB	27	29,79		36	37,36	
	AA	5	3,60		3	2,32	

Примечание. No — наблюдаемое и Ne — ожидаемое число лиц; — χ^2 по Харди–Вайнбергу; * $\chi^2 = 8,285$ — критерий достоверности различий по генотипам между группами ВБ и контроля по гену *ACE* (критическое значение 5% доверительного интервала = 5,991 и d.f. = 2).

Таблица 2

**Частоты аллелей генов *ACE*, *CHIT1*, *PON1*, *SIRT1* и *NOS3*
в выборках больных вибрационной болезнью (ВБ) и в контроле**

Ген	Аллель	Больные ВБ	Контроль
<i>ACE</i>	<i>ACE</i> *D	0,5781 ± 0,0356	0,5060 ± 0,0224
	<i>ACE</i> *I	0,4219 ± 0,0356	0,4940 ± 0,0224
<i>CHIT1</i>	<i>CHIT1</i> *T	0,7656 ± 0,0306	0,8396 ± 0,0252
	<i>CHIT1</i> *H	0,2344 ± 0,0306	0,1604 ± 0,0252
<i>PON1</i>	<i>PON1</i> *Q	0,7101 ± 0,0386	0,7674 ± 0,0204
	<i>PON1</i> *R	0,2899 ± 0,0386	0,2326 ± 0,0204
<i>SIRT1</i>	<i>SIRT1</i> *A	1,0000	1,0000
	<i>SIRT1</i> *G	0,0000	0,0000
<i>NOS3</i> #	<i>NOS3</i> *4B	0,8053 ± 0,0287	0,8895 ± 0,0161
	<i>NOS3</i> *4A	0,1947 ± 0,0287	0,1105 ± 0,0161

Примечание. # — статистически значимые различия в частотах аллелей *NOS3**4B и *NOS3**4A между когортой больных ВБ и контролем при $\chi^2 = 5,39$ при d.f. = 1

сания процедур для генов *ACE*, *CHIT1*, и *PON1* изложены предыдущих публикациях [6, 8, 9].

Статистическая обработка проводилась с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc.). Проверка на достоверность различий частот встречаемости генотипов в исследуемых группах осуществлялась посредством программы «Тест».

Результаты и обсуждение

Распределение генотипов генов *ACE*, *CHIT1*, *SIRT1*, *NOS3*, *PON1* в выборках больных ВБ и в контроле представлено в табл. 1. Во всех изученных локусах частоты встречаемости генотипов соответствовали равновесным по Харди—Вайнбергу.

В табл. 2 представлены частоты аллелей по генам *ACE*, *CHIT1*, *PON1*, *SIRT1* и *NOS3* в группах больных ВБ и в контроле.

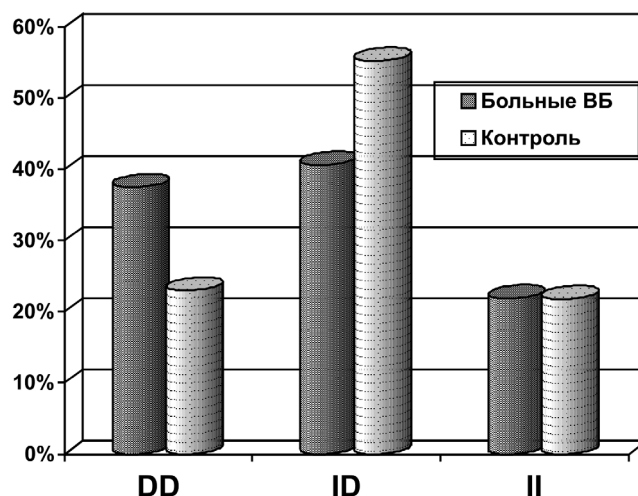
Обращает на себя внимание наличие статистически значимых различий в частотах генотипов и аллелей *ACE* между больными ВБ и контролем (в табл. 1, 2 и на рисунке при $\chi^2 = 8,285$, d.f. = 2). Среди больных ВБ статистически значимо преобладает гомозиготный генотип *ACE* DD (37,5%) при дефиците гетерозигот *ACE* ID (49,6%). В контроле частоты *ACE* DD и *ACE* ID составляют соответственно 23,00% и 55,2% (рисунок).

При идентификации ID (инсерционно-делеционного) полиморфизма гена *ACE* наличие делеции, как правило, ассоциируется с развитием сердечно-сосудистых заболеваний, таких, как эссенциальная гипертензия, инфаркт миокарда, гипертрофия левого желудочка, ишемическая болезнь сердца, диабетическая нефропатия [15, 18, 19 и др.]. При этом следует подчеркнуть, что раннее клиническое проявление ВБ также связано с ранним появлением симптомов изменения характера сердечной деятельности. У пациентов с ВБ отмечается увеличение общей лабильности сердечного ритма. Особенностью коронарного кровообращения у больных ВБ является наличие безболевого ишемии миокарда в 39%

случаев, что может свидетельствовать о поражении мелких коронарных сосудов. При ВБ нарушение функционального состояния миокарда сопровождается диастолической дисфункцией при сохранении систолической функции. У изученных больных с ВБ регистрируются неспецифические изменения ЭКГ, характерные для диффузно-дистрофических изменений миокарда [1].

Как было упомянуто выше, до настоящего времени однонуклеотидный полиморфизм A2191G гена *SIRT1* являлся единственным маркером, ассоциированным с синдромом VWF, являющимся разновидностью ВБ.

Наши исследования не подтвердили связи полиморфизма A2191G гена *SIRT1* с развитием ВБ (табл. 1 и 2). Это обстоятельство может быть обусловлено сложностью патогенеза ВБ и разнообразием её клинического проявления. Но, учитывая наличие функциональной связи *SIRT1* с *NOS3*, мы сочли целесообразным исследовать полиморфизм в гене *NOS3*.



Распределение частот генотипов *ACE* в группе больных вибрационной болезнью и контроле.

В гене *NOS3* мы рассмотрели полиморфизм, обусловленный варьирующим числом tandemных повторов (VNTR) длиной 27 пар нуклеотидов (минисателлит в 4-м интроне). Для VNTR-полиморфизма гена *NOS3* идентифицировано до пяти аллелей с числом повторов от 2 до 6. С преобладающей частотой в популяциях встречаются аллели с 4-мя — (аллель **a**) и 5-ю повторами (аллель **b**). Была также установлена ассоциация VNTR-полиморфизма гена *NOS3* с уровнем окиси азота (NO) в крови. Ген *NOS3* кодирует фермент — синтазу окиси азота, функцией которого является выработка NO. Окись азота является одним из наиболее важных биологических медиаторов, который вовлечен во множество физиологических и патофизиологических процессов. В частности, NO участвует в реализации таких физиологических функций, как регуляция тонуса гладкой мускулатуры сосудов, регуляция роста сосудов и др. Влияние аллеля 4a гена *NOS3* связано с нарушением экспрессии этого гена, что приводит к уменьшению выработки NO. Для данного варианта описаны ассоциации с атеросклерозом, ишемической болезнью сердца и инфарктом миокарда [21, 17, 16, 22]. Установлено, что риск атеросклеротического поражения коронарных артерий повышен при наличии аллеля 4a, который является фактором риска развития артериальной гипертензии. И в нашем случае в выборке больных ВБ превалирует аллель *NOS3**4A с частотой 0.1947 по отношению к контрольной группе, где его доля составляет 0.1105 (при $\chi^2 = 5,39$, d.f. = 1). Таким образом, поражение сердечно-сосудистой системы при ВБ оказалось ассоциированным с наличием аллеля *NOS3**4A.

Ввиду клинической значимости хитотриозидазы-1, возможной связи полиморфизма в гене *CHIT1* с целым рядом патологических состояний, соотношение генотипов и активности хитотриозидазы привлекает пристальное внимание исследователей [13]. Повышенная экспрессия хитотриозидазы у человека рассматривается в качестве одного из показателей атеросклероза [11]. Такие клинические признаки как онемение рук и ног являются одними из наиболее частых проявлений гипестезии. Активность *CHIT1* существенно изменяется в сыворотке крови больных атеросклерозом [14]. Наши данные свидетельствуют о том, что средние величины ферментативной активности хитотриозидазы у субъектов с генотипами ТТ, НТ и НН составили 36,53, 21,74 и 0,33 соответственно [13]. В изученной выборке больных ВБ редкий гомозиготный генотип *CHIT1** НН встретился в 5 раз чаще, чем в популяционном контроле (табл. 1).

Таким образом, установлено подобие в распределении частот полиморфных вариантов генов *ACE*, *CHIT1*, *NOS3* среди больных ВБ с таковым у больных с сердечно-сосудистой патологией, что может свидетельствовать о сходной генетической основе предрасположенности к развитию этих заболеваний. В этом контексте к неблагоприятным факторам, с существенной вероятностью,

можно отнести носительство аллеля *NOS3**4A. Принимая во внимание полиморфность клинической симптоматики ВБ, для определения роли генетической компоненты в её развитии необходимы дальнейшие исследования.

Список литературы

1. Агафонова Т.А. Особенности кардиогемодинамики и некоторых звеньев автономной регуляции кровообращения у больных вибрационной болезнью от воздействия локальной вибрации: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — СПб., 2004. — 24 с.
2. Андреева-Галанина Е.Ц., Дрогичина Э.А., Артамонова В.Г. Вибрационная болезнь. — Л.: 1961.
3. Артамонова В.Г., Колесова Е.Б., Кускова Л.В., Швалева О.В. Некоторые современные аспекты патогенеза вибрационной болезни // Медицина труда и промышленная экология. — 1999. — №2. — С. 1—4.
4. Артамонова В.Г., Мухин В.А. Профессиональные болезни. — М.: Медицина, 2004. — 479 с.
5. Бабанов С.А., Татаровская Н.А. Вибрационная болезнь: современное понимание и дифференциальный диагноз // РМЖ №35 «Избранные лекции для семейных врачей» — 2013 г. — Р. 1777. — http://www.rmj.ru/articles_9109.htm
6. Боровкова Н.П., Макаров С.В., Кузьмина Л.П., Хуснутдинова Э.К., Хусаинова Р.И., Ахметова В.Л., Спицын В.А. Дифференциальная восприимчивость к интоксикации ртутью и свинцом в зависимости от полиморфизма генов апополипротеина Е (APOE), рецептора витамина Д (VDR) и параксоназы I (PON1) при учёте клинико-биохимических показателей // Медицинская генетика. — 2012. — Т. 11, №3. (117). — С. 26—32.
7. Карпова В.В. // В сб. научн. трудов «Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии». — 2004. — Вып. 1. — №3. — С. 29. СибГМУ.
8. Макаров С.В., Негашева М.А., Мильготина А.Б., Пискорская И.В., Бычкова Л.С., Спицын В.А. Полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента, альфа-актина-3 и антропометрические характеристики // Медицинская генетика. — 2007. — Т. 6, №1 (55). — С. 43—47.
9. Макаров С.В., Карапетян М.К., Балинова Н.В., Бец Л.В., Спицын В.А. Инсерционно-делеционный полиморфизм в гене хитотриозидазы (*CHIT1*) в четырех этно-территориальных группах РФ // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. XXIII. АНТРОПОЛОГИЯ. — 2014. — №2. — С. 38—45.
10. Переверзева В.В. Особенности распределения HLA антигенов, генов и гаплотипов у пришлого и коренного населения Северо-востока России: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.б.н. — Томск., 2002. — 24 с.
11. Писарева Е.Е., Гончарова И.А., Тузиков Ф.В. и др. Роль изменений хитотриозидазы в сыворотке крови мышей при лепемии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2014. — Т. 157, №5. — С. 566—570.
12. Профессиональная патология. Национальное руководство / Под ред. Н.Ф. Измерова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011.
13. Спицын В.А., Макаров С.В., Моргулис Н.Б. и др. Ассоциация инсерционно-делеционного полиморфизма в гене *CHIT1* с уровнем активности хитотриозидазы в русской популяции // Медицинская генетика. — 2014. — Т. 13, №1 (139). — С. 3—7.
14. Boot R.G., van Achterberg T.A.E., van Aken B.E. et al. Strong Induction of Members of the Chitinase Family of proteins in Atherosclerosis: chitotriosidase and Human Cartilage gp-39 expres-

sed in lesion macrophages // J. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. — 1999. — Vol. 16, №3. — P. 687–694.

15. Cambein F., Poirier O., Lecert L. et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction // Nature. — 1992. — Vol. 359. — P. 641–644.

16. Matyar S., Attila G., Acarturk E. et al. NOS3 gene intron 4 a/b VNTR polymorphism is a risk factor for coronary artery disease in Southern Turkey // Clin. Chem. Acta. — 2005. — Vol. 354, №1–2. — P. 153–158.

17. Pulkkinen A., Viitanen L., Kareinen A. et al. Intron 4 polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with elevated blood pressure in type 2 diabetic patients with coronary heart disease // J. Mol. Med. — 2000. — Vol. 78, №7. — P. 372–379.

18. Raynolds M.V., Bristow M.R., Bush E.W. et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or

idiopathic dilated cardiomyopathy // Lancet. — 1993. — Vol. 342. — P. 1973–1975.

19. Uemura R., Nakura J., Kohara K., Miki T. Association of ACE I/D polymorphism with cardiovascular risk factors // Hum. Genet. — 2000. — Vol. 107(3). — P. 239–242.

20. Voelter-Mahiknecht S., Roszbach B., Schleithoff C. et al. Sirtuin 1 single nucleotide polymorphism (A2191G) is a diagnostic marker for vibration-induced white finger disease // Clinical Epigenetics. — 2012. — Vol. 4: 18 doi 10. 1186/7083-4-18.

21. Wang X.L., Sim A.S., Badenhop R.F. et al. A smoring-dependent risk risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene // Nat. Med. — 1996. — Vol. 2, №1. — P. 41–45.

22. <http://omim.org/entry/163729>

23. <http://omim.org/entry/604479>

Pattern of the *ACE*, *CHIT1*, *PON1*, *SIRT1* and *NOS3* gene polymorphism distributions in vibration syndrome patients

Spitsyn V.A.¹, Kuzmina L.P.², Makarov S.V.¹, Karapetian M.K.¹, Popova M.V.¹, Bichkovskaya L.S.¹, Samokhin A.S.¹, Spitsyna N.Kh.³

¹ — Federal State Budgetary Institution «Research Centre for Medical Genetics»

² — Federal State Budgetary Institution «Institute of Occupational Medicine»

³ — Federal State Budgetary Institution «Institute of Ethnology and Anthropology»

Results of the molecular-genetic polymorphism study (*ACE*, *CHIT1*, *SIRT1*, *NOS3* and *PON1* genes) in a group of patients suffering from vibration syndrome (VS) are presented. The findings were compared with those obtained from a control group mainly of Russian nationality. Similarities in the frequencies of *ACE*, *CHIT1* and *NOS3* factors were determined between group with VS and cardiovascular pathology patients. We observed significant differences in frequencies of the *ACE* and *NOS3* genetic markers between VS and the control group. A distinctive character of *CHIT1* genotype distribution was observed in patients with VS. The previously described connection between VS and *SIRT1* genotypes frequencies was not confirmed.

Key words: Gene polymorphism, *ACE*, *CHIT1*, *SIRT1*, *NOS3*, *PON1*, vibration syndrome

Ассоциации полиморфных вариантов генов подверженности бронхиальной астме

Бабушкина Н.П.¹, Брагина Е.Ю.¹, Буйкин С.В.¹, Салтыкова И.В.², Назаренко М.С.¹,
Тарасенко Н.В.¹, Кулиш Е.В.¹, Маркова В.В.¹, Половкова О.Г.¹, Кучер А.Н.¹

¹ — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт медицинской генетики»,
Томск, 634050, Набережная р. Ушайки, 10. E-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru

² — ГБОУ ВПО Сибирского государственного медицинского университета Минздрава РФ,
Томск, 634050, ул. Московский тракт, 2

Бронхиальная астма (БА) является клинически гетерогенной многофакторной патологией с существенной наследственной компонентой в этиологии, которая до конца не установлена. Целью настоящего исследования было изучение ассоциаций полиморфизма плеiotропных генов с БА и её эндофенотипами. Проанализировано 23 полиморфных варианта 17 генов. Выявлены ассоциации с астмой и её эндофенотипами девяти генов (*IL12A*, *LTA*, *TNF*, *TNFRSF1B*, *IFNGR2*, *NOS3*, *AGTR1*, *GNB3*, *PPP3R1*); показано, что в развитии изолированной БА и её сочетаний с сопутствующими заболеваниями ассоциированные гены вовлечены в различной степени. Продукты большинства генов, для которых установлены ассоциации с БА и её эндофенотипами, участвуют в реализации двух основных механизмов патогенеза БА: воспаления и бронхоспазма. Установлено, что клинические фенотипы лёгкой, средней и тяжёлой форм БА имеют свои отличительные генетические особенности. Для генов *PPP3R1*, *TNFRSF1B*, *GNB3*, *AGTR1* ассоциативное исследование с БА проведено впервые.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, бронхиальная астма, эндофенотипы

Введение

БА является клинически гетерогенной многофакторной патологией, характеризующейся, в первую очередь, обратимой бронхиальной обструкцией и повышенным уровнем IgE. Заболевание может развиваться в любом возрасте, но в большинстве случаев первые симптомы наблюдаются ещё в детстве. Многочисленные эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что на развитие и формирование особенностей клинического течения аллергических заболеваний значительное влияние оказывает среда обитания (микробное окружение, особенности питания, курение, воздушные поллютанты, аллергены и многое другое). Существенный вклад в развитие БА вносит наследственная компонента, и многочисленные полногеномные исследования, посвящённые данной проблеме, позволили идентифицировать маркёры, ассоциированные с основными фенотипическими проявлениями, совокупность которых реализует патологический фенотип БА. Так, было установлено, что немаловажную роль в подверженности БА играют гены врождённого иммунного ответа, дефекты в которых приводят к нарушению активации и дифференцировки Th2 клеток [13]. Вместе с тем, спектр генов подверженности БА до сих пор не может считаться полным, поскольку БА, как и другие сложные фенотипы, является результатом комплекса биохимических и морфологических преобразований, затрагивающих разные звенья их патогенеза [12]. В то же время, наличие значительной клинической гетерогенности БА позволяет предположить возможность того, что за патологическим фенотипом скрывается несколько различных заболеваний [29], что также вносит опре-

делённые сложности при исследовании генов подверженности БА. Вследствие этого, одним из наиболее актуальных направлений исследования генетической основы БА является оценка вклада различных генетических вариантов в риск развития конкретных форм заболевания, а также выявление их вовлечённости в степень проявления клинических признаков болезни. В настоящее время очерчен круг генов с ярко выраженным плеiotропным эффектом, продукты которых задействованы во многих биохимических путях в клетках многих тканей, что определяет их вовлечённость в формирование подверженности широкому спектру многофакторных заболеваний (МФЗ) различной этиологии. Целью настоящего исследования было изучение ассоциаций полиморфизма плеiotропных генов с бронхиальной астмой и её эндофенотипами.

Материалы и методы

Материалом для исследования являлись ДНК и клинические данные из Биобанка ФГБНУ «НИИ медицинской генетики». Выборка больных БА составила 150 человек (средний возраст $39,27 \pm 12,31$ года), из которых 114 женщин, 36 мужчин. Диагноз *бронхиальная астма* ставился в медицинских учреждениях г.Томска на основании общепринятых критериев ВОЗ.

Исследованная группа включала 46 чел. с лёгкой формой БА, 95 чел. — со средней и 9 чел. — с тяжёлой формой. Из сопутствующих заболеваний у 124 индивидов был диагностирован атопический ринит (АР) и у 53 чел. — описторхоз (у 26 и 86 чел. соответственно, клинических признаков указанных заболеваний не вы-

явлено). У больных БА были проанализированы следующие количественные показатели: уровень IgE, пиковая скорость выдоха (ПСВ, литры/с), объём форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1, литры), жизненная ёмкость лёгких (ЖЕЛ, литры), индекс Тиффно (ИТ).

В качестве контрольной группы использована популяционная выборка жителей города Томска среднего возраста (96 человек). В обеих изученных группах русские составляли более 90%. От всех обследованных лиц получено информированное согласие на проведение исследования.

Всего было проанализировано 23 полиморфных варианта (22 SNP и 1 VNTR), локализованных в 17 генах: *LTA* (rs909253), *TNF* (rs1800629), *TNFRSF1B* (rs1061622), *IL4* (rs2243291), *IL4R* (rs1801275, rs2074570), *IL12A* (rs568408), *IL12B* (rs3212227, rs3212220), *IL12RB1* (rs3746190, rs11575926), *IFNG* (rs2069705), *IFNGR2* (rs17880053), *ADRB2* (rs1042713, rs1042714), *NOS3* (rs2070744, rs61722009 (VNTR), rs1799983), *ACE* (rs4343), *AGTR1* (rs5186), *GNB3* (rs5443), *PPP3R1* (rs11126176), *GATA4* (rs804271).

Сравнения частот аллелей и генотипов проводились как между группой больных БА и контролем, так и между подгруппами больных БА, дифференцированных по *качественным признакам*, и между каждой из этих подгрупп с контрольной выборкой. Расчёт частот гаплотипов и оценку неравновесия по сцеплению (с использованием показателя D и его нормированного значения ρ) проводили методом Хилла [2, 25]. Анализ внутрисемейных попарных сочетаний генотипов проведён для пяти генов (*NOS3*: rs2070744/VNTR, VNTR/rs1799983, rs2070744/rs1799983; *ADRB2*; *IL4R*; *IL12B*; *IL12RB1*) и пары SNP в генах, формирующих хромосомный кластер (*TNF* и *LTA*). Об ассоциации аллелей, гаплотипов и генотипов с патологическим состоянием и его клиническими формами судили по величине отношения шансов (OR) с 95%-ным доверительным интервалом (CI) [35]. При первичном анализе *количественных признаков* была устранена зависимость их от возраста и пола [8, 14]; для проверки на нормальность распределения использовали критерий Колмогорова—Смирнова. Для сравнения дисперсий применяли тест Левина; сравнение средних значений нескольких независимых распределений — однофакторный дисперсионный анализ по Фишеру (F-критерий), включая метод линейных контрастов Шеффе [7]. Анализ проводился с использованием пакета программ Statistica for Windows 7.0.

Результаты и обсуждение

Результаты анализа изученных полиморфных вариантов в контрольной выборке подробно описаны ранее [3—6]. В группе больных отклонение наблюдаемого распределения генотипов от ожидаемого при равновесии Харди—Вайнберга зафиксировано по трём локусам: rs4343 (*ACE*) — за счёт избытка гетерозигот, по обоим исследованным локусам гена *IL12B* — за счёт недостатка гетерозигот.

Сравнение частот аллелей, генотипов, сочетаний генотипов и гаплотипов исследованных маркёров показало, что в формирование патологического фенотипа БА в целом и её эндофенотипов вовлечён полиморфизм четырёх генов (*IL12A*, *NOS3*, *LTA*, *TNF*) (табл. 1, 2); ещё для пяти генов (*AGTR1*, *GNB3*, *TNFRSF1B*, *IFNGR2*, *PPP3R1*) ассоциации выявлены только при анализе её эндофенотипов (табл. 3, 4). Статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов между сравниваемыми в пределах каждого качественного признака подгруппами (лёгкая и средняя формы БА; БА в сочетании с атопическим ринитом и без атопического ринита; БА в сочетании с описторхозной инвазией и изолированная БА) зарегистрировано не было, однако, в ряде случаев выявлены различия между контрольной выборкой и отдельными подгруппами (*AGTR1*, *GNB3*, *IL12A*, *NOS3*, *LTA*, *IFNGR2*, *PPP3R1*) (табл. 3). Также установлены ассоциации ряда генов с количественными признаками, клинически значимыми для БА (*GNB3*, *TNFRSF1B*, *IL12A*) (табл. 4). Продукты большинства генов, показавших в настоящем исследовании ассоциации с БА и её эндофенотипами, участвуют в реализации двух основных механизмов патогенеза БА: воспаления (*LTA*, *TNF*, *TNFRSF1B*, *IL12A*, *IFNGR2*) и бронхоспазма (*NOS3* и *AGTR1*).

В настоящем исследовании для гена *IL12A* (rs568408) получены отличия группы больных БА от популяционной выборки по частотам аллелей ($p = 0,038$) и генотипов ($p = 0,027$) (табл. 1); предрасполагающими являются аллель G ($p = 0,038$), и генотип GG ($p = 0,015$) (табл. 2). Частота гомозигот по аллелю риска максимальна (76,09%) в подгруппе с лёгкой степенью тяжести заболевания, тем не менее статистически значимые отличия от контрольной выборки регистрируются для подгруппы с БА средней степени тяжести ($p = 0,037$) (табл. 3), за счёт более ярко выраженного протективного эффекта гетерозиготного генотипа, частота которого в этой подгруппе в 1,8 раза ниже, чем в контроле. Интересно, что rs568408 гена *IL12A* также оказался ассоциирован с ОФВ1 в изученной группе пациентов, но следует отметить некоторое противоречие, поскольку у носителей генотипа GG, ассоциированного с риском БА, регистрируются наиболее высокие значения этого показателя (2,51 литра) (табл. 4). Данный эффект реализуется главным образом у больных с БА средней степени тяжести: средние значения ОФВ1 в этой подгруппе составили 1,64, 2,45 и 2,47 литров для генотипов AA, GA и GG соответственно ($p = 0,045$); в то время как для подгрупп с лёгкой и тяжёлой степенью такой тенденции не показано. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей, согласно которым полиморфизм гена *IL12A* (кодирующего субъединицу p35 ИЛ-12 (модулирует врождённый и адаптивный иммунные ответы; играет значительную роль в дифференцировке Th1 и Th2 клеток; активирует синтез IFN- γ), влияет на лёгочную функцию, тяжесть БА и развитие его обострения [19, 31].

Распределение частот генотипов исследованных полиморфных вариантов в группе больных бронхиальной астмой и в контрольной выборке

Ген (полиморфизм)	Выборка	Генотипы, %			Объем выборки	χ^2 (p)
1	2	3	4	5	6	7
<i>ADRB2</i> (rs1042713)		GG	AG	AA		
	Контроль	40,62	47,92	11,46	96	0,957 (0,62) ¹
	БА	43,92	41,89	14,19	148	0,001 (0,973) ²
<i>ADRB2</i> (rs1042714)		CC	CG	GG		
	Контроль	38,54	45,83	15,63	96	0,472 (0,79) ¹
	БА	34,23	48,99	16,78	149	0,28 (0,611) ²
<i>NOS3</i> (rs2070744)		T/T	C/T	C/C		
	Контроль	48,96	32,29	18,75	96	4,626 (0,099) ¹
	БА	43,45	44,83	11,72	145	0,005 (0,941) ²
<i>NOS3</i> (VNTR)		B/B	A/B	A/A		
	Контроль	67,71	30,21	2,08	96	0,163 (0,922) ¹
	БА	65,33	32,67	2,00	150	0,041 (0,839) ²
<i>NOS3</i> (rs1799983)		G/G	G/T	T/T		
	Контроль	62,50	30,21	7,29	96	6,741 (0,034) ¹
	БА	46,00	46,00	8,00	150	3,914 (0,048) ²
<i>ACE</i> (rs4343)		A/A	A/G	G/G		
	Контроль	31,25	50	18,75	96	1,737 (0,42) ¹
	БА	28,28	57,93	13,79	145	0,015 (0,904) ²
<i>AGTR1</i> (rs5186)		A/A	A/C	C/C		
	Контроль	55,21	38,54	6,25	96	1,326 (0,515) ¹
	БА	50,34	39,46	10,2	147	0,909 (0,34) ²
<i>GNB3</i> (rs5443)		C/C	C/T	T/T		
	Контроль	57,29	37,5	5,21	96	2,861 (0,239) ¹
	БА	46,00	42,67	11,33	150	2,522 (0,112) ²
<i>PPP3R1</i> (rs11126176)		A/A	A/G	G/G		
	Контроль	26,14	55,68	18,18	88	1,362 (0,506) ¹
	БА	26,39	49,3	24,31	144	0,269 (0,604) ²
<i>GATA4</i> (rs804271)		GG	GT	TT		
	Контроль	30,11	44,08	25,81	93	0,038 (0,981) ¹
	БА	31,25	43,06	25,69	144	0,002 (0,969) ²
<i>IL4</i> (rs2243291)		GG	CG	CC		
	Контроль	52,08	41,67	6,25	96	2,079 (0,354) ¹
	БА	60,66	32,67	6,67	150	0,844 (0,358) ²
<i>IL4RA</i> (rs1801275)		AA	AG	GG		
	Контроль	76,04	20,83	3,13	96	2,374 (0,305) ¹
	БА	68,67	29,33	2,00	150	0,652 (0,419) ²
<i>IL4R</i> (rs2074570)		AA	AG	GG		
	Контроль	91,67	8,33	0	96	0,300 (0,587) ¹
	БА	88,67	11,33	0	150	0,250 (0,615) ²
<i>IL12A</i> (rs568408)		GG	GA	AA		
	Контроль	58,33	38,54	3,13	96	7,236 (0,027) ¹
	БА	74,00	22,67	3,33	150	4,289 (0,038) ²

Таблица 1 (окончание)

1	2	3	4	5	6	7
<i>IL12B</i> (rs3212227)		AA	AC	CC		
	Контроль	64,58	33,34	2,08	96	3,678 (0,159) ¹ 0,018 (0,893) ²
	БА	67,33	26,00	6,67	150	
<i>IL12B</i> (rs3212220)		GG	GT	TT		
	Контроль	61,46	36,46	2,08	96	4,607 (0,100) ¹ 0,001 (0,975) ²
	БА	66,67	26,67	6,66	150	
<i>IL12RB1</i> (rs3746190)		CC	CT	TT		
	Контроль	41,67	43,75	14,58	96	0,717 (0,699) ¹ 0,586 (0,444) ²
	БА	36,67	46	17,33	150	
<i>IL12RB1</i> (rs11575926)		GG	GA	AA		
	Контроль	66,67	31,25	2,08	96	2,373 (0,305) ¹ 1,348 (0,246) ²
	БА	61,07	32,89	6,04	149	
<i>IFNG</i> (rs2069705)		CC	CT	TT		
	Контроль	34,37	47,92	17,71	96	1,505 (0,471) ¹ 1,273 (0,259) ²
	БА	27,7	50,00	22,3	148	
<i>IFNGR2</i> (rs17880053)		dd	Gd	GG		
	Контроль	62,50	36,46	1,04	96	4,62 (0,099) ¹ 3,457 (0,063) ²
	БА	75,00	24,24	0,76	150	
<i>LTA</i> (rs909253)		A/A	A/G	G/G		
	Контроль	60,41	30,21	9,38	96	8,01 (0,018) ¹ 1,625 (0,202) ²
	БА	45,64	48,32	6,04	149	
<i>TNF</i> (rs1800629)		G/G	G/A	A/A		
	Контроль	76,04	18,75	5,21	96	4,94 (0,085) ¹ 0,0 (0,987) ²
	БА	71,23	27,4	1,37	146	
<i>TNFRSF1B</i> (rs1061622)		TT	GT	GG		
	Контроль	60,42	37,5	2,08	96	1,167 (0,558) ¹ 0,388 (0,533) ²
	БА	57,33	38,00	4,67	150	

Примечание. χ^2 — значение критерия хи-квадрат при сравнении распределений генотипов и аллелей между группой БА и контрольной выборкой; p — достигнутый уровень значимости; ¹ — при сравнении генотипов; ² — при сравнении аллелей.

Таблица 2

Значения отношения шансов для генетических маркёров, ассоциированных с БА

Ген (полиморфный вариант)	Ассоциированные генетические варианты	OR (95%CI)	χ^2 (p)
<i>IL12A</i> (rs568408)	G	1,68 (1,03–2,75)	4,29 (0,038)
	GG	2,03 (1,14–3,64)	5,89 (0,015)
<i>NOS3</i> (rs1799983)	T	1,56 (1,00–2,42)	3,91 (0,048)
	TG	1,97 (1,11–3,51)	5,45 (0,02)
<i>LTA</i> (rs909253)	AG	2,16 (1,22–3,85)	7,18 (0,007)
<i>NOS3</i> (rs2070744/ rs1799983)	CT/GT	2,95 (1,32–6,73)	7,46 (0,006)
<i>LTA/TNF</i> (rs909253/ rs1800629)	AG/GG	(2,06) 1,02–4,21	4,04 (0,045)

Примечание. Здесь и в табл. 3–4 представлены только случаи статистически значимых ассоциаций; OR — значение отношения шансов; 95%CI — 95% доверительный интервал; p — достигнутый уровень значимости.

Таблица 3

Генетические маркёры, показавшие ассоциации с клиническими особенностями течения БА

Аллель, генотип	Сравниваемые подгруппы*	OR	CI	χ^2	p
<i>AGTR1</i> , rs5186					
C	БА без АР (42,00) — контроль (25,52)	2,11	1,05—4,24	4,47	0,035
<i>GNB3</i> , rs5443					
T	Лёгкая форма (36,96) — контроль (23,96)	1,86	1,05—3,3	4,57	0,033
T	БА с АР (35,08) — контроль (23,96)	1,72	1,1—2,67	5,83	0,016
CC	БА с АР (41,94) — контроль (57,29)	0,54	0,30—0,96	4,51	0,034
TT + CT	БА с АР (58,06) — контроль (42,71)	1,86	1,05—3,30	4,51	0,034
<i>NOS3</i> , rs179983					
T	Лёгкая форма (36,96) — контроль (22,40)	2,03	1,14—3,62	5,96	0,015
GT	Лёгкая форма (52,17) — контроль (30,21)	2,52	1,15—5,55	5,51	0,019
GG	Лёгкая форма (36,96) — контроль (62,50)	0,35	0,16—0,77	7,18	0,007
GT	БА с описторхозом, (52,83) — контроль (30,21)	2,59	1,22—5,50	6,47	0,011
<i>LTA</i> , rs909253					
AG	Лёгкая форма (52,7) — контроль (30,21)	2,52	1,15—5,55	5,51	0,019
AG	Средняя форма (47,87) — контроль (30,21)	2,12	1,12—4,02	5,51	0,019
AG	БА без АР (57,69) — контроль (30,21)	3,15	1,19—8,46	5,56	0,018
<i>IL12A</i> , rs568408					
GG	БА без описторхоза, (75,58) — контроль (58,33)	2,21	1,12—4,40	5,31	0,021
GG	БА с АР (74,19) — контроль (58,33)	2,05	1,12—3,79	5,48	0,019
GG	Средняя форма (73,68) — контроль (58,33)	2,00	1,04—3,86	4,35	0,037
<i>IFNGR2</i> , rs17880053					
d	БА без описторхоза, (88,95) — контроль (80,73)	1,92	1,02—3,65	4,1	0,043
<i>PPP3R1</i> , rs11126176					
GG	БА без АР (40,00) — контроль (18,18)	3,00	1,03—8,78	4,07	0,044
Примечание. * — в скобках приведены частоты аллелей или генотипов в сравниваемых группах (%)					

Таблица 4

Значения количественных параметров у больных БА в зависимости от генотипов исследованных полиморфных вариантов генов

Ген (rs)	Генотипы*			Показатель (ед. измерения)	F (p)
<i>GNB3</i> (rs5443)	CC	CT	TT	ПСВ (литры/с)	4,167 (0,018)
	5,42 ± 1,64 n = 53	6,10 ± 1,54 n = 49	6,57 ± 1,59 n = 16		
<i>TNFRSF1B</i> (rs1061622)	TT	GT	GG	ЖЕЛ (литры)	3,349 (0,039)
	3,50 ± 0,66 n = 72	3,24 ± 0,69 n = 42	3,95 ± 0,585 n = 4		
<i>IL12A</i> (rs568408)	GG	GA	AA	ОФВ1 (литры)	3,334 (0,039)
	2,51 ± 0,65 n = 92	2,49 ± 0,72 n = 23	1,64 ± 0,47 n = 4		
Примечание. n — численность генотипов; * — приведены средние значения признака ± стандартное отклонение; F — значение критерия Фишера; p — достигнутый уровень значимости					

Статистически значимо чаще в группе больных БА в сочетании с АР ($p = 0,019$) и в группе больных БА без описторхоза ($p = 0,021$), обследованных при выполнении настоящего исследования, встречался генотип GG (табл. 3). Была сформирована подгруппа больных (БА с АР без описторхоза, $n = 76$ чел.), в которой частота генотипа риска оказалась на 20% выше (рис. 1), чем в популяционном контроле ($p = 0,012$). Известно, что БА, АР и атопический дерматит, образуя аллергический континуум, являются синтропными состояниями, что предполагает общую генетическую основу данных заболеваний [9]. Согласно результатам настоящего исследования, ассоциация rs568408 в гене *IL12A* с синтропным аллергическим состоянием (БА с АР) более ярко выражена, чем с общей группой больных БА (рис. 1). Описторхоз в данном случае, вероятно, является независимым событием и не оказывает влияния на ассоциацию rs568408 с основной патологией, хотя в литературе описано модифицирующее влияние гельминтной инвазии на атопическое воспаление при БА [1, 21].

Кластер генов *TNF* и *LTA* (кодируют ФНО α и лимфотоксин α) локализован в хромосомном сегменте 6p21, в котором картирован целый ряд генов, ассоциированных с различными проявлениями атопии [10, 41]. В настоящем исследовании была показана вовлечённость в развитие БА замены rs909253 в гене *LTA* — по частотам генотипов показаны различия ($p = 0,018$) между общей группой больных БА и контрольной выборкой, предрасполагающим является генотип AG ($OR = 2,16$, $p = 0,007$) (табл. 1). По замене rs1800629 в гене *TNF* общая группа больных БА статистически значимо не отличается от контрольной выборки, однако, исключение из неё больных с тяжёлой формой БА (9 чел.) меняет картину: с уровнем значимости $p = 0,034$ больные отличаются от контроля, предрасполагающим эффектом обладает генотип GA ($OR = 2,49$, $p = 0,008$). Вместе с тем, суммарная группа больных статистически значимо отличается от контроля по сочетаниям частот генотипов rs909253/rs1800629 (*LTA/TNF*) ($\chi^2 = 8,07$; $p = 0,045$) и гаплотипов ($\chi^2 = 8,20$; $p = 0,042$) (рис. 2): предрасполагающей является комбинация генотипов AG/GG ($p = 0,045$), гаплотип А-А встречался только в группе больных БА (с частотой 0,04%). Кроме того, гетерозиготный генотип AG rs909253 в гене *LTA* преобладает в выборке пациентов с лёгкой формой БА по сравнению со здоровыми индивидами ($p = 0,019$), а также в подгруппе с БА без АР ($p = 0,018$) (табл. 3). Эти результаты согласуются с данными литературы [42, 44]. Кроме того, в контроль уровня ЖЕЛ вовлечен rs1061622 в гене *TNFRSF1B* (кодирует рецептор TNFRSF1B, через который осуществляется большая часть метаболических эффектов ФНО α и часть эффектов лимфотоксина α): индивиды с гетерозиготным генотипом характеризуются наименьшим значениями этого показателя (3,24 литра), а максимальное значение зафиксировано у носителей генотипа GG (3,95 литра) (табл. 4).

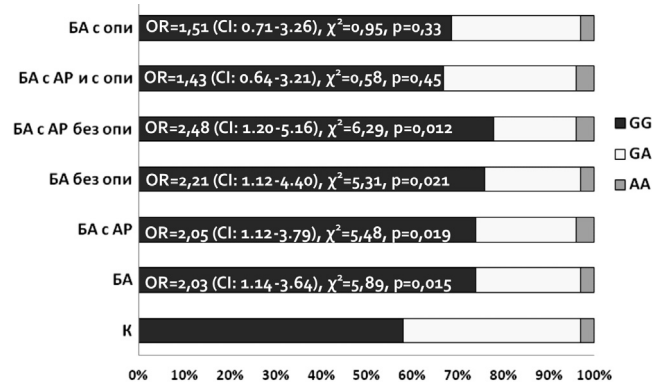


Рис. 1. Распределение генотипов rs568408 гена *IL12A* в подгруппах, дифференцированных по наличию сопутствующих заболеваний: БА — бронхиальная астма; АР — атопический ринит; опи — описторхоз; К — контроль.

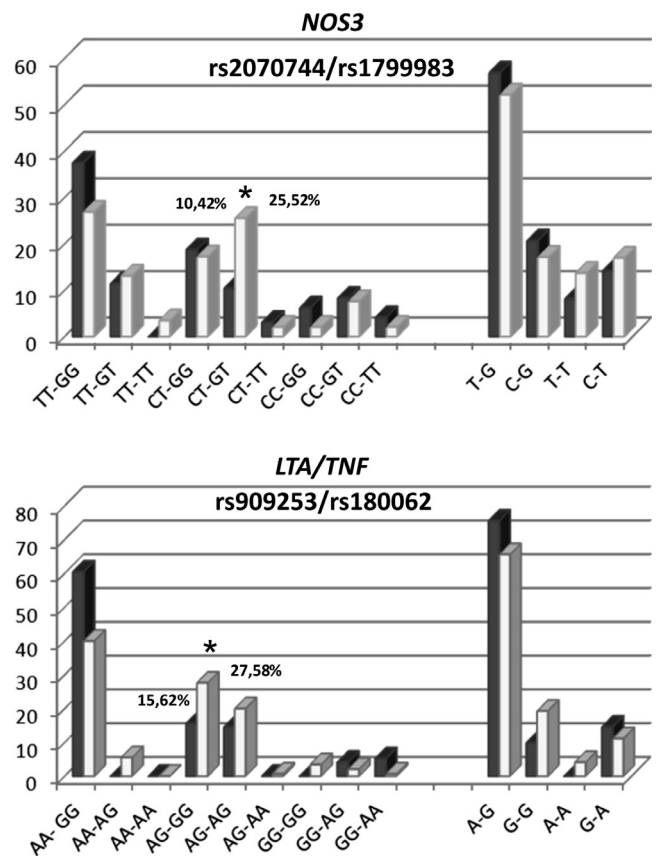


Рис. 2. Распределение в группах больных БА и контрольной выборке попарных внутригенных комбинаций генотипов и гаплотипов, ассоциированных с БА: достигнутый уровень значимости обозначен * — для $p < 0,05$.

Согласно полученным результатам, аллель d rs17880053 в гене *IFNGR2* ассоциирован с развитием БА в подгруппе без описторхоза ($p = 0,043$), главным образом за счёт гомозиготного генотипа, частота которого в этой подгруппе более чем на 15% выше, чем в контроле. Известна вовлечённость гена *IFNGR2* в формирование предрасположенности к БА и продукции IgE [22]. *IFNGR2* кодирует R2-цепь рецептора к IFN- γ , который играет важную роль в координации иммунного ответа [17].

В изученной подгруппе больных БА без АР чаще встречается аллель С rs5186 в гене *AGTR1* ($p = 0,035$). Возможно, данная ассоциация в большей степени отражает вовлечённость гена *AGTR1* в патогенез не атопии в целом, а непосредственно БА, причём, учитывая биологическую роль продукта гена (рецептора к ангиотензину II — одному из наиболее мощных вазоконстрикторов, также являющемуся и бронхоконстриктором [32]), можно говорить о его роли в развитии бронхоспазма.

Продукт гена *NOS3* задействован в процессе снятия бронхоспазма. Существует противоречивая информация относительно экспрессии гена *NOS3* в эпителии дыхательных путей, в более поздних работах указывается на исключительную экспрессию гена *NOS3* в эндотелии [18, 33], тем не менее, его вовлечённость в патогенез БА была ранее показана в разных этнических группах; для ряда полиморфных вариантов (в том числе и для rs2070744, rs61722009, rs1799983) гена *NOS3* ранее было зарегистрировано участие в определении вариабельности ответа на терапию ингаляционными глюкокортикоидами, уровней IgE и выдыхаемого NO [16, 20, 27, 28]. Эндогенный оксид азота играет ключевую роль в физиологической регуляции функции дыхательных путей [24, 37]. Известно, что уровень NO отражает степень эозинофильного воспаления дыхательных путей пациентов с БА [23], и обуславливает патологические изменения при БА [34].

В настоящем исследовании ассоциации с БА и её эндотипами были выявлены только для rs1799983 гена *NOS3* — индивидуально и в сочетании с rs2070744. Так, группа больных БА отличалась от контрольной по частотам аллелей ($p = 0,048$) и генотипов ($p = 0,034$) rs1799983 (табл. 1). К БА предрасполагает аллель Т ($p = 0,048$), главным образом за счёт гетерозиготного генотипа TG ($p = 0,020$), частота которого в группе больных в 1,52 раза выше, чем в контроле. Наиболее выражены отличия от контроля для группы больных с лёгкой формой БА, в которой частота аллеля Т превышает контрольную в 1,65 раза (так же преимущественно в гетерозиготном состоянии) (табл. 3). Генотип GT rs1799983 предрасполагает также к развитию БА в сочетании с описторхозной инвазией ($p = 0,011$) (табл. 3). Статистически значимые различия между больными БА и контрольной выборкой зарегистрированы и по сочетанию генотипов двух аллельных вариантов гена *NOS3* (rs2070744/rs1799983) — комбинация гетерозиготных ге-

нотипов практически в три раза увеличивает шанс развития БА (табл. 2).

Продукт гена *GNB3* (12p13) связывает G-белок γ -3 [38], основная функция которого заключается в передаче информации от рецептора к внутриклеточным системам. Согласно полученным результатам, группа больных с лёгкой формой БА отличается от популяционного контроля по частотам аллелей rs5443 в гене *GNB3* ($p = 0,033$), предрасполагающим является аллель Т (табл. 3). Этот же аллель предрасполагает к развитию сочетанной патологии БА с АР ($p = 0,016$), преимущественно через гомозиготный генотип, который в группе больных встречается более чем в 2,3 раза чаще по сравнению с контролем, тем не менее, различия не достигают уровня статистической значимости ($p = 0,127$); альтернативный генотип СС оказывает протективный эффект ($p = 0,034$). Полиморфизм rs5443 гена *GNB3* ассоциирован также с ПСВ: средние значения этого показателя увеличиваются в ряду СС < СТ < ТТ ($5,42 < 6,10 < 6,57$ соответственно; $p = 0,04$) (табл. 4). Ассоциация полиморфного варианта С825Т гена *GNB3* с лёгким течением аллергического процесса является первым результатом в отношении связи этого гена с БА, но для региона 12p13 (в котором локализован ген *GNB3*) в публикациях других авторов описаны ассоциации как с уровнем общего IgE [15], так и с БА в целом (при полногеномном анализе) [26, 40].

В настоящем исследовании также впервые была выявлена ассоциация rs1126176 с БА без АР — предрасполагающим является генотип GG ($p = 0,044$) (табл. 3). Данный полиморфизм был включен в исследование как таqSNP гена *PPP3R1*, продукт которого вовлечен в регуляцию многих процессов через сигнальные каскады, управляющие развитием и функционированием иммунной, нервной, сердечно-сосудистой и мышечной систем [11, 30]. Фактически же эта замена локализована в транскрибируемом, но не транслируемом регионе гена *CID* [45] (локализованный в ядрах ДНК-связывающий и апоптоз-индуцирующий протеин, может также действовать как ко-репрессор для рецептора тиреоидного гормона [39, 43]) и в псевдогене *LOC100287361* [46]. Ранее при полногеномном анализе, для региона 2p15, в котором локализован rs1126176, была показана ассоциация с гиперреактивностью бронхов [36].

Анализ сочетания генотипов полиморфных вариантов трёх генов, ассоциированных с БА в целом, позволил выявить как предрасполагающие, так и протективные сочетания. Как и следовало ожидать, предрасполагающими к развитию патологии были сочетания генотипов: GT/GG для *NOS3/IL12A* (OR = 2,08, $p = 0,022$), GT/AG для *NOS3/LTA* (OR = 2,55, $p = 0,016$), AG/GG для *LTA/IL12A* (OR = 2,11, $p = 0,022$). Редкие генотипы, очевидно, ввиду своей малочисленности, не оказывали значимого влияния на различия распределений сочетаний между группой

больных и контролем; протективными оказались сочетания частых (или вторых по частоте встречаемости) генотипов соответствующих полиморфных вариантов: GG/AG для *NOS3/IL12A* ($OR = 0,39$, $p = 0,007$), GG/AA для *NOS3/LTA* ($OR = 0,45$, $p = 0,009$), AA/AG для *LTA/IL12A* ($OR = 0,30$, $p = 0,002$). Частота сочетания генотипов трёх генов GT/AG/GG (*NOS3/LTA/IL12A*) в группе больных в два раза выше, чем в контрольной выборке, однако различия не достигают уровня статистической значимости ($p = 0,071$); в то же время, частота сочетания протективных генотипов GG/AA/AG в группе больных почти в 4 раза превышала частоту в контроле; значение OR для них составило 0,23 ($p = 0,002$).

Таким образом, в настоящем исследовании, с развитием БА и особенностями её клинических проявлений ассоциированы гены, продукты которых контролируют различные патофизиологические реакции. В то же время, с точки зрения характерных для БА патологических процессов, на настоящий момент, можно объяснить не все полученные ассоциации. Среди генов, включенных в настоящее исследование, к наиболее изученным (в том числе и с использованием мета-анализа) в отношении оценки риска развития БА можно отнести *NOS3*, *TNF*, *LTA*, *ADRB2*, *IL4*, *IL4R*, *IFNG*, *ACE*; для ряда локализованных в них полиморфных вариантов доказана роль в развитии как БА, так и связанных с ней аллергических проявлений. В то же время для генов *GATA4*, *PPP3R1*, *TNFRSF1B*, *GNB3*, *AGTR1* ассоциативное исследование с бронхиальной астмой проведено впервые, при этом интересно, что для полиморфных вариантов генов *PPP3R1*, *TNFRSF1B*, *GNB3*, *AGTR1* выявлены ассоциации с рядом качественных и количественных признаков данной патологии. Среди наиболее интересных (с учётом численности изученных подгрупп и частоты встречаемости ассоциированных генотипов или их сочетаний) представляются ассоциации генов *IL12A*, *LTA* и *NOS3* с бронхиальной астмой и генов *IL12A*, *LTA*, *NOS3* и *GNB3* с рядом клинических признаков. Для более корректной интерпретации остальных ассоциаций требуются дополнительные исследования.

Важным результатом исследования является получение данных, указывающих на то, что в развитие изолированной БА и её сочетаний с сопутствующими заболеваниями ассоциированные гены вовлечены в различной степени. Согласно полученным результатам, выявлены общие генетические локусы подверженности БА и её различным клиническим формам. Результаты исследования свидетельствуют о включенности ассоциированных генов в структуру наследственной компоненты подверженности БА и других связанных с ней аллергических фенотипов. Очевидно, что клинические фенотипы лёгкой, средней и тяжёлой форм БА имеют свои отличительные генетические особенности.

Список литературы

1. Евдокимова Т.А., Огородова Л.М. Влияние хронической описторхозной инвазии на клиническое течение и иммунный ответ при atopической бронхиальной астме у детей // Педиатрия. — 2006. — №6. — С. 12—17.
2. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. — М.: Наука. — 1991. — 271 с.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Кулиш Е.В. и др. Характеристика изменчивости четырех полиморфных вариантов (rs2069705, rs17880053, rs11126176 и rs804271) у представителей коренного и пришлого населения сибирского региона // Генетика. — Принято в печать.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. Пособие для биол. спец. ВУЗов — 4-е изд., перераб. и доп. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
8. Лильин Е.Т., Трубников В.И., Ванюков М.М. Введение в современную фармакогенетику. — М.: Медицина. — 1984. — 160 с.
9. Фрейдин М.Б., Пузырев В.П. Синтропные гены аллергических заболеваний // Генетика. — 2010. — Т. 46. — С. 255—261.
10. Andiappan A.K., Wang de Y., Anantharaman R. et al. Genome-wide association study for atopy and allergic rhinitis in a Singapore Chinese population // PLoS One. — 2011. — Vol. 6. — e19719.
11. Aramburu J., Heitman J., Crabtree G.R. Calcineurin: a central controller of signalling in eukaryotes // EMBO Rep. — 2004. — Vol. 5. — P. 343—348.
12. Bhakta N.R., Woodruff P.G. Human asthma phenotypes: from the clinic, to cytokines, and back again // Immunol. Rev. — 2011. — Vol. 242. — P. 220—232.
13. Binia A., Kabesch M. Respiratory medicine — genetic base for allergy and asthma // Swiss. Med. Wkly. — 2012. — Vol. 142. — w 13612.
14. Blumenthal M.N., Namboodiri K.K., Mendell N. et al. Genetic transmission of serum IgE levels // Am. J. Med. Genet. — 1981. — Vol. 10. — P. 219—228.
15. Bouzigon E., Dizier M.H., Krahenbuhl C. Clustering patterns of LOD scores for asthma-related phenotypes revealed by a genome-wide screen in 295 French EGEA families // Hum. Mol. Genet. — 2004. — Vol. 13. — P. 3103—3113.
16. Bouzigon E., Monier F., Boussaha M. et al. Associations between nitric oxide synthase genes and exhaled NO-related phenotypes according to asthma status // PLoS ONE. — 2012. — Vol. 7. — e36672.
17. Brewington R., Chatterji M., Zoubine M. et al. IFN- γ -independent autocrine cytokine regulatory mechanism in reprogramming of macrophage responses to bacterial lipopolysaccharide // J. Immunol. — 2001. — Vol. 167. — P. 392—398.
18. Chan Y., Fish J.E., D'Abreo C. et al. The Cell-specific Expression of Endothelial Nitric-oxide Synthase: a role for DNA methylation // J. Biol. Chem. — 2004. — Vol. 279. — P. 35087—35100.
19. Chen T., Liang W., Gao L. et al. Association of single nucleotide polymorphisms in interleukin 12 (IL-12A and -B) with asthma in a Chinese population // Hum. Immunol. — 2011. — Vol. 72, №7. — P. 603—606.

20. Dahgam S., Nyberg F., Modig L. et al. Single nucleotide polymorphisms in the NOS2 and NOS3 genes are associated with exhaled nitric oxide // *J. Med. Genet.* — 2012. — Vol. 49. — P. 200–205.
21. Fitzsimmons C.M., Falcone F.H., Dunne D.W. Helminth allergens, parasite-specific IgE, and its protective role in human immunity // *Frontiers in Immunology.* — 2014. — Vol. 5. — A.61. — P. 1–12.
22. Gao P.S., Mao X.Q., Jouanguy E. et al. Nonpathogenic common variants of IFNGR1 and IFNGR2 in association with total serum IgE levels // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1999. — Vol. 263, №2. — P. 425–429.
23. Ge C.L., Hao C.L., Tang N.B. et al. Changes of exhaled nitric oxide and peripheral blood eosinophils in children with asthma // *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* — 2009. — Vol. 11. — P. 986–988.
24. Ghosh S., Erzurm S.C. Nitric oxide metabolism in asthma pathophysiology // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2011. — Vol. 1810. — P. 1008–1016.
25. Hill W.G. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations // *Heredity.* — 1974. — Vol. 33, №2. — P. 229–239.
26. Hirota T., Takahashi A., Kubo M. et al. Genome-wide association study identifies three new susceptibility loci for adult asthma in the Japanese population // *Nat. Genet.* — 2011. — Vol. 43. — P. 893–896.
27. Holla L.I., Jurajda M., Pohunek P., Znojil V. Haplotype analysis of the endothelial nitric oxide synthase gene in asthma // *Hum. Immunol.* — 2008. — Vol. 69. — P. 306–313.
28. Iordanidou M., Paraskakis E., Tavridou A. et al. G894T polymorphism of *eNOS* gene is a predictor of response to combination of inhaled corticosteroids with long-lasting $\beta(2)$ -agonists in asthmatic children // *Pharmacogenomics.* — 2012. — Vol. 13. — P. 1363–1372.
29. Kiley J., Smith R., Noel P. Asthma phenotypes // *Curr. Opin. Pulm. Med.* — 2007. — Vol. 13. — P. 19–23.
30. Li J., Hu M., Guo J. et al. Calcineurin subunit B is an immunostimulatory protein and acts as a vaccine adjuvant inducing protective cellular and humoral responses against pneumococcal infection // *Immunol. Lett.* — 2011. — Vol. 140, №1–2. — P. 52–58.
31. Li X., Hawkins G.A., Ampleford E.J., et al. Genome-wide association study identifies TH1 pathway genes associated with lung function in asthmatic patients // *J. Allergy. Clin. Immunol.* — 2013. — Vol. 132, №2. — P. 313–320. e15.
32. Lue K.-H., Ku M.-S., Li C. et al. ACE gene polymorphism might disclose why some Taiwanese children with allergic rhinitis develop asthma symptoms but others do not // *Pediatr Allergy Immunol.* — 2006. — Vol. 17. — P. 508–513.
33. Matouk C.C., Marsden P.A. Epigenetic Regulation of Vascular Endothelial Gene Expression // *Circ Res.* — 2008. — Vol. 102. — P. 873–887.
34. Moghaddam A.S., Shabani M., Fateminasab F., Reza Khakzad M. Level of Nitric Oxide in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Asthmatic Mice Model // *IJI.* — 2005. — Vol. 2, №2. — P. 103–110.
35. Morris J.A. and Gardner M.J. Statistics in Medicine: Calculating confidence intervals for relative risks (odds ratios) and standardised ratios and rates // *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.).* — 1988. — Vol. 296. — P. 1313–1316.
36. Pillai S.G., Chiano M.N., White N.J. et al. A genome-wide search for linkage to asthma phenotypes in the genetics of asthma international network families: evidence for a major susceptibility locus on chromosome 2p // *Europ. J. Hum. Genet.* — 2006. — Vol. 14. — P. 307–316.
37. Ricciardolo F.L., Di Stefano A., Sabatini F., Folkerts G. Reactive nitrogen species in the respiratory tract // *Eur. J. Pharmacol.* — 2006. — Vol. 533. — P. 240–252.
38. Rosskopf D., Busch S., Manthey I. et al. G protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms // *Hypertension.* — 2000. — Vol. 36. — P. 33–41.
39. Schilders G., van Dijk E., Pruijn G.J.M. C1D and hMtr4p associate with the human exosome subunit PM/Sci-100 and are involved in pre-rRNA processing // *Nucleic Acids Research.* — 2007. — Vol. 35, №8. — P. 2564–2572.
40. Torgerson D.G., Ampleford E.J., Chiu G.Y. et al. Meta-analysis of genome-wide association studies of asthma in ethnically diverse North American populations // *Nat. Genet.* — 2011. — Vol. 43. — P. 887–892.
41. Wilk J.B., Djousse L., Arnett D.K. et al. Evidence for major genes influencing pulmonary function in the NHLBI family heart study // *Genet. Epidemiol.* — 2000. — Vol. 19. — P. 81–94.
42. Yang M., Fu X., Zhang Y. et al. The +252A/G polymorphism in the Lymphotoxin- α gene increases the risk of asthma: A meta-analysis // *Respirology.* — 2012. — Vol. 17. — P. 1229–1236.
43. Zamir I., Dawson J., Lavinsky R.M. et al. Cloning and characterization of a corepressor and potential component of the nuclear hormone receptor repression complex // *Proc. Natl. Acad. Sci.* — 1997. — Vol. 94. — P. 14400–14405.
44. Zhang Y., Zhang J., Tian C. et al. The -308 G/A polymorphism in *TNF- α* gene is associated with asthma risk: an update by meta-analysis // *J. Clin. Immunol.* — 2011. — Vol. 31. — P. 174–185.
45. <http://genome-euro.ucsc.edu/cgi-bin>
46. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/sviewer>

Association of polymorphic variants of susceptibility genes common diseases with bronchial asthma

Babushkina N.P.¹, Bragina E.Y.¹, Buikin S.V.¹, Saltykova I.V.², Nazarenko M.S.¹, Tarasenko N.V.¹, Kulish E.V.¹, Markova V.V.¹, Polovkova O.G.¹, Kucher A.N.¹

¹ — Federal State Budgetary Scientific Institution «The Research Institute for Medical Genetics», Ushaika Embankment, 10, Tomsk, 634050, Russia. E-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru

² — Siberian State Medical University, Tomsk, Moscovski Trakt, 2, Tomsk 634050, Russia

Bronchial asthma is clinically heterogeneous multifactorial pathology with genetic component. Association of 23 polymorphic variants in 17 genes with asthma and asthma endophenotypes was studied. The association for the 9 genes (*IL12A*, *LTA*, *TNF*, *TNFRSF1B*, *IFNGR2*, *NOS3*, *AGTR1*, *GNB3*, *PPP3R1*) with asthma and asthma related phenotypes has been shown. Most gene products associated with bronchial asthma and asthma related phenotypes are involved in realization of two basic pathways of asthma pathogenesis, i.e. inflammation and bronchial spasm. We found that clinical phenotypes of the mild, intermediate and severe asthma have their own genetic features.

Key words: genetic polymorphism, bronchial asthma, endophenotypes

Изучение роли полиморфизма генов свёртывающей системы в возникновении преждевременных родов у женщин узбекской популяции

Любчик Н.И.¹, Бобоев К.Т.²

¹ — Республиканский специализированный научно-практический медицинский Центр акушерства и гинекологии

Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, 100124, г.Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 132а. E-mail: lyubchich@mail.ru

² — Научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови, Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, 100059, г.Ташкент, ул. Усмана Насыра, 138

Проведён анализ частоты встречаемости мутантного аллеля «1691A» гена *FVLeiden* и C677T гена *MTHFR* среди женщин узбекской популяции с преждевременными родами (ПР). Носительниц мутантного аллеля «1691A» в гетеро- либо гомозиготном состоянии среди женщин с ПР оказалось 8,5%, в контрольной группе — 2,0% (OR = 4,64; 95%CI 0,98—22,02). Различия в частоте встречаемости гетерозиготного варианта полиморфизма C677T гена *MTHFR* в группе женщин с ПР и у пациенток контрольной группы статистически не достоверны. Частота носительства гомозиготного генотипа в группе с ПР была выше, чем в контрольной группе (7,5% и 1,96% соответственно), что свидетельствует о вовлечённости данного маркера в развитие ПР.

Ключевые слова: преждевременные роды, тромбофилия, полиморфизм генов, беременные

Введение

Сегодня ПР и репродуктивное здоровье женщины рассматриваются как важнейшая общемедицинская и социальная проблема, к которой приковано внимание специалистов ведущих научных центров мира [1, 2, 3]. На основании многочисленных исследований установлен целый ряд факторов, повышающих риск ПР у женщин. Среди них особая роль отводится врождённой тромбофилии — нарушению гемостаза, приводящему к тромбообразованию в маточно-плацентарном русле [6, 8, 9].

Важным направлением в исследовании тромбофилии считается изучение тромбофилических состояний у беременных женщин, анализ влияния нарушений системы гемостаза на риск развития тромбозов и тромбоэмболий во время беременности и родов, а также определение степени участия тех или иных генетических маркеров тромбофилии в развитии акушерских и гинекологических осложнений [9, 10, 12]. Внезапность и скоротечность развития тромбоза в сосудах плаценты являются, пожалуй, основными причинами, не позволяющими в большинстве случаев своевременно предотвращать тяжёлые последствия тромбофилических осложнений у беременных женщин. На сегодняшний день определён достаточно широкий спектр генетических маркеров тромбофилии, среди которых доминирующими считаются гены системы гемостаза и обмена гомоцистеина, а именно полиморфизмы G1691A в гене *FV* свёртывания крови и C677T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) [3, 5, 7].

Принимая во внимание приоритетность генетических факторов в генезе тромбофилического состояния

у женщин, целью нашей работы стало изучение частоты встречаемости генных полиморфизмов *FV* (G1691A-Лейден) и *MTHFR* (C677T) у женщин с имеющимися и отсутствующими акушерскими осложнениями, а также оценка их вклада в генез ПР.

Материалы и методы исследования

Для достижения поставленной цели нами исследована ДНК 208 женщин, из них 121 с преждевременными родами в анамнезе и 114 соматически здоровых женщин с физиологическим течением беременности (контрольная группа), в возрасте от 21 года до 35 лет.

Для постановки клинического диагноза применяли общеклинические, гемостазиологические и функциональные методы.

Выделение молекулы ДНК проводили по стандартной методике [13] с некоторыми модификациями. Амплификацию полиморфного локуса осуществляли с использованием полимеразной цепной реакции на программируемом термоциклере фирмы «Applied Biosystems» (США).

Статистический анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ OpenEpi 2009, Version 2.3.

Частоту вариантов аллелей и генотипов (f) вычисляли по формулам:

$$f = n/2N \text{ и } f = n/N, \quad (1)$$

где:

n — встречаемость варианта (аллеля или генотипа);

N — объем выборки.

Степень ассоциаций оценивали в значениях показателей соотношения шансов odds ratio, OR, по формуле:

$$OR = (a \times d) / (b \times c), \quad (2)$$

где:

a — частота аллеля (генотипа) в выборке больных;
b — частота аллеля (генотипа) в контрольной выборке;
c — сумма частот остальных аллелей (генотипов) в выборке больных;
d — сумма частот остальных аллелей (генотипов) в контрольной выборке [11].

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка значимости G1691A полиморфизма гена FV в развитии ПР

Наиболее значимым и часто встречающимся наследственным дефектом, приводящим к тромбофилии, является лейденская мутация (G1691A) гена FV [3, 5]. Такая однонуклеотидная вариация гена приводит к устойчивости активированной формы фактора V к расщепляющему действию активированного белка C (резистентность к активированному протеину C) и к относительной гиперкоагуляции, что существенно повышает риск образования микротромбов в сосудах маточно-плацентарного комплекса у беременных, которые лежат в основе патогенеза развития ряд акушерских осложнений, в том числе и ПР.

При сравнительном анализе частот аллелей полиморфизма G1691A гена FV у женщин основной и контрольной групп были выявлены статистически значимые различия. Частоты встречаемости аллелей G и A гена FV

составили 0,96 (96,0%) и 0,04 (4,0%) в группе больных и 0,99 (99,0%) и 0,01 (1,0%) — в контрольной группе. Таким образом, частота мутантного аллеля 1691A гена FV Leiden у пациенток с ПР достоверно превышает таковую в группе здоровых женщин ($\chi^2 = 4,31$; $p < 0,05$).

Частоты распределения G/G, G/A и A/A генотипов данного маркера в изученных группах составили 91,5, 8,5 и 0,0% в основной и 98,0, 2,0 и 0,0% — в контрольной группе. Как видно из табл. 1, все носители мутантного аллеля имеют гетерозиготный генотип. Гомозиготный по редкому аллелю генотип A/A не был выявлен ни в одной из исследуемых групп. При этом носителями 1691A в гетерозиготном состоянии в основной группе оказались 7/106 пациенток с ПР по сравнению с контрольной группой — 2/102 ($\chi^2 = 4,43$; $p = 0,02$). Полученные результаты свидетельствуют о возможной роли мутации в гене FV Leiden в развитии ПР. Однако оценка доверительных интервалов не позволяет сделать однозначных выводов (OR = 4,64; 95%CI 0,98—22,02). Возможно, это связано с небольшим объемом выборки.

Оценка значимости полиморфизма C677T гена MTHFR в развитии ПР у женщин

К настоящему времени в гене MTHFR выявлено 9 мутаций, среди которых наиболее изученной является мутация C677T. Аллель 677T гена MTHFR обуславливает термолабильность гомоцистеина и ассоциируется с повышенным его уровнем в плазме крови [7]. Повышенный уровень гомоцистеина считается одним из факторов риска развития гиперкоагуляции, которая приводит к образованию микротромбозов в плацентарных сосудах, нарушая трофику и кровообращение в системе мать

Распределение аллелей и генотипов полиморфизма G1691A гена FV среди женщин с ПР и пациенток контрольной группы

Таблица 1

Группа	n	Частота аллелей		Частота распределения генотипов					
		G	A*	GG		GA**		AA	
		%	%	n	%	n	%	n	%
Основная	106	96,0	4,0	97	91,5	9	8,5	0	0
Контрольная	102	99,0	1,0	100	98,0	2	2,0	0	0
Примечание. * — $\chi^2 = 4,31$; $p < 0,05$; ** — $\chi^2 = 4,43$; $p = 0,02$; OR = 4,64; 95%CI 0,98-22,02									

Частота аллелей и генотипов полиморфизма C677T гена MTHFR среди женщин с ПР и пациенток контрольной группы

Таблица 2

Группа	n	Частота аллелей		Частота распределения генотипов					
		677 C	677 T	CC		CT*		TT**	
		%	%	n	%	n	%	n	%
Общая	106	72,2	27,8	55	51,9	43	40,6	8	7,5
Контрольная	102	80,4	19,6	64	62,7	36	35,3	2	1,96
Примечание. * — $\chi^2 = 1,28$; $p = 0,13$; OR = 1,39; 95%CI 0,79-2,46; ** — $\chi^2 = 3,55$; $p = 0,03$; OR = 4,08; 95%CI 0,85-19,7									

— плацента — плод, что может стать причиной плацентарной недостаточности, и следовательно, прерывания беременности в различных сроках. У носителей варианта 677T во время беременности часто наблюдается дефицит фолиевой кислоты, что также может привести к дефектам развития плода.

В нашей выборке частота мутантного аллеля гена *MTHFR* (677T) оказалась высокой как среди женщин с ПР, так и среди здоровых женщин (табл. 2). У 51 из 106 обследованных было обнаружено носительство гетеро- или гомозиготных вариантов мутации С677Т гена *MTHFR* (48,1%). Из них 40,6% (43/106) имели гетерозиготный, 7,5% (8/106) — гомозиготный генотип. В контрольной группе из 102 обследованных женщин данная мутация выявлена у 38 (37,3%), при этом у 2 пациенток (1,96%) в генотипе был обнаружен гомозиготный вариант данного маркера.

Распространённость мутации *MTHFR* С677Т в различных этнических группах значительно варьирует — от 4 до 65% [11, 15]. Частота гомозигот колеблется от 0 до 47%. Например, частота гомозигот в европейской популяции в среднем составляет 10—12%, гетерозигот — 40%. Среди азиатских популяций известны следующие данные: так, в Японии гомозиготы составили 13,1%, гетерозиготы — 47,5%, в Китае — соответственно 14,0 и 43,8%, среди корейцев — 7,3 и 66,1%.

К настоящему времени опубликован ряд работ, посвящённых поиску ассоциаций аллельных вариантов гена *MTHFR* с ПР. Так, по данным R.L. Vick с соавторами (1998), имеется чёткая связь между гетерозиготной мутацией *MTHFR* и ПР, риск развития которых возрастает в 2 раза, В. Brenner с соавторами [6, 7] наблюдали эту мутацию у 46% женщин с ПР. W.H. Kutteh [3, 8], однако, не обнаружил связи между мутацией *MTHFR* С677Т и привычным невынашиванием. Более поздние исследования S.C. Guba с соавторами (1999), V. Kakkar с соавторами [13] продемонстрировали явную связь между гетерозиготной формой мутации и привычным невынашиванием, риск при этом повышается в 2 раза.

Распределение аллелей 677С и 677Т среди пациенток основной и контрольной групп соответствовало значениям 72,2, 27,8% и 80,4, 19,6%.

Также выявлено некоторое повышение частоты гетерозиготного генотипа С677Т гена *MTHFR* у женщин с ПР (40,6%) по сравнению с контрольной группой (35,3%). Согласно коэффициенту соотношения шансов, риск развития ПР у женщин при наличии генотипа С/Т гена *MTHFR* увеличивался почти в 1,4 раза (OR = 1,39; 95%CI 0,79—2,46). Однако такое различие оказалось статистически незначимым ($\chi^2 = 1,28$; $p = 0,13$; OR = 1,39), создавая впечатление о не очень большой самостоятельной роли данного полиморфизма в развитии ПР у женщин.

Однако при анализе частот только гомозиготного Т677Т генотипа гена *MTHFR* выявлены статистически достоверные отличия, т.е. зарегистрирована прямая

корреляция между Т677Т вариантом данного полиморфизма и развитием ПР. Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов, наличие генотипа Т/Т гена *MTHFR* увеличивало риск развития ПР более чем в 4 раза ($\chi^2 = 3,55$; $p = 0,03$; OR = 4,08; 95%CI 0,85—19,7), однако эта оценка недостоверна.

Как свидетельствуют литературные данные, при гомозиготной форме мутации *MTHFR* риск раннего прерывания беременности беременности возрастает. Гомозиготная форма *MTHFR* обуславливает преждевременное поражение сосудистой стенки, что проявляется ранним развитием атеросклероза, развитием тромбозов в плацентарных сосудах [3, 6, 9, 12], приводя к непрочности плаценты и ишемизацию её ткани, которые лежат в основе угрозы ранних и поздних самопроизвольных выкидышей, угрозы ПР, что исходом могут быть, в большинстве случаев, раннее прерывание беременности.

Анализ ген-генных взаимодействий

FV (G1691A) и *MTHFR* (С677Т)

среди пациенток с ПР и условно здоровых женщин

На сегодняшний день ген-генные взаимодействия остаются наименее изученным звеном, способным связать наследственные факторы с наличием, характером и выраженностью тромбофилии при акушерских заболеваниях. Цель этого анализа — изучение ассоциативных связей между аллельными вариантами изученных нами генов и обнаружение неслучайных генотипических сочетаний.

Для поиска генотипических сочетаний, или «межгенных комбинаций» нами был проведен анализ так называемых «ген-генных взаимодействий» в общей когорте больных и здоровых женщин. Суммарная доля одновременного носительства аллелей «*FV* G1691A + *MTHFR* С677Т» в группе больных с ПР составила 6/106 (5,7%), тогда как в контрольной группе такая комбинация не наблюдалась ни в одном случае. Причем нужно отметить, что у всех пациенток с гетерозиготным носительством мутантного аллеля гена *FV* G1691A одновременно были обнаружены только гетерозиготные аллели гена *MTHFR* С677Т («двойные гетерозиготы»). В группах больных и здоровых женщин другие варианты сочетанного носительства исследованных нами генов не выявлены. Статистический анализ данных ген-генных взаимодействий показал, что при носительстве неблагоприятных генотипов «*FV* G1691A + *MTHFR* С677Т» риск возникновения ПР у пациенток более чем в 6 раз выше, чем у не носительниц данной комбинации ($\chi^2 = 5,95$; $p = 0,007$; OR = 6,12).

Таким образом, наши данные могут свидетельствовать о роли одновременного носительства аллелей наследственной тромбофилии «*FV* G1691A + *MTHFR* С677Т» как одного из ключевых факторов риска развития ПР.

Полученные нами результаты раскрывают некоторые генетические аспекты возникновения преждевременных родов у женщин и свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения полиморфизма других генов, вовлечённых в патогенез ПР. Для подтверждения выявленных тенденций необходимо исследование выборок большего объёма. Изучение вклада врождённой тромбофилии в предрасположенность к ПР окажет неоценимую помощь в создании комплексной программы по индивидуальной первичной профилактике ПР с учётом генетических характеристик. Своевременная патогенетическая обоснованная профилактическая терапия в конечном итоге позволит избежать развития возможных ранних и очень ранних преждевременных родов у беременных.

Выводы

1. Мутация гена *FV G1691A* достоверно ассоциирован с развитием гиперкоагуляционных состояний приводящих к развитию преждевременных родов у беременных женщин ($\chi^2 = 4,43$; $p = 0,02$; $OR = 4,64$; $95\%CI 0,98-22,02$), что позволяет говорить о несомненной клинической значимости этого маркера в развитии ПР.

2. Различия в частоте встречаемости гетерозиготного варианта полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* среди пациенток основной и контрольной групп были незначительными и носили статистически недостоверный характер ($\chi^2 = 1,28$; $p = 0,13$; $OR = 1,39$; $95\%CI 0,79-2,46$).

3. Частота встречаемости гомозиготного *T677T* варианта гена *MTHFR* в основной группе более чем в 4 раза превышала таковую в контрольной группе ($\chi^2 = 3,55$; $p = 0,03$; $OR = 4,08$; $95\%CI 0,85-19,7$), что может свидетельствовать о возможной ассоциации между развитием ПР с данным вариантом генетического маркера.

4. Сочетание аллелей «*FV G1691A + MTHFR C677T*» является самостоятельным фактором риска развития преждевременных родов у беременных женщин. Наличие у пациентов в генотипе комбинации данных мутантных аллелей достоверно повышает риск развития ПР более чем в 6 раз ($\chi^2 = 5,95$; $p = 0,007$; $OR = 6,12$).

Список литературы

1. Баранов В.С. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. — СПб.: Изд-во научной лит-ры, 2009. — 527 с.
2. Блинецкая С.Л. Основные наследственные тромбофилии и их роль при привычном невынашивании беременности: Автореф. дисс. на соискание учёной степени к.м.н. — М., 2009. — 21 с.
3. Канева Ф.М., Ахметова В.Г., Фролов А.Л. и др. Анализ мутаций G20210A гена PRT, G1691A гена FV и C677T гена MTHFR у женщин с невынашиванием беременности // Клин. лаб. диагностика. — 2006. — №9. — С. 45.
4. Макацария А.Д., Пшеничникова Е.Б., Пшеничникова Г.Б. и др. Метаболический синдром и тромбофилия в акушерстве и гинекологии. — М.: Мед. информ. агентство, 2006. — №1. — С. 44–46.
5. Репина М.Ф., Сумская Г.Ф., Лапина Е.М. и др. Особенности течения беременности у женщин с наследственными формами тромбофилии // Журн. акуш. и жен. бол. — 2007. — Т. LV1. — Вып. 2. — С. 3–9.
6. Решетняк Т.М. Тромбофилии, тромбозы и беременность // Проблемы гемостазиологии в акушерстве и гинекологии // Человек и лекарство: Тез. докл. 13-го Рос. нац. конгресса. — М., 2006. — С. 4–16.
7. Baglin T., Gray E., Greaves M. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia // Brit. J. Haematol. — 2010. — Vol. 149. — P. 209–220.
8. Botto N., Maffei S., Manfredi S. et al. Prothrombotic mutations, family history and the risk of thrombosis in postmenopausal women: implications for hormone replacement therapy // Climacteric. — 2011. — Vol. 13, №6. — P. 25–30.
9. Folkeringa N., Brouwer J.L., Korteweg F.J. et al. High risk of pregnancy-related venous thromboembolism in women with multiple thrombophilic defects // Brit. J. Haematol. — 2007. — Vol. 138, №1. — P. 110–116.
10. Khan S. Hereditary thrombophilia // Thromb. J. — 2006. — Vol. 4. — P. 234–236.
11. Kovac M., Mitic G., Mikovic Z. et al. Thrombophilia in Women with Pregnancy-Associated Complications: Fetal Loss and Pregnancy-Related Venous Thromboembolism // Gynec. Obstet. Invest. — 2010. — Vol. 69. — P. 233–238.
12. Kosar A., Kasapoglu B., Kalyoncu S. et al. Treatment of adverse perinatal outcome in inherited thrombophilias: a clinical study // Blood Coagulation & Fibrinolysis. — 2011. — Vol. 22. — P. 14–18.
13. Rodger M.A., Paidas M., McLintock C. et al. Inherited thrombophilia and pregnancy complications revisited // Obstet. Gynec. — 2008. — Vol. 112. — P. 320–324.

Study of the role of polymorphism of gene of haemostasis system in occurrence of preterm birth among women of Uzbek population

Lubchich N.I.¹, Boboev K.T.²

¹ — Republican specialized scientific-practice medical center of obstetrics and gynecology, Tashkent, 100124 Mirzo Ulugbek street 132a, E-mail: lyubchich@mail.ru. (8371) 263-78-31

² — Scientific-research institute of hematology and hemotransfusiology, 100059, Usman Nasir street 138, Tashkent

There has been performed analysis of the presence of mutagenic allele «1691A» gene FV Leiden and C677T gene MTGFR among the women with preterm labor. The carriers of mutant allele «1691A» in the hetero- or homozygous state among the women with preterm labors accounted for 8,5% that corresponded to 4,5 fold increase of the risk factor for development of venous thrombosis in comparison with control group (OR = 4.64; 95% CI 0.98–22.02). Differences in the frequency of prevalence of heterozygous variant of polymorphism C677T gene MTGFR between general groups of women with preterm labor and controls had statistic unreliable character. However, the carrying of the homozygous allele of this marker defined more than 4-fold increase in risk of the development of the venous thrombosis in comparison with control group (OR = 4.08: 95%CI 0,05–19,7), that indicated about participation of this marker in the development of venous thrombosis.

Key words: preterm birth, thrombophilia, gene polimorfizm, pregnant

Клинические рекомендации по диагностике и лечению гипофосфатазии

Белова Н.А.¹, Бучинская Н.В.², Захарова Е.Ю.³, Калинин Н.Ю.⁴, Кенис В.М.⁵,
Куцев С.И.³, Мельченко Е.В.⁵, Михайлова Л.К.⁷, Тюльпаков А.Н.⁴, Рябых С.О.⁶

¹ — Центр врожденной патологии, GMS Clinic

² — ГБОУ ВПО СПбГПМУ Минздрава России

³ — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, 115478, ул. Москворечье, 1

⁴ — ФГБУ Эндокринологический научный центр

⁵ — ФГБУ «Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера»

⁶ — РНЦ ВТО им. акад. Г.А. Илизарова

⁷ — ФГБУ Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова

Гипофосфатазия (ГФ) — прогрессирующее наследственное метаболическое заболевание, вызванное дефицитом щелочной фосфатазы. ГФ относится к числу редких наследственных нарушений обмена веществ, сопровождающихся нарушениями минерализации скелета. Для лечения заболевания в последние годы разрабатывается высокоэффективная ферментная заместительная терапия. На основании международных данных Российскими экспертами разработаны клинические рекомендации по лечению и диагностике ГФ. В них рассматриваются современная классификация ГФ, особенности патогенеза и лабораторной диагностики. В разделе «Лечение» обсуждаются вопросы симптоматической помощи больным, а также результаты применения ферментной заместительной терапии.

Ключевые слова: гипофосфатазия, нарушения обмена веществ, клинические рекомендации

История открытия и эпидемиология гипофосфатазии

Предполагают, что первое описание случая ГФ в литературе можно отнести к 1936 г., когда Bruce Chown, описал sibсов, умерших от заболевания, тогда названного «почечным рахитом» [7]. Термин *гипофосфатазия* был введен Rathbun в 1948 г., а в 1957 г. Fraser опубликовал данные о трёх неродственных семьях с ГФ из г. Торонто [12, 21]. Частота заболевания точно не известна, по разным оценкам, она составляет от 1 : 100 000 до 1 : 300 000 живых новорожденных [19].

Этиология и патогенез

ГФ — наследственное нарушение метаболизма костной ткани, вызванное мутациями в гене *ALPL*, кодирующем фермент щелочную фосфатазу (ЩФ). Ген *ALPL* картирован на 1 хромосоме в области 1p36.12. ГФ наследуется либо по аутосомно-рецессивному, либо (крайне редко) по аутосомно-доминантному типу [13]. В гене описано около 250 различных мутаций, большинство из которых представлено миссенс-мутациями [19, 31].

ЩФ обладает значительным влиянием на процесс минерализации костей путём преципитации кальция и неорганического фосфата (нФ) в виде кристаллов гидроксиапатита в везикулах костного матрикса. Недостаточность ЩФ приводит к гипоминерализации, обширным нарушениям со стороны костей скелета и полиорганным осложнениям. Одна из важных функций ЩФ — облегчение поступления в клетку различных

эфиров ортофосфорной кислоты путём их дефосфорилирования, так как в противном случае мембрана для них непроницаема. Дефицит ЩФ приводит к внеклеточному накоплению нескольких фосфорилированных субстратов ЩФ. Один из субстратов, неорганический пирофосфат (НПФ), ингибирует минерализацию костей путём блокирования формирования кристаллов гидроксиапатита [18, 27]. НПФ состоит из двух молекул неорганического фосфата (нФ), соединённых гидролизуемой высокоэнергетической эфирной связью. Дефицит ЩФ ведёт к внеклеточному накоплению НПФ и снижению уровня нФ и, блокирует таким образом отложения гидроксиапатита [18, 31]. Кроме того, экспрессия остеопонтина индуцируется внеклеточным НПФ. Таким образом, нарушение функции ЩФ приводит к нарушениям формирования и минерализации кости [31].

Другие субстраты ЩФ, уровни которых тоже поднимаются у пациентов с ГФ, включают пиридоксаль-5'-фосфат (ПЛФ), основную циркулирующую форму витамина В6, и фосфоэтаноламин (ФЭА). ЩФ гидролизует ПЛФ, позволяя пиридоксалью проникнуть через гематоэнцефалический барьер, после чего он восстанавливается в ПЛФ, который играет роль кофермента декарбоксилазы глутаминовой кислоты, отвечающего за синтез гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК). Дефицит витамина В6 в центральной нервной системе приводит к развитию эпилептических приступов.

* Клинические рекомендации составлены коллективом авторов, в статье их фамилии приведены в алфавитном порядке

Классификация

Клиническая классификация ГФ основывается на времени дебюта заболевания. Выделяют перинатальную (развитие симптомов внутриутробно или при рождении), младенческую (младше 6 мес.), детскую (6 мес. — 18 лет) и взрослую (старше 18 лет) формы [19].

Отдельно выделяют одонтогипофосфатазию, при которой наблюдаются проявления только со стороны зубов [31].

Согласно международной классификации, ГФ относится к классу «Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ» (код по МКБ-10: E83.39).

Клиническая характеристика

Диагноз ГФ должен быть заподозрен у любого пациента со сниженной активностью ЩФ, особенно в сочетании со скелетными проявлениями или неврологическими (эпилептические приступы), почечными (гиперкальциемия, гиперкальциурия, нефрокальциноз), мышечными (миопатия) или стоматологическими нарушениями (раннее выпадение молочных зубов или нарушение роста зубов).

Клинические проявления этого заболевания значительно варьируют по тяжести. В некоторых случаях заболевание протекает настолько тяжело, что наступает внутриутробная смерть плода [1, 9]. Перинатальная ГФ

практически всегда летальна в раннем возрасте, причиной смерти в 50% случаев является дыхательная недостаточность. При младенческой форме ГФ скелетные нарушения и поражение других систем органов проявляются вскоре после рождения. Наиболее распространённые клинические признаки и симптомы ГФ приведены в табл. 1 [19, 32].

Скелетные проявления ГФ

Рахитоподобная деформация скелета и гипоминерализация являются отличительными чертами перинатальной и младенческих форм ГФ. Причиной смерти в раннем возрасте, является развитие легочной и дыхательной недостаточности на фоне глубокой гипоминерализации костей скелета, приводящей к порокам развития грудной клетки и гипоплазии лёгких [31]. Из-за уменьшения размера деформированной грудной клетки некоторым пациентам требуется продолжительная вспомогательная вентиляция лёгких. [23]. При перинатальной форме ГФ уже при рождении отмечают укорочение и деформацию конечностей. Из локтевой или малоберцовой кости могут выступать костно-хрящевые шпоры, прорывая при этом кожу. Скелетные проявления у детей более старшего возраста включают утолщения в области рёберно-хрящевых сочленений (рахитические чётки), X- или O-образное искривление ног, увеличение запястий, коленей и лодыжек из-за расширенных метафизов и, иногда, изменение формы черепа (брахицефалию). Эти пациенты также могут жаловаться

Таблица 1

Клинические проявления гипофосфатазии

Перинатальная форма ГФ	Младенческая форма ГФ	Детская форма ГФ	Взрослая форма ГФ
Внутриутробная гибель плода	Рахит	Рахитоподобная болезнь	Переломы/ псевдопереломы
Гипоминерализация	Переломы	Скелетные деформации	Остеомалиция
Тяжёлые деформации грудной клетки	Лёгочная недостаточность	Нарушение заживления переломов и их рецидив	Хондрокальциноз
Деформации трубчатых костей	Недостаточное питание	Низкая минеральная плотность костной ткани	Остеоартропатия
Костно-хрящевые выросты	Медленная прибавка массы тела	Низкий рост	Псевдоподагра
Разряжение ткани в метафизах на рентгенограммах	Снижение прибавки массы тела и отставание в физическом развитии	Слабость мышц	Хроническая мышечная/костная боль
Слабая оссификация эпифизов	Гипотония	Нарушение моторики	Выпадение зубов во взрослом возрасте
Переломы	В ₆ -зависимые судороги	Хроническая мышечная/костная боль	Нарушения формирования/ прорезывания зубов
Судороги	Нефрокальциноз	Раннее выпадение зубов	
Апноэ	Гиперкальциемия/ гиперкальциурия		
	Преждевременное выпадение молочных зубов		
	Краниосиностоз		

на боль в костях и дискомфорт в суставах (скованность, припухлость) [31]. В более старшем возрасте проявления со стороны костей скелета представлены многократными переломами, наблюдаются стрессовые переломы плюсневых костей, псевдопереломы, плохо заживающие переломы, требующие хирургического вмешательства, нетрудоспособность, хондрокальциноз и сильная хроническая боль [19, 26].

Рентгенографические признаки гипофосфатазии

У пациентов с ГФ наблюдаются характерные рентгенографические нарушения, включающие костно-хрящевые выросты, искривление и укорочение трубчатых костей. Может наблюдаться расширение зон роста, неровность временной зоны кальцификации и расширение метафизов с зонами от разряжения (просветление на рентгенограмме) до остеосклероза. Дефекты, описанные как «языки» просветления на рентгенограмме, которые проецируются от зон роста в метафизы, помогают отличить ГФ от других причин рахита и/или метафизарной остеодисплазии. Последствиями этих нарушений могут быть низкий рост и переломы трубчатых костей. У некоторых пациентов могут выявляться такие рентгенологические явления, как хондрокальциноз, псевдопереломы и псевдоподагра. Части позвонков или целые позвонки кажутся отсутствующими, из-за недостаточной минерализации [18, 31].

Остеопения и сниженная минеральная плотность костной ткани (МПКТ) могут быть обнаружены на снимках двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA). МПКТ может временно восстановиться в подростковом возрасте, но прогрессивно снизиться вновь у взрослых [9, 26].

Полиорганные осложнения ГФ

Наряду с грубыми дефектами костей скелета, наблюдаемыми у пациентов с ГФ, дефицит ЩФ и накопление его субстратов приводят к целому спектру полиорганных осложнений. У выживших новорождённых могут наблюдаться периодическое апноэ, V_6 -зависимые судороги, необъяснимая лихорадка, миелофтизная анемия, внутричерепное кровоизлияние, гипервозбудимость [31].

Неврологические проявления ГФ

Одним из самых ранних и тяжелых симптомов ГФ являются судороги новорождённых, возникающие из-за подъема внеклеточного уровня ПЛФ и последующего дефицита пиридоксала в центральной нервной системе [5, 20]. В некоторых случаях эпилептические приступы могут быть первым и единственным симптомом ГФ, а патология костной ткани выявляется позже. Пиридоксин-зависимые судороги — плохой прогностический признак. У пациентов с ГФ может наблюдаться «функциональный» краниосиностоз в результате раннего сращения швов черепа из-за синостоза мягких тканей. Мембранозные кости черепа могут быть минерализованы только в их центрах, так что области неоссифицированного свода черепа создают иллюзию расхождения швов, хотя они функционально закрыты. Если ребёнок переживает младенческий возраст, то «функциональный» краниосиностоз переходит в истинный. Краниосиностоз может сопровождаться повышенным внутричерепным давлением и отеком диска зрительного нерва, что может потребовать оперативного лечения [8, 31].

Патология почек

У некоторых пациентов с ГФ, особенно младенцев в раннем возрасте, патология костной ткани может выглядеть менее тяжелой, чем биохимические и другие системные нарушения. Низкая активность ЩФ в костном матриксе нарушает формирование кристаллов гидроксиапатита, что приводит к снижению потребления кальция костью, к гиперкальциемии и гиперкальциурии [3, 11, 17]. Гиперкальциемия может вызывать такие симптомы, как мышечная гипотония, апноэ, анорексия, рвота, полидипсия, полиурия, дегидратация, запоры и нефрокальциноз. Взрослые пациенты с ГФ также могут иметь почечные нарушения [3].

Мышечные проявления

Непрогрессирующая миопатия является одним из проявлений заболевания, поэтому у некоторых детей с ГФ наблюдается медленная «утиная» (ковыляющая) походка [31].

Seshia S.S. с соавторами считают, что непрогрессирующая проксимальная миопатия может быть важным ранним признаком ГФ [24]. Это проявление ГФ сложно объяснить, возможно, оно возникает в результате подъёма уровня пирофосфата, который подавляет мышечную активность. У взрослых пациентов также может наблюдаться нарушение походки, но оно связано с отложением пирофосфата кальция дигидрата (ПФКД) и развитием псевдоподагры и/или обызвествляющего периартрита.

Проявления со стороны челюстно-лицевой системы

Для ГФ характерны проблемы, связанные с формированием зубов у детей, подростков и взрослых. У некоторых больных это может быть единственным проявлением болезни и описывается как одонтогипофосфатазия.

Преждевременное выпадение молочных зубов (до 5 лет) происходит из-за аплазии/гипоплазии или дисплазии цементного вещества зуба с минимальной резорбцией корней. Рентгенологически выявляются увеличенные камеры пульпы зубов и корневые каналы — зубы в виде «раковины». В первую очередь обычно теряются резцы, но иногда происходит почти полное разрушение зубочелюстной системы. Также наблюдается истёртость альвеолярных отростков, особенно в передней части нижней челюсти [16, 22].

Лабораторная диагностика

Низкий уровень активности фермента ЩФ — ключевой маркёр ГФ. Важно отметить, что нормальные значения уровня активности ЩФ зависят от возраста [25]. При обследовании пациентов врач должен убедиться, что в результатах лабораторных исследований приведены возрастзависимые верхняя и нижняя границы ЩФ (табл. 2).

ГФ может быть подтверждена, если выявлены низкая активность ЩФ и повышенные уровни субстратов ЩФ (НПФ, ПЛФ и ФЭА). Наиболее специфичным маркёром ГФ является повышение концентрации ПЛФ в плазме, у пациентов его концентрация в 5–100 раз превышает верхнюю границу нормы. Повышение ФЭА в моче также даёт основания предполагать наличие ГФ, но этот маркёр обладает низкой чувствительностью и повышается не у всех больных с ГФ [2, 32].

Поскольку необходимо исключить другие причины рахита, следует проводить и другие лабораторные исследования. Главными показателями являются уровни кальция, фосфора, 25-гидрокси-витамина D и паратиреоидного гормона (ПТГ). В общем случае у пациентов с ГФ могут наблюдаться нормальные уровни 25-гидрокси-витамина D и ПТГ, хотя у некоторых уровень ПТГ может быть низким при выраженной гиперкальциемии. Другие лабораторные показатели, такие, как уровень билирубина в сыворотке крови, активности аспарат-аминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинкиназы и альдолазы, при ГФ обычно остаются в пределах нормы.

Методы ДНК-диагностики применяются для окончательной верификации диагноза и в случаях, когда биохимические изменения не позволяют однозначно установить диагноз. Частых мутаций в гене не описано,

рекомендуется проведение полного анализа гена *ALPL* методом прямого секвенирования [31].

Дифференциальный диагноз

Дифференциальная диагностика ГФ не представляет затруднений. Диагноз ставится на основании клинической картины, результатов рентгенологических исследований и лабораторных данных. В дифференциально-диагностический поиск необходимо включать, прежде всего, другие заболевания, протекающие с рахитом и/или остеомалацией — рахит вследствие дефицита витамина D, гипофосфатемический рахит, почечную остеодистрофию, клейдокраниальную дисплазию и идиопатический ювенильный остеопороз. Переломы и костные деформации, выявленные внутриутробно, требуют исключения несовершенного остеогенеза, кампомелической дисплазии (табл. 3).

Лечение

На сегодняшний день единственным патогенетическим методом лечения ГФ является ферментная заместительная терапия (ФЗТ) асфатазой альфа. Асфатаза альфа — рекомбинантная ЩФ человека [15, 30, 32].

Эффективность применения ФЗТ была продемонстрирована в ряде исследований. В многоцентровом открытом исследовании приняло участие 11 детей (в возрасте менее 36 мес.). Проводились подкожные инъекции асфатазы альфа в дозе 1–3 мг/кг 3 раза в неделю в течение 6 и 12 мес. Первичными конечными точками оценки являлись безопасность и переносимость препарата, и выраженность рахита. Из 11 пациентов 10 до конца прошли 6-месячный курс лечения и 9 — 12-ме-

Таблица 2

Активность щелочной фосфатазы в зависимости от возраста

Возраст	Подозрение на ГФ (Е/л)	Норма (Е/л)
<1 мес.	0–60	60–320
1–11 мес.	0–70	70–350
1–3 года	0–125	125–320
4–6 лет	0–150	150–370
7–9 лет	0–150	150–440
10–11 лет (М)	0–150	150–470
10–11 лет (Ж)	0–150	150–530
12–13 лет (М)	0–160	160–500
12–13 лет (Ж)	0–110	110–525
14–15 лет (М)	0–130	130–530
14–15 лет (Ж)	0–55	55–305
16–19 лет (М)	0–60	60–270
16–19 лет (Ж)	0–40	40–120
>19 лет	0–40	40–120

Примечание. Данные с сайта: ARUP Laboratories website [http://ltd.aruplab.com/ tests/pub/0021020](http://ltd.aruplab.com/tests/pub/0021020)

сячный [32]. Для определения степени выраженности рахитоподобных изменений скелета применялась 7-балльная шкала оценки рентгенографических изменений при рахите (RGI-C). Пациент со средней оценкой RGI-C в +2 или более по заключению трёх независимых рентгенологов, считался ответившим на лечение. У одного пациента излечение костей стало очевидным уже на 3-й неделе исследований и описывалось как экстраординарное на 24-й. У 9 из 10 пациентов, прошедших 6-месячный курс лечения, оценка RGI-C возросла с исходного уровня 55 до 100 (90%; 95% доверительный интервал [ДИ]), а у 8 из 9 пациентов, завершивших 48-недельный период лечения, эта оценка улучшилась от 52 до 100 (89%; 95% ДИ,) до соответствия критерию ответа на лечение. У одного пациента, несмотря на несоответствие критерию «ответившего», тем не менее было зафиксировано улучшение минерализации через 48 недель. Перед началом исследования у всех пациентов, кроме одного, имелась дыхательная недостаточность разной степени выраженности. К 48 неделе 6 из 9 пациентов самостоятельно дышали без какой-либо респираторной поддержки (по сравнению с 1 из 11 на исходном уровне), один получал дополнительный кислород через носовую канюлю, один находился на искусственной вентиляции лёгких только ночью, и один по-прежнему находился на полной искусственной вентиляции лёгких [4].

Возникшие во время лечения нежелательные явления (ВВЛНЯ) являлись в целом несерьёзными (148,81%), лёгкими (110,60%) или умеренными (56,31%) по выраженности и расценивались как не связанные с терапией асфотазой альфа (110,60%). Связанные с проводимым лечением нежелательные реакции главным образом состояли из инфузионных и инъекционных реакций и реакций в месте введения; все они являлись лёгкими и умеренными по выраженности и несерьёзными. Серьёзные нежелательные явления (СНЯ) (34,19%), в целом, соответствовали проявлениям и осложнениям основного заболевания ГФ и были сочтены не связанными с лечением [32].

На фоне терапии наблюдалось снижение уровней субстратов ЩФ — НПФ и ПЛФ. Наблюдался подъём уровня ПТГ в сыворотке несмотря на это, ни у одного из

пациентов не возникла симптоматическая гипокальциемия, и не проявился ни один из признаков синдрома «голодных костей».

В 2014 г. были представлены результаты продолжения данного исследования [33]. Эффективность асфотазы альфа оценивалась на 10 больных. 3-летняя общая выживаемость составила 90%. Помимо шкалы RGI-C изменения в скелете оценивались по 10-балльной шкале тяжести рахита RSS (rickets severity scale). Для 8 из 10 пациентов изменения медианы RGI-C составило +2,50 ($p = 0,008$) и медианы RSS -6,25 ($p = 0,016$). На момент включения в исследование 8 пациентам из 10 требовалась кислородная поддержка, спустя 3,5 года кислородная поддержка была необходима только одному пациенту.

Для оценки тяжести заболевания и перспектив пациентов без патогенетического лечения проведено ретроспективное исследование естественного течения болезни у пациентов с перинатальной и инфантильной формами ГФ. Из 48 включенных в исследование пациентов на момент сбора данных 73% (35/48) умерло, большинство из них — 58% — на первом году жизни. Медиана выживаемости составила 8,9 мес. У пациентов отмечались деформация грудной клетки (91%), задержка развития (76%), краниосиностоз (61%) и нефрокальциноз (52%) [33].

Симптоматическое лечение

Назначение диеты с низким содержанием кальция в сочетании с гидратацией, терапией диуретиками или глюкокортикоидами рекомендуется пациентам с выраженной гиперкальциемией. При ГФ следует избегать традиционных подходов к лечению рахита и остеомалации — применения витамина D и минеральных пищевых добавок, кроме случаев, если концентрация кальция, нФ и метаболитов витамина D в плазме снижена. У пациентов с ГФ избыток витамина D может спровоцировать или усилить гиперкальциемию и гиперкальциурию. Mohn et al. привели описание 11-месячного ребёнка с ГФ, у которого на фоне применения добавок с кальцием и витамином D в высоких дозах развились

Таблица 3

Дифференциальная диагностика гипофосфатазии

Заболевание	Гипофосфатазия	Рахит	Фосфат диабет	Несовершенный остеогенез
ЩФ в крови	↓	↑	↑	Норма
Пиридоксальфосфат в крови	↑	↓	↓	Норма
Фосфоэтаноламин в моче	↑	↓	↓	Норма
Са/Р	↑ или норма	↓	↓	Норма
Паратгормон	↓ или норма	↑	↑	Норма
Витамин D	Норма	↓	↑	Норма

нарушение роста и развития, нефрокальциноз, и нарушилась минерализация костей [17].

Заживление переломов у пациентов с ГФ часто нарушено и в некоторых случаях необходимы хирургические вмешательства. Из-за выраженной гипоминерализации костей применение хирургической фиксации переломов должно проводиться с осторожностью и только опытными хирургами-ортопедами. Большинство пациентов нуждается в применении кресел-каталок, ходунков, тростей и/или ортезов.

В целях коррекции дефицита ЩФ предпринимались попытки переливания ЩФ плазмы от пациентов с болезнью Педжета [30]. На рентгенограммах и было заметно некоторое улучшение минерализации метафизов и отсутствовали признаки утяжеления рахита, однако для лечения ранней формы ГФ данный подход не продемонстрировал долговременной пользы. У младенцев с ГФ также были предприняты попытки трансплантации клеток костной ткани и костного мозга, без существенного эффекта [6, 28].

Сообщалось о потенциальной пользе применения терипаратида, рекомбинантной формы паратиреоидного гормона (ПТГ), у нескольких взрослых пациентов с ГФ [29]. Результаты этих исследований противоречивы. Whyte с соавторами показали, что у 56-летнего взрослого пациента с ГФ через 6 недель лечения терипаратидом наблюдалось заживление перелома, ослабление боли, повышение активности ЩФ, и снижение уровней субстратов и улучшение минерализации костей [29]. В другом исследовании сообщалось, что лечение ПТГ не дало пользы с точки зрения улучшения показателей минеральной плотности костной ткани или сывороточных уровней ЩФ. Более того, лечение было прервано по причине усиления костной боли [14]. Таким образом, с учётом этих случаев с различными исходами, нельзя составить окончательное мнение касательно применения терипаратида у пациентов с ГФ. Терипаратид не должен применяться у детей и у молодых взрослых пациентов из-за повышенного риска развития остеосаркомы.

У пациентов с ГФ следует избегать применения бисфосфонатов, синтетических аналогов неорганического пирофосфата [10]. Deeb et al. применяли бисфосфонат для лечения пациента с младенческой формой ГФ. Препарат не оказал положительного влияния ни на кости скелета, ни на течение заболевания у пациента [9]. Mornet и Nupres считают, что лечение бисфосфонатами может оказаться своего рода «подбрасыванием дров в костёр». У взрослых с ГФ и остеомалацией, получавших лечение бисфосфонатами, были описаны латеральные подвертнутые псевдопереломы бедренной кости [26].

Поскольку ГФ относится к числу «ультраредких» тяжёлых заболеваний, требующих привлечения экспертов высокого уровня, в нашей стране целесообразно формирование структуры экспертных центров, осуществляющих диагностику, лечение и профилактику дан-

ного заболевания. Центры должны располагать возможностями современного симптоматического и патогенетического лечения ГФ. Диагностические центры должны предоставлятьотягощённым семьям возможности пренатальной и преимплантационной диагностики заболевания.

Список литературы

1. Новиков П.В. Рахит и наследственные рахитоподобные заболевания у детей. — М., 2006. — 336 с.
2. Отрошенко Е.С., Васьурин Т.В., Цыгин А.Н. Случай диагностики наследственной гипофосфатазии // Педиатрическая фармакология выпуск. — 2009. — Т. 6. — С. 88—89.
3. Auran A., Alon U.S. Resolution of medullary nephrocalcinosis in children with metabolic bone disorders // *Pediatr. Nephrol.* — 2005. — Vol. 20. — P. 1143—1145.
4. Barcia J.P., Strife C.F., Langman C.B. Infantile hypophosphatasia: treatment options to control hypercalcemia, hypercalciuria, and chronic bone demineralization // *J. Pediatr.* — 1997. — Vol. 130. — P. 825—828.
5. Baumgartner-Sigl S., Haberlandt E., Mumm S. et al. Pyridoxine-responsive seizures as the first symptom of infantile hypophosphatasia caused by two novel missense mutations (c.677T>C, p.M226T; c.1112C>T, p.T371I) of the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene // *Bone.* — 2007. — Vol. 40(6). — P. 1655—1661.
6. Cahill R.A., Wenkert D., Perlman S.A. et al. Infantile hypophosphatasia: transplantation therapy trial using bone fragments and cultured osteoblasts // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2007. — Vol. 92(8). — P. 2923—2930.
7. Chown B. Renal rickets and dwarfism: A pituitary disease // *Brit. J. Surg.* — 1936. — Vol. 23(19). — P. 552—566.
8. Collmann H., Mornet E., Gattenlohner S. et al. Neurosurgical aspects of childhood hypophosphatasia // *Childs Nerv. Syst.* — 2009. — Vol. 25(2). — P. 217—223.
9. Deeb A.A., Bruce S.N., Morris A.A., Cheetham T.D. Infantile hypophosphatasia: disappointing results of treatment // *Acta Paediatr.* — 2000. — Vol. 89(6). — P. 730—733.
10. Drake M.T., Clarke B.L., Khosla S. Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice // *Mayo Clin. Proc.* — 2008. — Vol. 83(9). — P. 1032—1045.
11. Eade A.W.T., Swannell A.J., Williamson N. Pyrophosphate arthropathy in hypophosphatasia // *Ann. Rheum. Dis.* — 1971. — Vol. 40(2). — P. 164—170.
12. Fraser D. Hypophosphatasia // *Am. J. Med.* — 1957. — Vol. 22(5). — P. 730—746.
13. Greenberg C.R., Evans J.A., McKendry-Smith S. et al. Infantile Hypophosphatasia: Localization within Chromosome Region 1p36.1-34 and Prenatal Diagnosis Using Linked DNA Markers // *Am. J. Hum. Genet.* — 1990. — Vol. 46(2). — P. 2186—2193.
14. Laroche M. Failure of teriparatide in treatment of bone complications of adult hypophosphatasia // *Calcif. Tissue Int.* — 2012. — Vol. 90(3). — P. 250.
15. McKee M.D., Nakano Y., Masica D.L. et al. Enzyme Replacement Therapy Prevents Dental Defects in a Model of Hypophosphatasia // *J. Dent. Res.* — 2011. — Vol. 90(4). — P. 470—476.
16. Millan J.L., Narisawa S., Lemire I. et al. Enzyme replacement therapy for murine hypophosphatasia // *J. Bone Miner. Res.* — 2008. — Vol. 23(6). — P. 777—787.
17. Mohn A., DeLeonibus C., de Giorgis T. et al. Hypophosphatasia in a child with widened anterior fontanelle: lessons learned from late diagnosis and incorrect treatment // *Acta Paediatr.* — 2011. — Vol. 100(7). — P. 43—46.

18. Mornet E., Nunes M.E. Hypophosphatasia. — Seattle, WA: University of Washington; 2007. Mornet E. Hypophosphatasia // Best Practice & Research Clinical Rheumatology. — 2008. — Vol. 22. — P. 113–127.
19. Mornet E. Hypophosphatasia // Orphanet J. Rare Dis. — 2007. — Vol. 2. — P. 40.
20. Nunes M.L., Mugnol F., Bica I., Fiori R.M. Pyridoxine-Dependent Seizures Associated With Hypophosphatasia in a Newborn // J. Child. Neurol. — 2002. — Vol. 17(3). — P. 222–224.
21. Rathbun J.C. Hypophosphatasia; a new developmental anomaly // Am. J. Dis. Child. — 1948. — Vol. 75(6). — P. 822–831.
22. Reibel A., Maniere M.-C., Clauss F. et al. Orodental phenotype and genotype findings in all subtypes of hypophosphatasia // Orphanet J. Rare Dis. — 2009. — Vol. 4. — P. 6.
23. Rodriguez E., Bober M., Davey L. et al. Respiratory Mechanics in an Infant With Perinatal Lethal Hypophosphatasia Treated With Human Recombinant Enzyme Replacement Therapy // Pediatric Pulmonology — 2012. — Vol. 47(9). — P. 917–922.
24. Seshia S.S., Derbyshire G., Haworth J.C., Hoogstraten J. Myopathy with hypophosphatasia // Arch. Dis. Child. — 1990. — Vol. 65(1). — P. 130–131.
25. Styne D. Pediatric Endocrinology: Laboratory Values. — Lippincott Williams & Wilkins, 2004. — P. 347.
26. Sutton R., Mumm S., Coburn S.P. et al. Atypical Femoral Fractures During Bisphosphonate Exposure In Adult Hypophosphatasia // J. Bone Miner. Res. — 2012. — Vol. 27(5). — P. 987–994.
27. Terkeltaub R. Inorganic pyrophosphate generation and disposition in pathophysiology // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. — 2001. — Vol. 281(1). — P. 1–11.
28. Whyte M.P., Kurtzberg J., McAlister W.H. et al. Marrow cell transplantation for infantile hypophosphatasia // J. Bone Miner. Res. — 2003. — Vol. 18(4). — P. 624–636.
29. Whyte M.P., Mumm S., Deal C. Adult hypophosphatasia treated with teriparatide // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2007. — Vol. 92(4). — P. 1203–1208.
30. Whyte M.P., Valdes R., Jr., Ryan L.M., McAlister W.H. Infantile hypophosphatasia: enzyme replacement therapy by intravenous infusion of alkaline phosphatase-rich plasma from patients with Paget bone disease // J. Pediatr. — 1982. — Vol. 101(3). — P. 379–386.
31. Whyte M.P. Hypophosphatasia // Glorieux F.H., Pettifor J.M., Juppner H., editors. Pediatric Bone; Biology and Diseases. 2nd ed. — London, UK: Academic Press, 2012.
32. Whyte M., Greenberg CR, Salman NJ et al. Enzyme-Replacement Therapy in Life-Threatening Hypophosphatasia // N. Engl. J. Med. — 2012. — Vol. 366(10). — P. 904–913.
33. Whyte M.P., Simmons J.H., Bishop N. et al. Asfotase alfa: sustained efficacy and tolerability in infants and young children with life-threatening hypophosphatasia. Poster presented at the 2014 // Pediatric Academic Societies and Asian Society for Pediatric Research Joint Meeting, Vancouver, B.C., Canada. — 2014. — May 4. — Abstract 752396.

Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of hypophosphatasia

Belova N.A.¹, Buchinskaya N.V.², Zakharova E.Ju.³, Kalinichenko N.Ju.⁴, Kenis V.M.⁵, Kutsev S.I.³, Melchenko E.V.⁵, Mikhailova L.K.⁷, Tiulpakov A.N.⁴, Riabykh S.O.⁶

¹ — Centre of inborn pathology Global Medical Systems Clinics and Hospitals

² — Saint-Petersburg State Pediatric Medical University

³ — Federal State Budgetary Scientific Institution Research Centre for Medical Genetics

⁴ — Federal State Budgetary Institution «Endocrinology Research Centre», Moscow

⁵ — Federal State Budgetary Institution «Scientific and Research Institute for Children's Orthopedics n. a. G.I. Turner»

⁶ — Federal State Budgetary Institution «Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics» of Ministry of Health, the Russian Federation

⁷ — Federal State Budgetary Institution Central Institute of Traumatology and Orthopaedics named after N.N. Priorov, Moscow, Russia

Hypophosphatasia (HPP) is rare inborn error of metabolism caused by absent or virtually absent alkaline phosphatase (ALP) enzyme activity. HPP involves congenital profound skeletal hypomineralization leading to rickets or osteomalacia. The effective enzyme replacement therapy (ERT) for HPP was developed during last years. The guideline for diagnosis and management of patients with HPP was elaborated by Russian panel of experts. The guideline includes the current classification, the description of specific mechanisms of pathogenesis and the diagnostic algorithm of HPP. The recommendations for optimal supportive care as well as the first results of ERT for HPP were presented in this guideline.

Key words: hypophosphatasia, inborn error of metabolism, clinical guideline