

Генетическая паспортизация населения – новая технология профилактики и реабилитации в медицине

1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ. ВОЗМОЖНОСТИ И ЗНАЧЕНИЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Генетическая паспортизация – новая глава в эстетической медицине. Сегодня благодаря возможности направленного воздействия на биохимический маршрут, прописанный в генах, врачи получили эффективный инструмент для лечения пациентов, продления жизни и повышения ее качества. Как известно, переход от красоты молодости к увяданию старости предопределен генетически. Но с помощью разработанных на основе (ранней) генетической паспортизации рекомендаций по выбору индивидуальной диеты и фармако-терапии, режима движений и эстетических процедур, а также путем улучшения среды обитания, оценки истинной значимости вредных привычек и отказа от них становится возможным управлять этим процессом. Очень важно, что подобный подход приводит к омоложению не только физической, но и психической составляющей биологического возраста человека.

В. Третьяков, кандидат биологических наук, funnygen@mail.ru

Э. Генерозов, кандидат биологических наук,

О. Громова, доктор медицинских наук,

В. Говорун, доктор биологических наук

НИИ Физико-химической медицины

Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ, Москва, Россия

Прогресс в создании современных биоинформационных технологий во многом обусловлен выполнением международной программы «Геном человека», главной задачей которой было побуквенное прочтение всей генетической информации, записанной в геномной ДНК человека. Огромный объем информации, а также новейшие технологические решения, реализованные в ходе выполнения этой программы, позволили сформировать новые научные направления, в частности, генотипирование с возможностью создания на его основе индивидуального генетического паспорта человека. Полное секвенирование генома сегодня достаточно дорого и занимает много времени. Однако для того, чтобы узнать, к каким болезням у человека есть предрасположенность, не нужно секвенировать весь его геном, достаточно «прочитать» только определенные его участки: «слова» или даже «буквы».

Генетический паспорт человека – это совокупность данных о присутствии в геноме индивидуума определенных точечных изменений (полиморфизмов, мутаций), или «снипов» (от англ. SNP – single nucleotide polymorphism). SNP – однонуклеотидные позиции в ДНК, для которых в некоторой популяции существуют различные варианты последовательностей (аллели), причем редкий аллель встречается с частотой менее 1% [1]. В ходе реализации программы «Геном человека» было выявлено более 4 миллионов таких вероятных точек. Это означает, что на каждый ген человека приходится несколько возможных полиморфизмов. Поэтому, выявив только эти места и не прибегая к полному анализу последовательности всего генома, можно дать заключение о статусе генетического аппарата индивидуума. Точечный нуклеотидный полиморфизм, а также более крупные генетические повреждения (делеции,

Генетическая паспортизация населения – новая технология профилактики и реабилитации в медицине

хромосомные aberrации) являются причиной развития как моногенных, так и мультифакторных заболеваний (таблица 1).

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ МЕДИЦИНСКОГО ГЕНОТИПИРОВАНИЯ [ИЗ ОБЗОРА СТАТЕЙ PUBMED ДО 2006 ГОДА]

1. Группы заболеваний:	Число выявленных полиморфизмов
<i>сердечно-сосудистые</i>	1700
<i>онкологические</i>	5700
<i>нейродегенеративные</i>	1800
<i>заболевания обмена веществ</i>	1400
2. Фармакогеномный анализ**	900

*** Фармакогеномный анализ – изучение влияния генетических факторов на особенности реакций организма в ответ на медикаментозное воздействие*

Генетическая паспортизация, или генотипирование, имеет колоссальное значение для медицины. Комплекс мероприятий, включающий построение индивидуальных генетических карт, сбор и анализ всей совокупности данных по полиморфизмам в определенной группе населения (популяции), определение медицинской значимости мутаций и, в конечном итоге, картирование заболеваний по группам, является одной из самых актуальных задач не только генетики человека, но и практической медицины.

Сравнительный анализ различий между геномными профилями групп больных людей и контрольных групп здоровых пациентов позволяет выявлять гены, ответственные за развитие конкретной патологии. В настоящее время опубликованы данные о нескольких тысячах полиморфизмов, влияющих на изменение биохимических процессов в организме человека. Знание генетических основ патологического процесса обеспечивает возможность определения генетических особенностей заболевания отдельного пациента (генодиагностика), на основании чего составляют рекомендации по проведению полноценного комплекса профилактических мер.

Несомненно, что внедрение в медицину такого подхода расширит арсенал методов терапии,

а возможно и генотерапии. Другими словами, появляется научно-обоснованный метод, благодаря которому с определенной степенью вероятности можно оценить риск развития тех или иных заболеваний у любого человека, а при выполнении специально разработанных профилактических мер – отсрочить их проявление.

В настоящее время в большинстве развитых стран мира (США, Франции, Канаде, Германии, Великобритании, Японии) реализация программ генетической паспортизации уже начата и осуществляется при финансовой поддержке правительственных, региональных и частных фондов. К сожалению, в нашей стране работы по определению стратегии генетической паспортизации населения и созданию отечественной приборной базы для нее до настоящего времени не проводятся.

2 ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБЗОР СОВРЕМЕННЫХ ДАННЫХ ПО ГЕНОТИПИРОВАНИЮ И ПОЛИМОРФИЗМАМ

На базе НИИ физико-химической медицины (НИИ ФХМ) Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию России в 2003 году был создан Инновационный центр по постгеномным технологиям, где была выработана стратегия исследований, обеспечивающая развитие новых методов ранней диагностики и молекулярной эпидемиологии бактериальных и вирусных инфекций. Сегодня генодиагностику и генотипирование возбудителей инфекционных заболеваний осуществляют биомолекулярными методами с использованием самых современных высокотехнологичных роботизированных комплексов. Полная компьютеризация позволяет проводить обработку результатов с помощью универсального программного обеспечения, что, в свою очередь, способствует созданию банка данных и проведению полноценного сравнительного анализа результатов генотипирования.

А. Метод идентификации точечных полиморфизмов, или SNP

Одним из наиболее точных и высокопроизводительных методов, позволяющих быстро и относительно недорого идентифицировать SNP, является метод, основанный на реакции минисекве-

нирования с последующим анализом продуктов на MALDI-TOF-масс-спектрометре [2–4].

В Центре совместно с лабораторией молекулярной генетики человека этот метод оптимизирован для каждого полиморфизма, что дает возможность одновременно анализировать до 150 SNP в геноме человека в течение нескольких часов (схема 1). Похожие технологии применяют и некоторые зарубежные компании, такие как Sequenome (Mass Array Systems, США) и Bruker Daltoniks (Genolink Systems, Германия).

Процесс идентификации SNP состоит из следующих этапов:

- проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР) для увеличения числа копий участка ДНК, последовательность которого включает исследуемый полиморфизм;
- инактивация нуклеотидов (dNTP), оставшихся в ПЦР-смеси, с помощью специального фермента – фосфатазы (SAP – shrimp alkaline phosphatase);
- проведение собственно реакции минисеквенирования, где в качестве матрицы используют ПЦР-продукт;
- очистка продуктов минисеквенирования от положительно заряженных ионов с помощью



Схема 1. Основные этапы анализа точечных полиморфизмов: использование микропланшетного формата и средств автоматизации обуславливает высокую скорость постановки теста (384 образца за 5 часов)

катион-обменной смолы. Данный этап необходим для избавления от «шумов», которые появляются в масс-спектре образцов из-за наличия ионов K^+ , Na^+ и Ca^{++} в буферном растворе;

- анализ образцов на масс-спектрометре.

Для реакции минисеквенирования используют короткий (от 15 до 30 нуклеотидов) синтезированный идентично участку ДНК олигонуклеотидный зонд, на 3'-конце которого находится нуклеотид, предшествующий нуклеотиду с точечной мутацией, а также определенный набор из 2'-дезоксидрибонуклеотидов (dNTP) и 2', 3'-дидезоксидрибонуклеотидов (ddNTP). Нуклеотиды ddNTP – терминаторы амплификации, поскольку не способны создавать фосфодиэфирную связь со следующим нуклеотидом.

В ходе минисеквенирования ДНК-полимераза достраивает зонд комплиментарно матрице, в роли которой выступает ПЦР-продукт нужного участка гена. Например, для фрагмента ДНК 5'-ACCGATGGCCGATGCATC [C/T] GTC -3' (полиморфизм C->T) при использовании зонда 5'-ACCGATGGCCGATGCATC -3' и набора из реагентов (dT, ddC, ddG) продуктом реакции при наличии аллеля дикого типа «С» будет ACCGATGGCCGATGCATC+ddC, а в случае мутантного аллеля «Т» – ACCGATGGCCGATGCATC+dT+ddG. При гетерозиготном генотипе образуются оба продукта (схема 2).

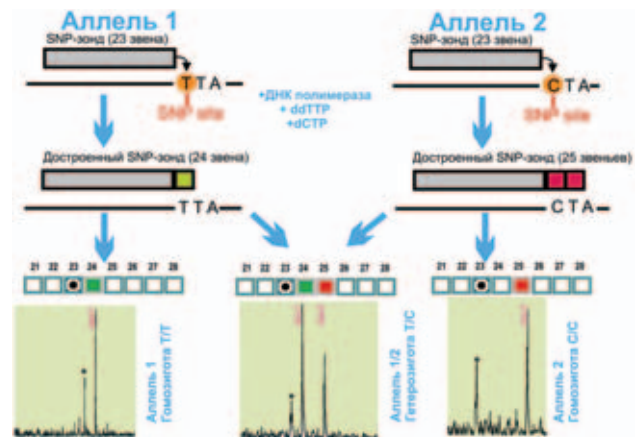


Схема 2. Схема анализа точечных полиморфизмов: остановка реакции минисеквенирования происходит на 24 (аллель 1, дикий тип) или 25 нуклеotide «Т» (аллель 2, мутантный тип), использование высокоточных методов масс-спектрометрического анализа дает возможность определять как гомозиготные (Т/Т или С/С), так и гетерозиготные (Т/С) варианты полиморфизмов в клинических образцах

Генетическая паспортизация населения – новая технология профилактики и реабилитации в медицине

Масса олигонуклеотидного зонда ACCGATGGCCGATGCATC составляет 5485 Да. Масса продуктов реакции – 5758 и 6102 Да для аллелей «С» и «Т», соответственно.

Регистрацию продуктов производят на времяпролетном (Time-of-Flight) MALDI масс-спектрометре (“Reflex IV”, “Microflex” или “Ultraflex II”, Bruker Daltonics, Германия).

Таким образом, по результатам масс-спектрального анализа образца после реакции минисеквенирования можно определить SNP-генотип для любого образца ДНК.

Б. Возможности генетической паспортизации как метода популяционного скрининга для диагностики заболеваний и фармакогеномный анализ

Использование диагностических методов, основанных на анализе генетических маркеров, позволяет осуществлять раннюю диагностику заболевания у пациентов без выраженных клинических проявлений патологии и своевременно назначать адекватную терапию. Адекватность лекарственной терапии во многом зависит от индивидуальных генетических особенностей пациента. Благодаря генодиагностике в несколько раз сокращается время подбора препаратов и определения их дозировки, появляется возможность назначать более эффективные схемы лечения, а также снижать количество осложнений, связанных с неблагоприятными лекарственными реакциями.

1. Фармакогеномные исследования варфарина

Очень показательны фармакогеномные исследования варфарина – антикоагулянта непрямого действия, применяемого для лечения

Аллельные варианты гена:



Схема 3. Полиморфизм гена CYP2C9: нормальная каталитическая активность фермента соответствует варианту CYP2C9*1 (верхняя часть схемы), наличие мутаций, заключающихся в замене аргинина на цистеин в 144 позиции или изолейцина на лейцин в 359 позиции, приводит к существенному снижению каталитической активности фермента (варианты CYP2C9*2 и CYP2C9*3)

тромбозов, тромбоэмболий, снижения риска инфаркта. Интенсивность воздействия антикоагулянта определяется индивидуальной чувствительностью, обусловленной генетическим полиморфизмом цитохрома P-450 (изоформа CYP2C9) (схема 3) [5].

Чтобы избежать передозировки, ведущей к кровотечениям, при лечении носителей аллелей *2 и *3, целесообразно снижать дозу варфарина (таблица 2) [5]. Исследования показали, что в российской популяции количество носителей аллелей *2 и *3 – не менее 18% (таблица 3) [6]. Эти цифры подтверждены и нашими собственными данными.

При лечении носителей аллели CYP2C9 *3 необходимо снижать дозы следующих препаратов: фенитоина – при лечении эпилепсии [7], толбутамида – при инсулиннезависимом диабете [8], лозартана – при гипертензии [9], а также при назначении диклофенака, хлорпропамида, глипизида, флурбипрофена, торсемида, ирбесартана, ибупрофена [10].

ТАБЛИЦА 2. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА CYP2C9 И ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ДОЗА ВАРФАРИНА (МГ/СУТКИ)

Генотип (аллели гена CYP2C9)	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
Терапевтическая доза варфарина, мг/сутки	5,28	4,59	3,78	3,04	3,52	0,5

ТАБЛИЦА 3. ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА CYP2C9 В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Алель	Число носителей, %
CYP2C9 *1	82
CYP2C9 *2	11
CYP2C9 *3	7

При проведении противоопухолевой терапии (например, препаратами оксалиплатин, фторурацил, метотрексат) для определения индивидуальной непереносимости и эффективности препарата необходима проверка работы генов систем метаболизма и репарации ДНК (ERCC1, ERCC2, XRCC1, DPYD, TYMS, UGT1A1, GSTP1, MTHFR и других) [www.genepassport.ru].

2. Предупреждение остеопороза в постменопаузе

Возможности проведения генетической паспортизации очень важны для профилактики возрастных патологических процессов, таких как остеопороз после менопаузы. В США каждая третья белая женщина после менопаузы и 12% мужчин после 50 лет заболевают остеопорозом. Анализ данных более 45 тысяч пациентов (включая 33 тысячи женщин) [11–13] пока не прояснил наследственных причин развития остеопороза. Однако среди 589 женщин в постменопаузальном периоде выявлена корреляция между частотой переломов и аллелями гена рецептора витамина D (VDR) – в частности, полиморфизма BsmI [14]. Исследования показали, что наличие полиморфизма BsmI в гетерозиготном состоянии увеличивает общий риск переломов в 1,5 раза, в гомозиготном – более чем в 2,0 раза [14].

Гомозиготный полиморфизм T/T в гене коллагена COL1A1 Sp1 (G/T) приводит у женщин к значительному уменьшению плотности костной ткани шейки бедра и позвоночника и в 1,4 раза увеличивает риск перелома позвоночника [12], а полиморфизм гена фарнесилдифосфатсинтазы (FDPS) у женщин в пожилом возрасте на 3–7% снижает костную массу [15].

Наличие полиморфизма Cdx2, промотора гена VDR, на 20% снижает риск перелома позвоночника независимо от пола человека [11]. Гомозиготный полиморфизм XbaI в гене

α -рецептора эстрогена (ESR1) уменьшает общий риск переломов у женщин любого возраста на 19% (у мужчин – на 9%) и риск переломов позвоночника – на 35% (у мужчин – на 16%) [13].

Непереносимость лактозы (молочного сахара) из-за генетического варианта C/C полиморфизма –13910 T/C гена лактазы LCT и неосознанное стремление к отказу от молочных продуктов, вызывающих вздучивание, спазмы и диарею (клиническая картина похожа на хронический панкреатит), приводят к значительному уменьшению костной массы и 2–5-кратному увеличению риска переломов у пожилых людей [16–19]. Этот полиморфизм встречается у 1–7% популяции в Швеции, 10–18% – в Германии, 20–25% – в Австрии, 20–40% – в Швейцарии, 50–60% – в Греции, Испании и Италии, более 75% – в Турции; то есть чем южнее ареал обитания популяции, тем чаще встречается вариант C/C. Этим объясняется отсутствие в кухне южных народов блюд из свежего молока [16].

При выявлении у пациента вышеперечисленных полиморфизмов ему следует уделять серьезное внимание диете, балансу витамина D и кальция, оздоровительным программам с применением рациональных режимов естественной и аппаратной инсоляции.

3. Занятия спортом и фитнесом

Способность к силовым нагрузкам и скоростным видам спорта также генетически детерминирована. Имеется много данных о негативных последствиях интенсивных тренировок и даже смерти атлетов.

В настоящее время для научно-обоснованного отбора спортсменов активно изучают особенности работы генов, участвующих в двигательной функции.

Среди кандидатов на роль генетических маркеров рассматривают и гены, определяющие функции сердечно-сосудистой системы: ген ангиотензиногена (AGT) [20, 21], ген ангиотензин-конвертирующего фермента (ACE) [22–25], ген рецептора I типа ангиотензина II (AGTR1) [21, 26], ген β_2 -рецептора брадикинина (β_2 BKR) [27, 28], ген NO-синтазы (NOS) [21, 29, 30].

Не только в профессиональной спортивной медицине, но и в элитных фитнес-клубах США и Японии выполняют генетическое тестирование для принятия правильного решения о тренировках и физических нагрузках.

Генетическая паспортизация населения – новая технология профилактики и реабилитации в медицине

4. Атеросклероз и тромбоэмболические заболевания

Атеросклероз – гипертрофированный процесс «естественного» восстановления стенки сосудов. Первые признаки атеросклероза сосудов можно наблюдать даже у новорожденных. С возрастом этот процесс прогрессирует, но у разных людей с разной интенсивностью. Это связано с генетическими факторами, определяющими индивидуальный липидный и углеводный обмен веществ. Курение, нерациональное питание, стресс, инфекции способствуют более быстрому развитию атеросклероза. В России ситуация критическая: в крупных городах ежегодно регистрируют до 300 случаев инфаркта миокарда на каждые 100 тысяч жителей. Поздние стадии атеросклероза сосудов мозга приводят к инсульту и старческому слабоумию. Причин для этого много, но самая весомая – генетическая предрасположенность.

Осложнением атеросклероза и атеросклеротического поражения сосудов являются тромбоэмболии сосудов.

Тромбоэмболические заболевания бывают вызваны нарушениями в процессах системы свертываемости крови. В терапевтических стационарах, где преобладают больные с сердечно-сосудистыми заболеваниями, тромбоэмболии (ТЭ) легочной артерии встречаются в 15–30% случаев.

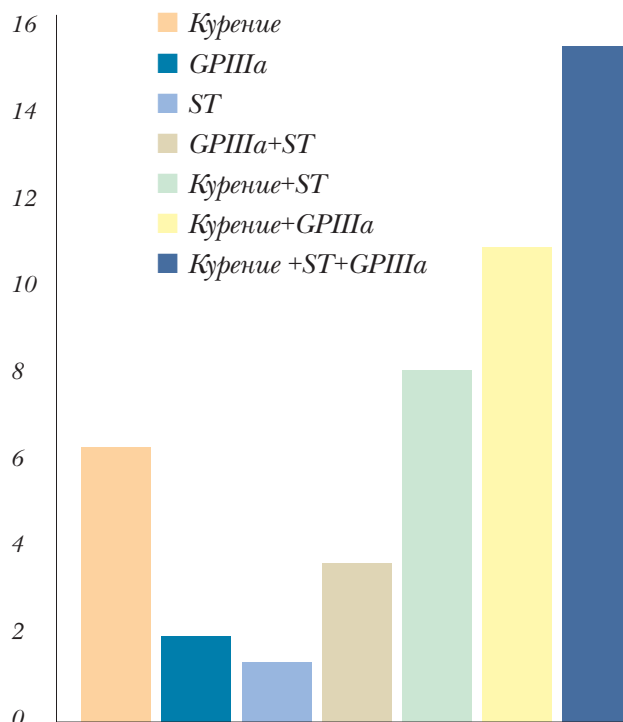
Во многих случаях ТЭ являются непосредственной причиной смерти, особенно у послеоперационных больных и больных раком. Установлено, что среди больных раком при наличии ТЭ смертность увеличивается в несколько раз, при этом встречаемость эмболии существенно превышает среднестатистические значения. Причины большого числа ТЭ у больных раком и больных, перенесших масштабное хирургическое вмешательство, следует искать в проводимой терапии, не согласованной с генетической предрасположенностью больного.

Согласно патологоанатомическим отчетам, у 60% больных, умерших в больницах общего профиля, также обнаруживают признаки тромбоэмболических заболеваний. Частота тромбо-

зов артерий сердца при инфаркте миокарда составляет 70–85%. Тромбозы сосудов мозга определяют развитие инсультов в 75–80% случаев [31–38].

В последние годы в связи с открытием ряда ранее неизвестных генетически обусловленных дефектов системы свертываемости крови, предрасполагающих к тромбозу (полиморфизмы фактора V (Ляйден), протромбина и пр. [см. www.funny.ru]), стало возможным объяснение случаев тромботических осложнений. Особенностью полиморфных вариантов данных генов является то, что они могут долгое время никак себя не проявлять. Патологические симптомы могут проявиться при дополнительных условиях, таких как особенности питания, беременность, прием некоторых лекарств, образ жизни и другие (см. гистограмму).

В связи с этим основными проблемами данной области современной медицины являются выявление генетических маркеров тромбофилий и отработка при помощи фармакогеноми-



Гистограмма. Кооперативный эффект генетических и средовых факторов, определяющих риск развития инфаркта миокарда у мужчин в возрасте до 45 лет: GP1A – полиморфизм тромбоцитарного рецептора фибриногена; ST – полиморфизм транспортера серотонина [38]

ки режимов противотромботической терапии (дозировки антикоагулянтов и длительности их назначения).

5. Метаболизм фолиевой кислоты и связанные с ним заболевания

Роль генетической паспортизации в современной медицинской диагностике прекрасно иллюстрируют данные по полиморфизмам метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) – фермента, играющего ключевую роль в метаболизме фолиевой кислоты. MTHFR катализирует восстановление 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат.

Последний является активной формой фолиевой кислоты, необходимой для синтеза метионина из гомоцистеина и далее – образования S-аденозилметионина – главного участника метилирования ДНК. Дефицит MTHFR оказывает не только тератогенное (повреждающее плод), но и мутагенное (повреждающее ДНК) воздействие.

В настоящее время известно около двух десятков мутаций этого гена, нарушающих функцию фермента. Наиболее изученной мутацией является вариант, в котором нуклеотид цитозин (С) в позиции 677 заменен тимидином (Т). Наличие гомозиготы 677Т/Т выявлено у 10–16% европейцев, носителями гетерозиготного варианта (677С/Т) этого гена являются 56% обследованных лиц.

Полиморфизм 677Т гена MTHFR связан по крайней мере с четырьмя группами многофакторных заболеваний: сердечно-сосудистыми болезнями, дефектами развития плода, колоректальной аденомой и раком молочной железы и яичника.

Гипергомоцистеинемия (ГГ). Аминокислота гомоцистеин является промежуточным продуктом процесса синтеза метионина. Одной из причин избыточного накопления гомоцистеина в плазме крови – гипергомоцистеинемии – является нарушение работы фермента MTHFR.

Наличие гомозиготной формы 677Т/Т приводит к почти 10-кратному повышению риска ГГ. У пациентов с ГГ был отмечен пониженный уровень фолиевой кислоты и витамина В12, они потребляли больше кофе и курили чаще, чем здоровые доноры [39].

Коррекцию ГГ можно провести дополнительным введением в рацион кофакторов, необходимых для метаболизма гомоцистеина – фолиевой кислоты, витаминов В12, В1 и В6 (особенности

терапии ГГ витаминами см. [40, 41]). У носителей Т/Т-генотипа MTHFR при оптимальном потреблении фолатов уровень гомоцистеина повышен умеренно. Известно, что при тяжелой форме гипергомоцистеинемии дневное потребление комбинации из 2,5 мг фолиевой кислоты, 25 мг витамина В6 и 250 мкг витамина В12 снижает прогрессирование атеросклероза (измерялась бляшка в сонной артерии), однако еще не доказано, что гомоцистеин-снижающая терапия предупреждает сосудистые осложнения у лиц с умеренной ГГ.

Максимальная защита для таких людей – переход пожизненно на фолиевую зеленую листовую диету, предполагающую повышенное (не менее 500 г в сутки) потребление свежей зелени и темно-зеленых яблок, зеленой капусты, шпината, сельдерея, а также вишни, авокадо и свежих сыров. Необходимо исключить потребление растворимого кофе, который содержит синтетическую присадку, замедляющую снижение уровня гомоцистеина, и творога, содержащего избыточное количество метионина.

Дефекты развития плода. Повышение частоты встречаемости аллеля 677Т было отмечено не только при позднем токсикозе (гестозе), но и при других осложнениях беременности (отслойке плаценты, задержке роста плода, дефекте нервной трубки, пренатальной смерти плода). Сочетание мутации 677Т с другими факторами риска приводит к повышению вероятности раннего выкидыша [42].

О важности проблемы говорит тот факт, что Министерство здравоохранения США в 1992 году рекомендовало женщинам, которые могут забеременеть, принимать по 400 мкг фолиевой кислоты в день.

Сердечно-сосудистые заболевания. При исследовании связи между мутацией 677Т и сердечно-сосудистыми заболеваниями обнаружено, что гомозиготная мутация 677Т/Т встречается гораздо чаще в группе пациентов, чем у здоровых доноров. У молодых пациентов с ишемией артерий гомозигота Т/Т встречается в 1,2 раза чаще [43]. Статистический мета-анализ 40 независимых исследований пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), обобщающий данные о 11162 пациентах и 12758 здоровых донорах, показал увеличение риска развития ИБС в 1,16 раза при наличии гомозиготы Т/Т [44]. Невысокая степень риска связана с гетерогенностью анализируемых выборок населе-

Генетическая паспортизация населения – новая технология профилактики и реабилитации в медицине

ния. При исследовании гомогенных выборок населения (индивидуальные исследования, а не мета-анализ) оценки степени риска значительно выше. Так, разница в частоте встречаемости гомозигот Т/Т у пациентов и у здоровых доноров соответствовала 3-х кратному повышению риска кардио-васкулярных заболеваний в молодом возрасте [45].

Развитие предраковых и раковых состояний колоректальной области. Выявлена определенная взаимосвязь между полиморфизмами МТНFR и развитием предраковых и раковых состояний колоректальной области. Проведено исследование значительной группы больных с полипозом толстого кишечника. Определяли уровни фолата в эритроцитах и наличие полиморфизма С677Т гена МТНFR. Полученные результаты выявили связь между пониженным содержанием фолата и риском развития аденоматоза. Многофакторный анализ показал, что курение, фолатный статус и генотип МТНFR являются существенными компонентами высокого риска аденоматоза. Этот риск оказался весьма велик у лиц с низким уровнем фолата, являющихся носителями аллели 677Т в гомо- или гетерозиготной форме. Полученные данные указывают на взаимное влияние питания и генных факторов при развитии предраковых состояний.

Сходные предположения выдвинуты учеными, которые обследовали большое количество больных раком толстого кишечника и выявили значительную связь между риском развития ракового заболевания, возрастом больных, возрастным дефицитом фолата и Т/Т генотипом МТНFR. Исследование 379 пациентов с колоректальной аденомой и 726 здоровых доноров показало, что у мужчин-носителей Т/Т генотипа, употребляющих много алкоголя, риск заболевания аденомой повышается в 3,5 раза [46]. Однако некоторые исследователи считают, что без употребления алкоголя, как одного из факторов риска, мутация 677Т в случае колоректального рака является защитным фактором. Так, исследование пациентов с проксимальным колоректальным раком показало, что наличие у пациента гомозиготы Т/Т приводит к 2,8-кратному понижению риска его развития [47].

Риск развития патологии при химиотерапии рака. Полиморфизм 677Т влияет на эффективность химиотерапии рака. Практически все препараты цитостатического действия, применяющиеся в противоопухолевой терапии, являются тератогенами, в частности, метотрексат – антиметаболит, действие которого связано с ингибированием активности фермента МТНFR. Исследование небольших выборок (до 50 пациенток) больных раком груди показало, что при наличии гомозиготы Т/Т риск развития побочных эффектов при применении метотрексата увеличивается в десятки раз [48]. Следует отметить, что и без этой мутации у женщины, получавшей метотрексат до беременности, повышен риск рождения ребенка с хромосомной патологией. После лечения цитостатиками, особенно при наличии неблагоприятного генетического фона, в обязательном порядке рекомендуется проведение ультразвукового сканирования на разных сроках беременности для исключения у плода анатомических пороков.

Онкогинекологические заболевания. Имеются немногочисленные исследования генотипа МТНFR при онкогинекологических заболеваниях. Изучался полиморфизм С677Т гена МТНFR в большой группе еврейских женщин, заболевших раком молочной железы и яичника, включая и наследственные формы, связанные с мутациями генов BRCA («гены рака молочной железы»). При таком неблагоприятном генетическом фоне наличие у больных Т/Т генотипа оказалось существенным фактором отягощения заболевания. Частота Т/Т генотипа была в 2 раза выше (33% против 17%, $P=0,0026$) среди женщин с двусторонним раком молочной железы и раком яичника по сравнению с основной группой больных. Женщины с гетерозиготным генотипом С/Т имели двойной онкологический риск, а у больных с гомозиготным генотипом Т/Т риск был повышен втрое по сравнению с контрольной группой. Кроме того, пониженное потребление фолатов в диете повышало генетический риск до пятикратного значения по сравнению с контролем.

Авторы также подтвердили тот факт, что заражение вирусом папилломы (HPV) является важнейшим фактором риска развития цервикальной дисплазии. При этом было отмечено особое значение сочетания HPV-инфекции с Т/Т генотипом МТНFR [49]. Женщины с гомозиготой 677Т/Т должны получать вакци-

ну от папилломавирусной инфекции в первую очередь.

6. Взаимосвязь полиморфизмов генов ферментов и других биологически активных веществ с табакокурением. Увеличение риска развития различных заболеваний

К сожалению, Россия относится к неблагоприятным странам по распространенности курения (курильщиками являются до 70% населения страны!). Табакозависимость потенцирует развитие многих заболеваний, особенно при наличии неблагоприятных полиморфизмов.

Ангиотензин-конвертирующий фермент (АСЕ) играет важную роль в регуляции кровяного давления и поддержании баланса электролитов, также влияет на фибринолиз, активацию и агрегацию тромбоцитов. Активность фермента в крови связана с наличием варианта D – делеции, то есть отсутствия *Alu*-последовательности внутри интрона гена АСЕ. Наличие варианта D является фактором риска развития сердечно-сосудистых патологий. Исследование 178 пациентов с острым инфарктом миокарда и 136 здоровых доноров показало, что при наличии D/D-генотипа курение повышает риск развития заболевания в 2 раза. Генотип D/D является также фактором риска острого инфаркта миокарда у пациентов моложе 50 лет [50].

Синтаза окиси азота (NOS) – фермент синтеза окиси азота, принимающей участие в вазодилатации (расслаблении васкулярной мускулатуры). Окись азота влияет также на ангиогенез и свертывание крови. При исследовании 248 молодых пациентов (20–28 лет) было обнаружено, что курение значительно понижает артериальную вазодилатацию у больных с полиморфизмом 298D (E298D G->T) [51].

Аполипопротеин С3 (ApoC3) составляет, по крайней мере, 50% белковой фракции липопротеинов низкой плотности. Аполипопротеин С3 ингибирует липопротеиновую липазу (LPL) и триацилглицеридлипазу (LIPC) печени и, таким образом, регулирует распад триглицеридов. Мутация –455С (–455 T->C) гена ApoC3 приводит к увеличению содержания триглицеридов из-за повышения экспрессии гена. При генотипе –455С курение значительно влияет на повышение уровней триглицеридов у пациентов обоих полов [52].

Протромбин (коагуляционный фактор II, или F2) – один из главных компонентов системы

свертываемости крови. В ходе ферментативного расщепления протромбина образуется тромбин. Данная реакция является первой стадией образования кровяных сгустков. Мутация гена протромбина G20210A характеризуется заменой нуклеотида гуанина (G) нуклеотидом аденин (A) в позиции 20210. Из-за увеличения экспрессии мутантного гена уровень протромбина может быть в 1,5–2 раза выше, чем в норме. При возникновении тромбозов мутация 20210A часто встречается в сочетании с мутацией Ляйден.

Мутация наследуется по аутосомно-доминантному типу. Это означает, что тромбофилия возникает даже у гетерозиготного (G/A) носителя измененного гена. Генетический анализ группы пациенток с первым инфарктом миокарда в возрасте от 18 до 44 лет показал, что вариант 20210A встречается в ней в четыре раза чаще по сравнению с группой здоровых людей, что соответствует увеличению риска инфаркта в 4 раза. Вероятность инфаркта особенно высока при наличии других факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. Например, курение при наличии генотипа 20210A повышает риск инфаркта миокарда более чем в 40 раз [53].

Цитохромы P-450 – одни из основных ферментов системы детоксикации организма от ксенобиотиков.

Цитохром 2E1 (ген CYP2E1) участвует в метаболизме ацетона, бензола, бензопирена, тетрахлористого углерода и других соединений. В результате образуются перекись водорода и свободнорадикальные пероксид и гидроксил, что вызывает повреждение органов и, прежде всего, печени. Изменение количества или активности фермента приводит к изменению риска повреждения организма.

Фермент участвует также в выведении из организма N-нитрозаминов табачного дыма – канцерогенов, вызывающих, в частности, рак груди. В США проводилось исследование пациенток до и после менопаузы. Было выявлено, что наличие полиморфизма DraI-C гена CYP2E1 у курящих пациенток до менопаузы является фактором риска заболевания раком груди. Даже при незначительном курении (одна сигарета в неделю) в течение более одного года наличие у пациенток гетерозиготного генотипа DraI-T/C приводит к увеличению риска заболевания раком груди более чем в 7 раз [54].

Генетическая паспортизация населения – новая технология профилактики и реабилитации в медицине

Цитохром 2D6 (ген *CYP2D6*) участвует в метаболизме примерно 20% лекарственных препаратов, в том числе адреноблокаторов (метопролола, пропранолола и тимолола). Фермент также перерабатывает канцерогены табачных продуктов. Исследование пациентов с раком легких показало, что наличие неблагоприятных генетических вариантов *CYP2D6* (в частности, *2 и *4) увеличивает риск развития рака легких в 2,5 раза даже при умеренном (менее 30 пачек в год) курении [55]. В частности, результаты исследования 249 пациентов с раком легких и 265 здоровых доноров свидетельствуют о том, что даже умеренное курение при генотипе *CYP2D6**2 почти в 4 раза повышает риск мелкоклеточной карциномы легких [56]. И хотя курение не является общепризнанным фактором риска рака простаты, обследование группы из 850 пациентов выявило, что при наличии варианта *CYP2D6**4 риск развития рака простаты увеличивается у курильщиков в три раза [57].

Цитохром 1A1 (ген *CYP1A1*) переводит полициклические ароматические углеводороды в канцерогенные полупродукты. Вариант G полиморфизма I462V (A1506G) приводит к повышению активности *CYP1A1* и служит онкологическим маркером. Мета-анализ 11 исследований, включавших более 4500 человек, подтверждает связь варианта 462V и развития рака легких. Наличие гомозиготы V/V приводит к повышению риска рака легких в 1,5 раза. Это значительный риск, учитывая, что проанализированы данные заболеваемости у разных популяций. При этой мутации курение приводит также и к повышению риска плоскоклеточной (сквамозно-клеточной) карциномы кожи [58].

Ферменты из группы *глутатион S-трансфераз* присутствуют в эритроцитах и играют важную роль в детоксикации ксенобиотиков, присоединяя глутатион к субстратам.

μ -глутатион *S-трансфераза* (ген *GSTM1*) участвует в метаболизме электрофильных органических веществ. Делеция гена *GSTM1* (*GSTM1* null) приводит к полной потере функции фермента. Курение при наличии такой мутации приводит к 2,4-кратному повышению риска

развития рака мочевого пузыря [59]. Кроме того, анализ генотипов пациентов с ишемической болезнью сердца (диагноз подтвержден ангиографией артерий) и группы здоровых доноров показал, что курильщики с делецией *GSTM1* заболевают ИБС в 2,2 раза чаще некурящих [60].

Вариант G полиморфизма I105V (A>G) и вариант T полиморфизма A114V (C->T) π -глутатион *S-трансферазы* (ген *GSTP1*) связаны с повышенным риском развития различных форм рака. Исследование 1042 пациентов с раком легких и 1161 здоровых доноров показало, что при выкуривании 25–30 пачек в год риск развития рака легких при наличии гомозиготного варианта 105V/V увеличивается в 13 раз [61]. Курение увеличивает также риск развития рака ротовой полости в 3,4 раза при наличии гомозиготных генотипов 105V/V или 114V/V [62].

θ -глутатион *S-трансфераза* (ген *GSTT1*) участвует в детоксикации хлорметанов и других промышленных канцерогенов. Делеция гена, видимо, является защитным фактором у некурящих. Исследование пациентов с раком легких показало, что у некурящих наличие делеции гена *GSTT1* приводит к пятикратному понижению риска развития заболевания. У курящих пациентов делеция приводит к двукратному повышению риска рака легких. В случаях интенсивного курения (более 23 пачек в год), у пациентов с делецией гена *GSTT1* риск развития онкологических заболеваний повышается в 9,3 раза [63]. Исследование 309 пациентов с раком поджелудочной железы и 964 здоровых доноров показало, что курение при наличии делеции гена *GSTT1* приводит к пятикратному повышению риска заболевания у женщин и к трехкратному – у мужчин [64].

Очевидно, что при генотипировании этих полиморфизмов врачи должны приложить максимальные усилия для того, чтобы убедить пациента отказаться от табакокурения.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Даже столь краткий обзор полиморфизмов генов убеждает в том, что на сегодняшний день без их учета врач не может предложить эффективного (индивидуального, профилактического, лечебного и реабилитационного) протокола ведения пациента.

В настоящее время врачам различных специальностей для успешной деятельности необходимо иметь более полное представление о возможностях современного генотипирования, о потенциальном влиянии полиморфизмов генома человека на развитие патологических процессов.

Подробное изложение значения многих уже установленных полиморфизмов генома человека дано в справочных материалах, размещенных на сайтах www.rpunny.ru и www.genepassport.ru.

Материалы подготовлены при поддержке гранта РФФИ 05-07-90121.

Авторы благодарят кандидата химических наук Ивана Юрьевича Торшина за оказанную помощь в аналитической работе.

Клинические примеры

1. Пациентка К., 62 лет.

При составлении генетического паспорта данной пациентки были выявлены следующие полиморфизмы генов, участвующие в формировании у нее предрасположенности к различным распространенным заболеваниям:

– гомозиготные варианты – в генах ангиотензиногена, синтазы окиси азота, аполипопротеина С3, метилентетрагидрофолатредуктазы;

– гетерозиготные варианты – в генах ангиотензин-конвертирующего фермента, рецептора I типа ангиотензиногена II, ангиотензиногена, аполипопротеина С3, фибриногена, тромбоцитарного рецептора фибриногена, метионин-синтазы редуктазы, α_2 -интегрина, тромбоцитарного гликопротеина 1В и Р-селектин лиганда гликопротеина.

Перечисленные особенности генотипа индивида свидетельствуют об умеренно повышенной предрасположенности к развитию таких заболеваний сердечно-сосудистой системы, как артериальная гипертензия, инфаркт миокарда и ИБС (особенно на фоне гипергомоцистеинемии, ожирения и/или метаболического синдрома) и незначительно повышенной предрасположенности к тромбозам и инсульту (при выраженной гиперфибриногемии и повышенном артериальном давлении). При наличии сахарного диабета повышается вероятность развития гипертонии, диабетической нефро- и ретинопатий.

Результаты данного тестирования позволяют судить о предрасположенности индивида к раз-

личным мультифакториальным заболеваниям сердечно-сосудистой и других систем с относительной вероятностью и являются в большей степени прогностическими в случае отсутствия очевидных патологических симптомов; они важны, в первую очередь, для профилактики. Полученная информация будет полезна при определении окончательного диагноза, хотя решающая роль здесь остается за клиническими данными, а также при назначении лечения.

Особенности генотипа могут иметь семейный характер.

Рекомендации специалистам:

1) принимать во внимание вышеизложенную информацию в диагностическом поиске, дифференциальной диагностике, при выборе методов обследования, лечения (при наличии патологии) и профилактики;

2) проводить динамическое наблюдение за состоянием сердечно-сосудистой и других систем, обращая внимание на следующие показатели: характер ЭКГ, величину АД, уровень триглицеридов, содержание общего холестерина и его фракций, уровень фибриногена, гомоцистеина, функциональную активность тромбоцитов, коагулограмму. При наличии избыточного веса и/или сахарного диабета в семейном анамнезе контролировать толерантность к глюкозе. (План и периодичность проведения анализов и процедур определяет лечащий врач);

3) осуществлять разнообразные мероприятия по профилактике заболеваний сердечно-сосудистой системы, такие как предупреждение психо-эмоциональных перегрузок (освоение методов релаксации, аутотренинга, массаж, водные процедуры и др.), борьба с избыточной массой тела (соблюдение баланса энергозатрат и потребляемых калорий), отказ от курения, регулярные физические нагрузки (плавание, пешие прогулки), соблюдение режима труда и отдыха, рациональное сбалансированное питание;

4) предложить пациенту вариант рационального питания (разрабатывает врач-диетолог) с учетом индивидуальных особенностей организма: веса тела, наличия хронических заболеваний, аллергических реакций, биохимических показателей крови и так далее. Ниже приведены общие рекомендации, которые следует учитывать при составлении примерного меню:

– умеренное или более строгое ограничение потребления поваренной соли (в зависимости

Генетическая паспортизация населения – новая технология профилактики и реабилитации в медицине

от показателей АД) – не использовать соль в процессе приема пищи;

– умеренное употребление консервированных продуктов, продуктов ресторанов быстрого питания, чипсов и др.;

– прием рыбьего жира, который оказывает тормозящее действие на образование атеросклеротических бляшек и проявляет гипотензивные свойства при умеренном повышении артериального давления;

– включение в рацион экстракта зрелого чеснока – AGE, который оказывает ингибирующее действие на агрегацию и адгезию тромбоцитов;

– достаточное употребление витаминов С, Р, витаминов группы В (В1, В6, В12), солей калия и магния (кураги, чернослива, абрикосов, персиков, бананов, петрушки);

– включение в рацион продуктов, богатых растительной клетчаткой, оказывающей влияние на обмен липидов;

– употребление продуктов с высоким содержанием антиоксидантов (черной смородины, натурального яблочного сока, черного и зеленого чая, черного шоколада и др.);

– умеренное потребление (особенно при гипергомоцистеинемии и ИБС в семейном анамнезе) продуктов, богатых насыщенными жирными кислотами (жирных сортов мяса, внутренних органов животных, сливочного масла, яичных желтков, сала). Их следует заменять на нежирные сорта мяса (индейку, крольчатину, курицу без кожи), рыбу (треску, пикшу, тунец, сельдь, лосось), молочные продукты с низким (1%) содержанием жира, растительные масла, орехи (особенно миндаль), морепродукты;

– для профилактики дефицита фолиевой кислоты включать в рацион достаточное количество продуктов, богатых фолатами (хлеб из муки грубого помола, сою, фасоль, икру, грибы, творог, гречневую и овсяную крупы, цветную капусту, зеленый лук, шпинат, салат);

– в случае повышения уровня гомоцистеина (30 мкмоль/л и выше) в дополнение к поступлению фолиевой кислоты с пищей, периодически курсами принимать по 400 мкг фолиевой

кислоты ежедневно в комплексе с витаминами группы В (В1, В6, особенно – В12).

Тепловая обработка пищи паром, варка и запекание позволяют сохранять пищевую ценность продуктов и способствуют профилактике различных заболеваний.

2. Пациентка Ш., 33 лет

Анализ полиморфизмов генов выявил наличие:

– гомозиготных вариантов в генах метионин-синтазы редуктазы, α_2 -интегрина;

– гетерозиготных вариантов в генах ангиотензин-конвертирующего фермента, ангиотензиногена, аполипопротеина С3 (2), параоксоназы, протромбина (коагуляционного фактора II), коагуляционного фактора V (фактора Ляйдена), ингибитора активатора пламиногена, тромбоцитарного рецептора фибриногена, метилентетрагидрофолатредуктазы и тромбоцитарного гликопротеина 1В.

Отличительной чертой артериальной гипертензии при данном генотипе является зависимость от потребления соли. В связи с этим первой лечебной и/или профилактической рекомендацией является жесткое или умеренное ограничение потребления соли (в зависимости от показателей уровня АД у индивида).

У женщин – носителей полиморфизма M235T T>C в гене ангиотензиногена отмечено также влияние уровня эстрогенов на повышение АД. В связи с этим им рекомендуется регулярно контролировать АД во время приема гормональных контрацептивов, беременности и заместительной гормонотерапии. Женщины с подобным полиморфизмом нередко имеют больше жировой ткани.

Индивидуальные особенности обмена липидов могут быть обусловлены следующим:

1) аполипопротеин С3 регулирует распад триглицеридов. Присутствие в гене двух гетерозиготных полиморфизмов может приводить к умеренному увеличению уровня триглицеридов и незначительно увеличивать предрасположенность к развитию ИБС, которая в целом невысока и повышается до двух раз только при наличии метаболического синдрома. На повышение уровня триглицеридов и артериального давления неблагоприятно влияет курение;

2) параоксоназа участвует в гидролизе широкого спектра токсических фосфорорганических соединений и, весьма вероятно – в защите ЛПНП-частиц от окисления. Наличие гетерозиготного полиморфизма в данном гене может

в разной степени приводить к снижению активности фермента. Снижение нормальной активности на 20% и более (что имеет невысокую вероятность у данного индивида) ассоциируется примерно с двукратным повышением вероятности развития с возрастом коронарной болезни артерий и инсульта;

3) генотип индивида по липопротеиновой липазе предполагает позитивный ответ на диетотерапию, обеспечивающую коррекцию уровня триглицеридов и веса на 10–12% за 1–4 месяца;

4) особенности генотипа могут иметь семейный характер, о чем необходимо информировать родных. Так, родственникам первой степени родства женского пола (мать, дочь, сестра) важно знать о наличии полиморфизмов в генах коагуляционного фактора II (протромбина) и коагуляционного фактора V (фактора Ляйдена). Для них также могут быть важны сведения о более высоком риске тромбозов и тромбоемболий во время беременности, приема гормональных контрацептивов и заместительной гормонотерапии в период менопаузы, операций и травм;

5) фермент метионин-синтаза редуктаза (MTRR) наряду с MTHFR участвует в превращении гомоцистеина в метионин. Наличие гомозиготного полиморфизма в гене метионин-синтазы редуктазы может приводить к снижению функциональной активности фермента, усиливая негативное действие полиморфизма в метилентетрагидрофолатредуктазе. Влияние полиморфизма усугубляется дефицитом в организме витамина B12.

Рекомендации специалистам:

1. Принимать во внимание вышеизложенную информацию при диагностике, дифференциальной диагностике, выборе методов обследования, лечения (при наличии патологии) и профилактики. Например:

– при планировании обширных полостных хирургических операций информация о наличии мутаций в генах протромбина коагуляционного фактора V (фактора Ляйдена) может быть полезна хирургу для проведения взвешенной и адекватной профилактики тромбозов;

– при наличии венозной тромбоемболии (ВТЭ) рекомендуется более продолжительная антикоагуляционная терапия;

– при приеме гормональных контрацептивов необходимо периодически проводить контрольный анализ показателей свертываемости

крови или перейти к использованию других методов контрацепции;

– при наступлении беременности с ранних сроков необходим контроль со стороны квалифицированного акушера-гинеколога.

2. Проводить динамическое наблюдение за состоянием сердечно-сосудистой системы (план и периодичность определяет лечащий врач). При этом необходимо следить за характером ЭКГ, показателями АД (особенно во время беременности или заместительной гормонотерапии), уровнем триглицеридов, общим холестерином и его фракциями, содержанием гомоцистеина, функциональной активностью тромбоцитов, коагулограммой.

3. С целью профилактики врожденной и наследственной патологии (учитывая генотипические особенности и возраст) в случае планирования беременности и во время беременности показаны:

– периконцепционный (в течение 3 месяцев до и первых 3 месяцев после наступления беременности) прием 400 мкг фолиевой кислоты ежедневно;

– дородовая УЗИ-диагностика состояния плода;

– проведение биохимического скрининга (уровень РАРр-белка, АФП, ХГЧ) в I-м или II-м триместре.

Литература

1. Brookes AJ. *The essence of SNP. Review. Gene* 1999;234(2):177–186.
2. Haff LA and Smirnov IP. *Single-nucleotide polymorphism identification assays using a thermostable DNA polymerase and delayed extraction MALDI-TOF mass spectrometry. Genome Research* 1997;7:378–388.
3. Ross P, Hall L, Smirnov I, and Haff L. *High level multiplex genotyping by MALDI-TOF mass spectrometry. Nature Biotechnol* 1998;16:1347–1351.
4. Pusch W, Wurmbach JH, Thiele H, Kostrzewa M. *MALDI-TOF mass spectrometry-based SNP genotyping. Pharmacogenomics* 2002;3(4):537–548.
5. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. *Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. Review. Pharmacogenetics* 2002;12(3):251–263.
6. Сироткина ОВ, Улитина АС, Тараскина АЕ, Кадинска МИ, Вавилова ТВ, Пчелина СН, Шварц ЕИ. *Клиническое значение аллельных вариантов гена*

Генетическая паспортизация населения – новая технология профилактики и реабилитации в медицине

- цитохрома CYP2C9 при антикоагулянтной терапии варфарином. *Кардиология* 2005;4:61–63.
7. Klotz U. The role of pharmacogenetics in the metabolism of antiepileptic drugs: pharmacokinetic and therapeutic implications. *Clin Pharmacokinet* 2007;46(4):271–279.
 8. Becker ML, Visser LE, Trienekens PH, Hofman A, van Schaik RHN, Stricker BHCh. Cytochrome P450 2C9 (*² and (*³) polymorphisms and the dose and effect of sulfonylurea in type II diabetes mellitus. *Clin Pharmacol & Ther* 2007; Jun 27 (published online).
 9. Lee CR, Pieper JA, Frye RF, Hinderliter AL, Blaisdell JA, Goldstein JA. Tolbutamide, flurbiprofen and losartan as probes of CYP2C9 activity in humans. *J Clin Pharmacol* 2003;43(1):84–91.
 10. Pilotto A, Seripa D, Franceschi M, Scarcelli C, Colaizzo D, Grandone E, Niro V, Andriulli A, Leandro G, Di Mario F, Dallapiccola B. Genetic susceptibility to nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastroduodenal bleeding: role of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Gastroenterology* 2007;133(2):465–471.
 11. Uitterlinden AG, Ralston SH et al. The Association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: A participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006;145:255–264.
 12. Ralston SH, Uitterlinden AG., Brandi ML et al. Large-Scale Evidence for the Effect of the COL1A1 Sp1 Polymorphism on Osteoporosis Outcomes: The GENOMOS Study. *PLoS Med* 2006;3(4):515–526.
 13. Ioannidis JP, Ralston SH. et al. Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *J Am Med Assoc* 2004; 292(17): 2105–2114.
 14. Garnero P, Munoz F, Borel O, Sornay-Rendu E, Delmas PD. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density. *J Clin Endocrinol & Metabol* 2005;90:4829–4835.
 15. Levy ME, Parker RA, Ferrell RE, Zmuda JM, Greenspan SL. Farnesyl diphosphate synthase: A novel genotype association with bone mineral density in elderly women. *Maturitas* 2007;57:247–252.
 16. Obermayer-Pietsch B. Genetics of Osteoporosis. *Wien Med Wochenschr* 2006; 156(5–6):162–167.
 17. Obermayer-Pietsch BM, Bonelli CM, Walter DE, Kuhn RJ, Fahrleitner-Pammer A, Berghold A, Goessler W, Stepan V, Dobnig H, Leb G, Renner W. Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. *J Bone Miner Res* 2004;19(1):42–47.
 18. Obermayer-Pietsch BM, Bonelli CM, Walter DE, Kuhn R, Fahrleitner-Pammer A, Berghold A, Goessler W, Stepan V, Dobnig H, Leb G, Renner W. Genetic disposition for adult lactose intolerance and relation to bone properties and fractures during lifetime. *Calcif Tiss Int* 2004;74:128.
 19. Enattah NS, Sulkava R, Halonen P, Kontula K, Jarvela I. Genetic variant of lactase-persistent C/T-13910 is associated with bone fractures in very old age. *J Am Geriatr Soc* 2005;53(1):79–82.
 20. Karjalainen J, Kujala U, Stolt A et al. Angiotensinogen gene M235T polymorphism predicts left ventricular hypertrophy in endurance athletes. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:494–499.
 21. Глотов О, Глотов А, Иващенко Т, Петров М. Генетическая предрасположенность к физической работоспособности у гребцов. Тезисы докладов Всероссийской научной конференции «Современные проблемы физической культуры и спорта». СПб., 2003;275–277.
 22. Montgomery H, Clarkson P, Bornard M et al. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. *Lancet* 1999;53:541–545.
 23. Woods D, Pollard A, Collier D, Jamshidi Y, Vassiliou V, Hawe E, Humphries S, Montgomery H. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene and arterial oxygen saturation at high altitude. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(3):362–366.
 24. Назаров ИБ, Казаков ВИ, Гужа ИВ и др. Влияние полиморфизма гена ангиотензин-конвертирующего фермента на сердечно-сосудистую систему при систематических физических нагрузках. Тезисы докладов II съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров. СПб., 2000;2:299–300.
 25. Рогозкин ВА, Назаров ИБ, Казаков ВИ. Генетические маркеры физической работоспособности человека. Теор и практ физ культ 2000;12:34–36.
 26. Osterop AP, Kofflard MJ, Sandkuij LA, Cate FJ, Krams R, Schalekamp MA, Danser AH. AT1 receptor gene A/C polymorphism contributes to cardiac hypertrophy in subjects with hypertrophic cardiomyopathy. *Hypertension* 1998;32:825–830.
 27. Brull D, Dhamrait S, Myerson S, Erdmann J, Woods D, Montgomery H. Bradykinin B2BKR receptor polymorphism and left-ventricular growth response. *Lancet* 2001;358:1155–1156.
 28. Williams AG, Dhamrait SS, Wootton PTE et al. Bradykinin receptor gene variant and human physical performance. *J Appl Physiol* 2004;96:938–942.
 29. Colombo M, Paradossi U, Andreassi M et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Clinical Chemistry* 2003;49:389–395.

30. Tsujita Y, Baba S, Yamauchi R, Mannami T, Kinoshita M, Yamamoto R et al. Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: the Suita study. *J Hypertens* 2001;19:1941–1948.
31. Савельев ВС, Яблоков ЕГ, Кириенко АИ. Тромбоэмболия легочной артерии. М.: Медицина, 1979.
32. Де Б, Петровский БВ. Экстренная хирургия сердца и сосудов. М.: Медицина, 1980.
33. Савельев ВС, Яблоков ЕГ. Массивная эмболия легочных артерий. М.: Медицина, 1990.
34. Конден Р, Найхус Л. Клиническая хирургия. М.: Практика, 1998.
35. Покровский АВ. Клиническая ангиология. Т. 2. М.: Медицина, 2004.
36. Lee CH, Hankey GJ, Ho WK, Eikelboom JW. Venous thromboembolism: diagnosis and management of pulmonary embolism. *Review. Med J Aust* 2005;182(11):569–574.
37. Ho WK, Hankey GJ, Lee CH, Eikelboom JW. Venous thromboembolism: diagnosis and management of deep venous thrombosis. *Review. Med J Aust* 2005;182(9):476–481.
38. Schwartz E, Demidova D, Sirotkina O, Kudinov S. The combination of glycoprotein IIIa PLA polymorphism with polymorphism of serotonin transporter as an independent strong risk factor for the occurrence of coronary thrombosis. *Mol Genet Metab* 2003;79(3):229–230.
39. Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, Nygård O, Schneede J, Vollset SE, Refsum H. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (> or = 40 micromol/liter). The hordaland homocysteine study. *J Clin Invest* 1996;98(9):2174–2183.
40. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Review. Lancet* 1999;354(9176):407–413.
41. Flicker L, Vasikaran SD, Thomas J, Acres JM, Norman P, Jamrozik K, Hankey GJ, Almeida OP. Efficacy of B vitamins in lowering homocysteine in older men: maximal effects for those with B12 deficiency and hyperhomocysteinemia. *Stroke* 2006;37(2):547–549.
42. Kirke PN, Mills JL, Molloy AM, Brody LC, O'Leary VB, Daly L, Murray S, Conley M, Mayne PD, Smith O, Scott JM. Impact of the MTHFR C677T polymorphism on risk of neural tube defects: case-control study. *BMJ* 2004;328(7455):1535–1536.
43. Kim RJ, Becker RC. Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies. *Am Heart J* 2003;146(6):948–957.
44. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG. MTHFR 677C->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288(16):2023–2031.
45. Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, Boers GH, Frosst P, Stevens EM, van Oost BA, den Heijer M, Trijbels FJ, Rozen R, Blom HJ. Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease. *Am J Hum Genet* 1996;58(1):35–41.
46. Giovannucci E, Chen J, Smith-Warner SA, Rimm EB, Fuchs CS, Palomeque C, Willett WC, Hunter DJ. Methylenetetrahydrofolate reductase, alcohol dehydrogenase, diet, and risk of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12(10):970–979.
47. Toffoli G, Gafà R, Russo A, Lanza G, Dolcetti R, Sartor F, Libra M, Viel A, Boiocchi M. Methylenetetrahydrofolate reductase 677C->T polymorphism and risk of proximal colon cancer in north Italy. *Clin Cancer Res* 2003;9(2):743–748.
48. Toffoli G, Russo A, Innocenti F, Corona G, Tumolo S, Sartor F, Mini E, Boiocchi M. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677C->T polymorphism on toxicity and homocysteine plasma level after chronic methotrexate treatment of ovarian cancer patients. *Int J Cancer* 2003;103(3):294–299.
49. Gershoni-Baruch R, Dagan E, Israeli D et al. Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with breast and/or ovarian cancer risk in Jewish women. *Eur J Cancer* 2000;36(18):2313–2316.
50. Sobstyl J, Dzida G, Puźniak A, Mosiewicz J, Hanzlik J. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in Polish patients with myocardial infarction. *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska [Med]* 2002;57(2):21–28.
51. Leeson CP, Hingorani AD, Mullen MJ, Jeerooburkhan N, Kattenhorn M, Cole TJ, Muller DP, Lucas A, Humphries SE, Deanfield JE. Glu298Asp endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism interacts with environmental and dietary factors to influence endothelial function. *Circ Res* 2002;90(11):1153–1158.
52. Waterworth DM, Talmud PJ, Luan J, Flavell DM, Byrne CD, Humphries SE, Wareham NJ. Variants in the APOC3 promoter insulin responsive element modulate insulin secretion and lipids in middle-aged men. *Biochim Biophys Acta* 2003;1637(3):200–206.
53. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Vos HL. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 1997;90(5):1747–1750.
54. Shields PG, Ambrosone CB, Graham S, Bowman ED, Harrington AM, Gillenwater KA, Marshall JR, Vena JE, Laughlin R, Nemoto T, Freudenheim JL. A cytochrome P4502E1 genetic polymorphism and tobacco smoking in breast cancer. *Mol Carcinog* 1996;17(3):144–150.
55. El-Zein R, Zwischenberger JB, Wood TG, Abdel-Rahman SZ, Brekelbaum C, Au WW. Combined genetic polymorphism

Генетическая паспортизация населения – новая технология профилактики и реабилитации в медицине

- and risk for development of lung cancer. *Mutat Res* 1997;381(2):189–200.
56. Legrand-Andréoletti M, Stücker I, Marez D, Galais P, Cosme J, Sabbagh N, Spire C, Cené S, Lafitte JJ, Beaune P, Broly F. Cytochrome P450 CYP2D6 gene polymorphism and lung cancer susceptibility in Caucasians. *Pharmacogenetics* 1998;8(1):7–14.
57. Wadelius M, Autrup JL, Stubbins MJ, Andersson SO, Johansson JE, Wadelius C, Wolf CR, Autrup H, Rane A. Polymorphisms in NAT2, CYP2D6, CYP2C19 and GSTP1 and their association with prostate cancer. *Pharmacogenetics* 1999;9(3):333–340.
58. Le Marchand L, Guo C, Benhamou S, Bouchardy C, Cascorbi I, Clapper ML, Garte S, Haugen A, Ingelman-Sundberg M, Kihara M, Rannug A, Ryberg D, Stücker I, Sugimura H, Taioli E. Pooled analysis of the CYP1A1 exon 7 polymorphism and lung cancer (United States). *Cancer Causes Control* 2003;14(4):339–346.
59. Salagovic J, Kalina I, Habalová V, Hrivnák M, Valanský L, Biros E. The role of human glutathione S-transferases M1 and T1 in individual susceptibility to bladder cancer. *Physiol Res* 1999;48(6):465–471.
60. Masetti S, Botto N, Manfredi S, Colombo MG, Rizza A, Vassalle C, Clerico A, Biagini A, Andreassi MG. Interactive effect of the glutathione S-transferase genes and cigarette smoking on occurrence and severity of coronary artery risk. *J Mol Med* 2003;81(8):488–494.
61. Miller DP, Neuberg D, de Vivo I, Wain JC, Lynch TJ, Su L, Christiani DC. Smoking and the risk of lung cancer: susceptibility with GSTP1 polymorphisms. *Epidemiology* 2003;14(5):545–551.
62. Park JY, Schantz SP, Stern JC, Kaur T, Lazarus P. Association between glutathione S-transferase pi genetic polymorphisms and oral cancer risk. *Pharmacogenetics* 1999;9(4):497–504.
63. Hou SM, Fält S, Nyberg F. Glutathione S-transferase T1-null genotype interacts synergistically with heavy smoking on lung cancer risk. *Environ Mol Mutagen* 2001;38(1):83–86.
64. Duell EJ, Holly EA, Bracci PM, Liu M, Wiencke JK, Kelsey KT. A population-based, case-control study of polymorphisms in carcinogen-metabolizing genes, smoking, and pancreatic adenocarcinoma risk. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(4):297–306.