

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
УЗБЕКИСТАН  
РЕСПУБЛИКАНСКИЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ НАУЧНО-  
ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР КАРДИОЛОГИИ**

**«УТВЕРЖДАЮ»  
Председатель научно-  
технического совета при  
Министерстве здравоохранения  
Республики Узбекистан  
\_\_\_\_\_ Ш. К. Атаджанов  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2025 г.**

**АБДУЛЛАЕВА ГУЗАЛЬ ЖАЛОЛИДДИНОВНА  
ЮСУПОВА ХАФИЗА ФУРКАТОВНА  
АБДУЛЛАЕВ АЛИШЕР АБДУМАВЛЯНОВИЧ  
ФОЗИЛОВ ХУРШИД ГАЙРАТОВИЧ**

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В КАРДИОЛОГИИ**

**(Монография)**

**Ташкент 2025**

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
Республиканский Специализированный Научно-Практический Медицинский Центр  
Кардиологии

**Авторы:**

1. Абдуллаева Гузаль Жалолiddиновна, д.м.н., заведующая научно-исследовательской лабораторией артериальной гипертензии и молекулярно-генетических исследований Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра кардиологии (РСНПМЦК) МЗ РУз. 100052, Ташкент, ул. Осиё, 4.
2. Юсупова Хафиза Фуркатовна, к.м.н., ученый секретарь РСНПМЦК МЗ РУз.
3. Абдуллаев Алишер Абдумавлянович, д.б.н., заведующий научно-исследовательской лабораторией биотехнологий Центра Передовых Технологий при Министерстве высшего образования, науки и инноваций РУз.
4. Фозилов Хуршид Гайратович – к.м.н., директор РСНПМЦК МЗ РУз

**Рецензенты:**

1. Шек А.Б. – д.м.н., профессор, руководитель отдела Ишемической болезни сердца и атеросклероза РСНПМЦК.
2. Далимова Д.А. - д.б.н., профессор, заместитель директора Центра Передовых Технологий при Министерстве высшего образования, науки и инноваций РУз.

В монографии на основе многолетнего опыта и последних достижений мировой науки представлены современные взгляды на молекулярно-генетические и фармако-генетические аспекты сердечно-сосудистых заболеваний.

Монография предназначена для кардиологов, терапевтов, врачей общей практики, биологов, а также для учебного процесса при подготовке и усовершенствовании врачебных кадров и студентов медицинских высших учебных заведений.

## Содержание

Краткий справочник генетических терминов.....	5
Предисловие.....	8
Введение.....	10
Глава 1. Структура генома, как основы наследственной информации .....	13
§1.1. ДНК, РНК и белки.....	13
§1.2. Генетические мутации.....	18
Глава 2. Клинико-генетические методы диагностики заболеваний.....	20
§2.1. Генетическое консультирование.....	20
§2.2. Кардиологическое генетическое консультирование.....	22
§2.3. Метод составления родословной.....	22
§2.4. Молекулярно-генетические методы. <i>Закирова Д.В.</i> .....	23
§2.4. 1. Полимеразная цепная реакция.....	23
§2.4.2. ПЦР в реальном времени (qPCR).....	28
§2.4. 3. Метилирование-специфическая ПЦР.....	30
§2.4.4. Цифровая ПЦР (dPCR).....	31
§2.4.5. Секвенирование.....	31
§2.4.6. ДНК-микрочипы.....	33
§2.4.7. Секвенирование следующего поколения (NGS), WGS, WES и CES.....	35
§2.4.8. Полное секвенирование генома.....	37
§2.4.9. Полное секвенирование экзона.....	37
§2.4.10. Секвенирование клинического экзона.....	38
§2.4.11. Анализ клинических данных и генетических ассоциаций.....	40
Глава 3. Молекулярно-генетические аспекты сердечно-сосудистых заболеваний.....	44
§3.1. Генетические аспекты артериальной гипертензии. <i>Хамидуллаева Г.А., Атанязов Х.Х.</i> .....	44
§3.1.1. История генетики артериальной гипертензии, ранние исследования и результаты.....	45
§3.1.2. Генетические аспекты резистентной артериальной гипертензии.....	49
§3.1.3. Генетика артериальной гипертензии за пределами GWAS – эпигенетика.....	56
§3.1.4. Взаимодействие генов и генов с окружающей средой.....	57
§3.1.5. Эпоха GWAS – обнаружение распространенных и редких вариантов.....	58
§3.1.6. Генетика стимулирует открытие лекарств.....	63
§3.1.7. Результаты собственных исследований лаборатории артериальной гипертензии и молекулярно-генетических исследований РСНПМЦК.....	65
§3.2. Генетические аспекты ишемической болезни сердца: современное состояние исследований. <i>Алиева Р.Б.</i> .....	67
§3.2.1. Общие генетические принципы ИБС.....	67

§3.2.2. Гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия (ГeСГ).....	70
§3.2.3. Результаты собственных исследований лаборатории ишемической болезни сердца и атеросклероза РСНПМЦК.....	74
§3.3. Генетические аспекты кардиомиопатий: современное состояние исследований. <i>Курбанов Н.А.</i> .....	76
§3.3. 1. Современное состояние исследований.....	76
§3.3.2. Результаты собственных исследований лаборатории некоронарогенной патологии сердца РСНПМЦК.....	78
§3.4. Генетические аспекты аритмий сердца.....	79
§3.4.1. Генетические аспекты фибрилляции предсердий. <i>Раджабова Г.М.</i> .....	79
§3.4.2. Результаты собственных исследований лаборатории Артериальной гипертензии и молекулярно-генетических исследований РСНПМЦК.....	87
§3.4.3. Генетические аспекты синдрома Бругада.....	91
§3.4.4. Генетические аспекты синдрома удлиненного QT интервала.....	94
§3.4.5. Генетические аспекты синдрома короткого QT интервала.....	95
Глава 4. Фармакогенетические исследования и сердечно-сосудистые заболевания.....	119
§4.1. Фармакогенетические особенности применения клопидогреля. <i>Юлдашов Б.А.</i> .....	119
§4.2. Фармакогенетические особенности применения варфарина. <i>Ирисов Дж. Б.</i> .....	122
§4.3. Фармакогенетические особенности применения статинов. <i>Алиева Р.Б.</i> .....	123
§4.4. Фармакогенетические особенности применения бета-блокаторов.....	126
§4.5. Фармакогенетические особенности применения ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента.....	127
§4.6. Фармакогенетические особенности применения антиаритмических препаратов.....	131
§4.7. Состояние и перспективы развития фармакогенетики и персонализированной медицины в лечении сердечной недостаточности....	132
Заключение.....	144

## КРАТКИЙ СПРАВОЧНИК ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕРМИНОВ

Аллель – одно из двух (или нескольких) альтернативных структурных форм состояний гена, каждая из которых характеризуется уникальной последовательностью нуклеотидов.

Гамета – половая клетка.

Гаплоидный набор хромосом – набор хромосом в гаметах, который равен половине диплоидного набора соматических клеток.

Гаплотип – сочетание аллелей одного локуса, расположенных на одной хромосоме.

Ген (от греческого *genos*-происхождение) – элементарная единица наследственности, наименьший неделимый элемент наследственного материала, который может быть передан от родителей потомству как целое, который определяет признаки, свойства или физиологическую функцию организма. На молекулярном уровне – это участок молекулы ДНК, кодирующий первичную структуру белков и РНК.

Генотип – сочетание аллелей нескольких локусов, расположенных на разных хромосомах; совокупность всех наследственных свойств организма.

Ген кандидат – структурный ген в геноме человека, мутация в котором предположительно является причиной конкретного наследственного заболевания.

Генетика – наука, изучающая механизмы и закономерности наследственности и изменчивости организма. Основы генетики заложены Г. Менделем, открывшим законы наследственности.

Генетический код – свойственная живым организмам единая система записи наследственной информации в молекулах нуклеиновых кислот в виде последовательности нуклеотидов. Каждый нуклеотид обозначается заглавной буквой, с которой начинается название азотистого основания, входящего в его состав: А (А)-аденин, Г (G)-гуанин, Ц (С)-цитозин, Т (Т)-тимин (в ДНК) или У (U)-урацил (в мРНК). Реализация генетического кода в клетке происходит в 2 этапа: транскрипция (синтез мРНК) и трансляция (синтез белка).

Геном – ДНК, содержащая в гаплоидном наборе хромосом клетки определенного вида организма. В расширенном виде под геномом понимается вся наследственная система клетки.

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) – высокополимерное природное соединение, содержащиеся в ядрах клеток всех живых организмов, носитель генетической информации. Отдельные участки ДНК соответствуют определенным генам. ДНК точно воспроизводится при делении клеток, что обеспечивает в ряду поколений клеток и организмов передачу наследственных признаков и специфических форм обмена веществ.

Интрон – некодирующая область, расположенная внутри гена. Интрон вырезается (удаляется) в процессе превращения первичной РНК в зрелую мРНК.

Кодон – дискретная единица генетического кода, состоящая из 3-х последовательно расположенных нуклеотидов в молекуле ДНК или РНК. Из 64 кодонов 61 кодирует определенные аминокислоты, а 3 стоп-кодона определяют окончание синтеза полипептидной цепи. Последовательность кодонов в гене определяет последовательность аминокислот в полипептидной цепи белка, кодируемого этим геном.

Лocus – участок хромосомы, в котором содержится определенная нуклеотидная последовательность.

Мутация – наследственное изменение генома. Мутация – основа наследственной изменчивости в живой природе.

Рестриктаза – бактериальный фермент, расщепляющий ДНК в строго определенных по последовательности нуклеотидов участках.

Рибонуклеиновые кислоты – тип нуклеиновых кислот; высокомолекулярные органические соединения, состоящие из 4-х нуклеотидов (аденин, гуанин, цитозин, урацил) и сахара рибозы. В клетках всех организмов РНК участвует в реализации генетической информации.

Различают следующие виды РНК:

- мРНК – матричная или информационная РНК
- тРНК – транспортная РНК
- рРНК – рибосомная РНК
- мяРНК - малая ядерная РНК
- мяРНК - малая ядрышковая РНК
- миРНК - микроРНК
- миРНК – малая интерферирующая РНК
- днкРНК - длинная некодирующая РНК

Секвенирование – определение нуклеотидной последовательности молекулы нуклеиновой кислоты.

Структурный ген – ген, кодирующий синтез полипептидной цепи (белка).

Транскрипция – биосинтез РНК на матрице ДНК, осуществляющийся в клетках организма ферментами, называемыми РНК-полимеразами. Транскрипция – первый этап реализации генетического кода, в ходе которого последовательность нуклеотидов ДНК переписывается в нуклеотидную последовательность РНК.

Трансляция – биосинтез полипептидных цепей белков, идущий в клетках путем считывания генетической информации, записанной в виде последовательности нуклеотидов в молекулах матричных РНК. Трансляция – второй этап реализации генетического кода.

Фенотип – совокупность всех внутренних и внешних свойств особи, сформировавшихся на базе генотипа в процессе её индивидуального развития (онтогенеза). Фенотип – вариант нормы реакции организма на действие внешних условий.

Хромосома – структура, расположенная в клеточном ядре, состоящая из ДНК, гистонов и негистоновых белков и способная к самовоспроизведению с сохранением структурно-функциональной индивидуальности.

Эзоны – фрагменты генов, кодирующие белки.

Экспрессия – работа, функционирование гена.

GRS – индекс генетического риска.

GWAS - полногеномное исследование ассоциаций.

MR – менделевская рандомизация.

PRS – индекс полигенного риска.

SNP – однонуклеотидный полиморфизм.

*Посвящается нашему учителю - профессору  
Елисеевой Мариэтте Рафаэлевне,  
которая вдохновила нас на изучение  
молекулярно-генетических основ  
кардиологических заболеваний  
и привила любовь к генетике*

## **Предисловие**

Генетика – это истинный фундамент медико-биологических наук, и без ее гармоничного и быстрого развития мы не сможем решить те сложные и ответственные задачи, которые выдвигаются перед современной наукой самой жизнью. Наследственность человека и экология, философия, социология и психология, медицина, селекция и биотехнология, - вот далеко не полный перечень тех фундаментальных и прикладных направлений, успешная разработка которых возможна лишь во всеоружии современных генетических знаний.

Ученый-генетик Феодосий Добржанский утверждал, что «всё в биологии обретает смысл лишь в свете эволюционного учения», то есть более определено: любой факт в биологии становится понятным лишь в свете генетики. Ф. Айала и Дж. Кайгер в своем учебнике «Современная генетика» писали, что «генетика – это сердцевина биологической науки; лишь в рамках генетики разнообразие жизненных форм и процессов может быть осмыслено как единое целое».

Как известно, основы генетики заложены открытиями, которые были сделаны Грегором Менделем в 1866 году, но оставались почти неизвестными до 1900 года. В первой половине XX века исследователи пришли к выводу, что гены играют основную роль в функционировании и эволюции высших организмов. Однако, в полной мере важность этого открытия стала ясна лишь после того, как было установлено, что веществом, ответственным за наследственность у всех организмов, являются нуклеиновые кислоты. Открытие химической структуры ДНК позволило понять молекулярные основы наследственности и механизмы действия генов и их передачи – в форме молекул ДНК из поколения в поколение. Наследственная информация хранится в форме нуклеотидной последовательности ДНК; реализация наследственной информации основана на том, что нуклеотидная последовательность ДНК определяет последовательность аминокислот в белках. Единство всего живого прекрасно демонстрируется тем фактом, что код, связывающий последовательность нуклеотидов в ядре с последовательностью аминокислот, одинаков для всех организмов, будь то

бактерии, растения, животные или человек. Расшифровка строения генома для истории человечества событие столь же ключевое, как открытие электричества, атомной энергии.

Генетика человека развивается очень быстро. В 1988 году был начат уникальный проект «Геном человека», открывший новую эпоху в мире науки. Целью этого проекта стало определение последовательности оснований во всех молекулах ДНК, установление локализации всех генов, что помогло бы выяснить причины наследственных заболеваний и этим открыть пути к их лечению. Это был очень дорогостоящий проект, стоимость которого оценивалась в 3 млрд долларов США. Благодаря техническим усовершенствованиям, позволившим автоматизировать процесс секвенирования, проект удалось сделать быстро и экономично. Программа длилась около 15 лет и была завершена к апрелю 2003 года полным секвенированием генома человека.

Более 20 лет назад в нашем центре были начаты первые молекулярно-генетические исследования сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца. На тот момент это было изучение только лишь точечных мутаций - однонуклеотидных замен (SNP), а сейчас с приобретением высокопроизводительного секвенатора нового поколения перед нами появились новые возможности – проведение исследований на более высоком современном уровне.

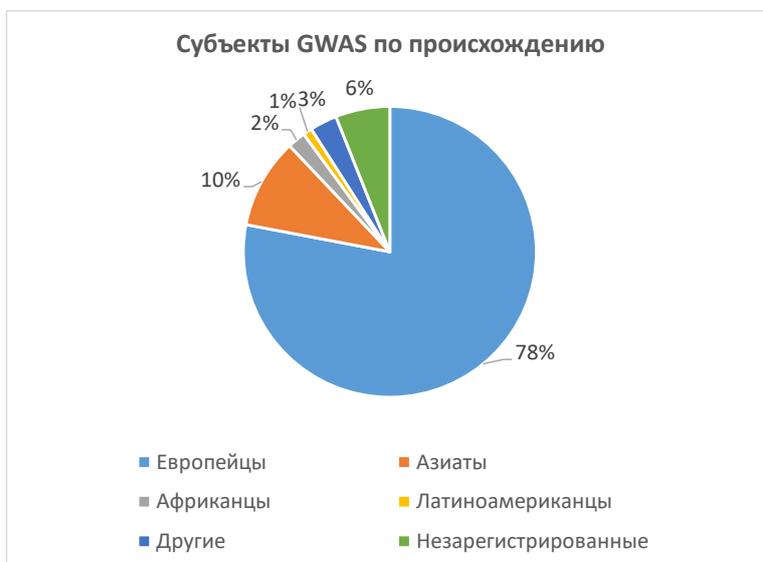
## Введение

К сожалению, не все специалисты по сердечно-сосудистым заболеваниям полностью осведомлены о полезности и потенциальных результатах генетических тестов в лечении пациентов и их семей. В журнале *Circulation* в 2020 году было опубликовано научное заявление Американской кардиологической ассоциации о необходимости генетического тестирования на наследственные сердечно-сосудистые заболевания [1], в котором обобщены современные передовые методы генетического тестирования и его значение для лечения наследственных сердечно-сосудистых заболеваний. Генетическое тестирование является информативным и полезным для диагностики и лечения различных наследственных сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), таких как кардиомиопатии, аритмические нарушения, аневризмы и расслоения грудной аорты и семейная гиперхолестеринемия (СГХ). В этом же документе признается, что методы генетического тестирования развиваются и что внедрение их в практику необходимо. В последующем в 2022 году Европейским обществом кардиологов были представлены рекомендации по генетическому тестированию для наследственных сердечных заболеваний [2]. В этом документе профессор Artur Wilde (Amsterdam University Medical Centre, the Netherlands) огласил: «Все клиницисты должны использовать генетическое тестирование для диагностики у пациентов с наследственными сердечными заболеваниями и для их родственников. Мы предлагаем строгие критерии для кого это необходимо и на какие гены рекомендуется обследование». При этом цель генетического тестирования у пациентов с предполагаемым наследственным кардиологическим заболеванием – определить причину. При некоторых состояниях это помогает клиницистам установить точный диагноз, получить информацию о прогнозе и определиться с лечением. Например, синдром удлиненного QT интервала, который потенциально летальный, но поддающийся лечению, на нормальной ЭКГ может быть не выявлен, а генетическое тестирование требуется для уточнения диагноза. Специфические генетические варианты повреждений необходимы как для прогноза, так и для выбора терапии.

Как известно, прорыв в области изучения молекулярно-генетических основ многих заболеваний произошел после разработки методов секвенирования. Появилось целое направление исследований – GWAS – полногеномный поиск ассоциаций, который заключается в сборе клинических и генетических данных и прочих данных в различных популяциях и при помощи биоинформатических и статистических ресурсов оценивается связь того или иного генетического варианта с фенотипом или с клиническим фенотипом. Такое исследование может включать от сотен тысяч до миллионов SNPs, выборку от 1000 до сотен тысяч человек, десятки фенотипических и клинических параметров и другие данные такие как пол, возраст, курение, образ жизни и т.д. На сегодняшний день наибольшее количество GWAS исследований проведено в Великобритании, США и некоторых других странах [3]. Например, в Великобритании было проведено более 660 GWAS на 22,5млн

людей, в США свыше 2,5тыс исследований на 11 млн людей. В целом, такие исследования проведены примерно на 10 популяциях, из них больше 95% приходится на европейскую популяцию, около 3% на Азиатские популяции, остальные группы представлены менее 1% (Рис 1). В связи с чем, отсутствие полногеномных и экзомных исследований в аспекте изучения сердечно-сосудистых заболеваний в нашей стране заставляет нас активнее двигаться в этом направлении. Помимо этого, имеются базы данных по различным когортным исследованиям, таким как Роттердамское исследование, Фремингемское исследование, Исследование риска атеросклероза в сообществах, Исследование Сердечно-сосудистого здоровья и др. Эти данные доступны для научно-исследовательского сообщества. Тем не менее, анализ полного генома рекомендуется пациентам с затрудненной дифференциальной диагностикой и тем, кому не удалось поставить диагноз другими методами.

**Добавлено примечание ([AA1]):** Цифры скорректировать. Можно вставить картинку. Нужно дать акцент, что этот пробел необходимо заполнить данными, в том числе по узбекской популяции



**Рис.1** Распределение (%) от общего числа доступных особей в каталоге GWAS на январь 2019 года. (Адаптировано из Slunecka et.al.Human Genomics (2021)15:46)

В последние годы, комплексные разработки в области генетики значительно улучшили знания о наследственных заболеваниях человека, включая генетические сердечные заболевания. Тогда как ранее для поиска предполагаемых мутаций, вызывающих заболевание, можно было исследовать только один или несколько генов, в настоящее время экзомное секвенирование (WES) и секвенирование всего генома (WGS) позволяют анализировать все варианты внутри персонального генома, включая те, которые предрасполагают к заболеваниям. Важным в этом отношении является то, что секвенирование полного генома теперь может выполняться в разумные сроки и по относительно низкой стоимости - геном за 1000\$ сейчас

доступен. Более того, эти и другие методы генотипирования предоставляют возможность идентифицировать варианты, модификаторы, которые влияют на развитие заболевания, либо вызывают более серьезные симптомы, либо защищают носителей патогенных мутаций от тяжелых заболеваний. Интересно, что эти разработки также поставили перед клинической генетикой задачу работы с “большими данными” и создания биоинформационных инструментов и методов для извлечения действительно значимых данных из множества вариантов, выявленных с помощью этих технологий. Идентификация генов, ассоциированных с заболеваниями в нерешенных случаях, больше не требует методов сцепления (или подобных им).

Более того, с быстрым увеличением количества зарегистрированных генов и вариантов генов, ассоциированных с заболеваниями, мы сталкиваемся с проблемой различий однозначно вызывающих заболевания вариантов от (относительно) безобидных вариантов. Последние требуют интеллектуальных решений *in silico*, а также “старомодных” (но предпочтительно высокопроизводительных) лабораторных экспериментальных установок для функционального исследования воздействия выявленных вариантов. Курирование генов и вариантов остается одной из важных задач на ближайшее будущее. Логично, что в области наследственных сердечных заболеваний для правильного выполнения этой работы необходима тесная координация между кардиологами (и другими клиническими специалистами), клиническими генетиками/генетическими консультантами и специалистами лабораторной диагностики. В следующих главах будут рассмотрены вышеупомянутые темы и вызовы.

## Глава 1. Структура генома, как основы наследственной информации

### §1.1. ДНК, РНК и белки

Вся информация необходимая для «строения» человека содержится в геномной и митохондриальной ДНК, а значит и вариации тоже. Однако простая концепция того, что части ДНК (гены) транскрибируются в молекулы РНК, которые предоставляют рецепты для производства белков, формирующих строительные блоки этого сложного организма, больше не актуальна. В действительности ситуация гораздо сложнее. Как генетические факторы, такие как регуляторные РНК (рибонуклеиновые кислоты) и процессы отпечатков, так и негенетические факторы, такие как метаболиты и другие воздействия окружающей среды, оказывают важное влияние на конечный результат информации, закодированной в генах. В этой главе будут описаны основные принципы молекулярных факторов, вовлеченных в этот процесс, и обсуждено их взаимодействие.

Молекулы ДНК состоят из четырех нуклеотидов, каждый из которых включает дезоксирибозу и фосфатную группу, вместе образуя сахарофосфатный остов молекулы, и варьируют по цепочкам оснований аденин (А), гуанин (G), цитозин (С) или тимин (Т) (см. рис. 2). Эти нуклеотиды связаны фосфодиэфирными связями, и в результате получающиеся нити нуклеиновой кислоты закручиваются вокруг друг друга в антипараллельной форме. Таким образом, двойная спираль ДНК обладает стабильной структурой, впервые описанной Уотсоном и Криком в 1953 году. Антипараллельное расположение означает, что цепи идут в противоположных направлениях ( $5'—3'$  и  $3'—5'$ ), нуклеотидные цепи связаны водородными связями между аденином (А) и тимином (Т) или гуанином (G) и цитозином (С). Каждая пара оснований состоит из двух водородных связей между парами АТ и трех водородных связей между парами СG, при этом последние связи более прочные.

Если бы вся ДНК человеческой клетки была вытянута в линию, она образовывала бы тонкую нить длиной от 2 до 3 метров. Эта длинная ДНК должна уместиться в ядре клетки, диаметр которой в среднем составляет 6 мкм у человека, и поэтому она должна быть очень конденсированной. Эта конденсация осуществляется внутри хромосом с помощью молекул гистонов, которые плотно упаковываются вместе с ДНК. Каждая человеческая клетка содержит две пары (диплоидный набор) 23 различных хромосом (гомологичных), которые варьируются по размеру, хромосома 1 является самой большой, а хромосомы 21 и 22 — самыми маленькими. Из этих 22 хромосомных пар, аутосомы присутствуют как у мужчин, так и у женщин, в то время как половые хромосомы (23-я хромосома) различаются: у мужчин есть одна X и одна Y хромосома (XY), а у женщин две X-хромосомы (XX). В целом полный генетический комплект сохраняется в каждой клетке, и чтобы достичь этого, ДНК должна удваиваться перед каждым делением клетки. Комплекс белков участвует в распутывании хромосом, позволяя хеликазе

ДНК раскручивает двойную спираль для начала процесса репликации. В ходе этого процесса двойная спираль разъединяется, а полимеразные ферменты синтезируют копии исходной спирали. В ходе этого процесса могут возникать ошибки, и несмотря на наличие механизмов репарации ДНК, исправляющих такие ошибки, в среднем на  $10^8$  репликаций происходит одна ошибка, что может привести к мутациям.

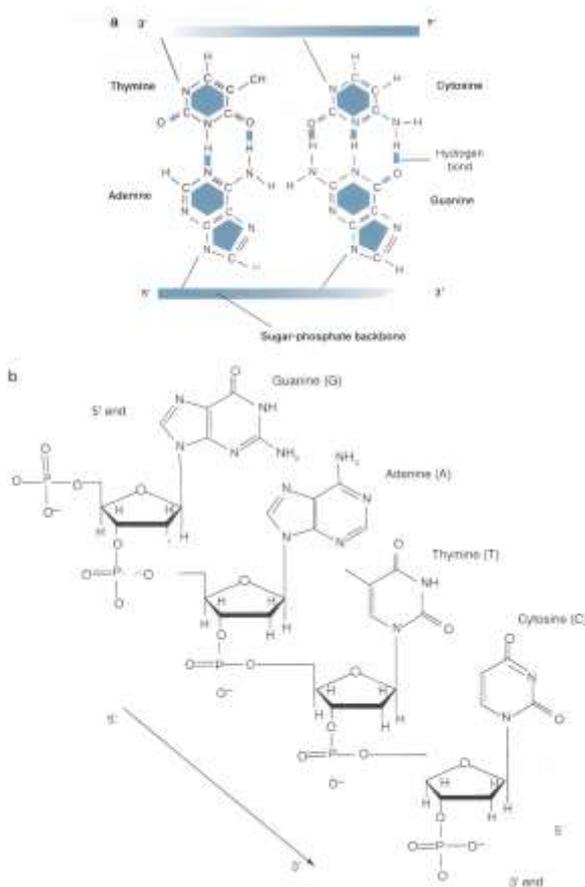


Рис 2. Структура ДНК. Основания ДНК (С, Т, А, G) соединены с дезоксирибозой, которая образует фосфатный остов через фосфодиэфирные связи. ДНК читается от 5' к 3' концу (например, последовательность АТGC). Две цепи ДНК соединены водородными связями между основанием аденина (А) и тимина (Т), а также гуанина (G) и цитозина (С). Основные и минорные бороздки образуются из-за закрученной структуры двойной спирали.(а) Химическая структура ДНК, показывающая сахарофосфатный остов.(Адаптирован из "Клиническая кардиогенетика", издание 2011 года.)

Соматические мутации (мутированные клетки) в организме человека обычно затрагивают конкретную ткань, в которой они возникли, иногда вызывая серьезные заболевания, например, рак. Когда мутации происходят во время полового воспроизводства, такие мутации (герминативные мутации) могут передаваться следующему поколению и стать причиной наследственного заболевания у потомства. Более того, когда хромосомы остаются диплоидными (две копии на клетку) во время деления соматических клеток, они становятся гаплоидными (одна копия на клетку) во время гаметообразования (производство сперматозоидов или яйцеклеток), и в ходе этого процесса происходит рекомбинация. Это обмен генетическим материалом между гомологичными хромосомами. Этот процесс очень важен для эволюционного разнообразия, однако он также может приводить к мутациям на уровне хромосом. Важно отметить, что только около 2% генома человека кодирует белки, и эта часть генетической информации содержится в кодирующих экзонах генов. Геном содержит до 20 000 различных генов. Эти гены состоят из "вышестоящих" последовательностей промотора на 5'-конце, регулирующих и/или стабилизирующих 5' UTR (нетранслируемую область) экзона, чередующихся кодирующих экзонах и некодирующих интронов, регулирующих/стабилизирующих 3' UTR экзонах и "нижестоящих" последовательностей на 3'-конце (Рис.3). Примечательно, что последовательности 5' UTR и 3' UTR находятся внутри первого и последнего экзона или экзона соответственно, а также экзонах, содержащих только UTR последовательности без кодирующих белок частей. Промоторные последовательности распознаются транскрипционной машинерией и факторами, модулирующими транскрипцию, которые, в сотрудничестве с РНК-полимеразой, отвечают за транскрипцию генов. Во время транскрипции, которая начинается на стартовом сайте транскрипции, расположенном в первых нуклеотидах 5' UTR, вся последовательность между стартовым сайтом транскрипции и сигналом полиаденилирования на конце 3' UTR транскрибируется в пре-мРНК (см. также Рис. 3). Для этого часть молекулы ДНК, на которой находится определенный ген, раскручивается, что делает ее доступной для ранее упомянутой транскрипционной машинерии. Образующаяся молекула пре-мРНК является антипараллельной копией гена, что схоже с ДНК во время дупликации, но с разницей, что пре-мРНК молекула создается на основе транскрипции ДНК. Таким образом, пре-мРНК молекула состоит из последовательностей, сравнимых с молекулами ДНК, за исключением того, что основание тимин заменяется на урацил, а сахаро-фосфатный остов состоит из рибозы вместо дезоксирибозы. Полученная молекула пре-мРНК всё ещё содержит интронные последовательности, которые позже будут удалены, и экзонные последовательности, которые останутся. Молекула мРНК переносится из ядра в цитоплазму, где рибосомные РНК (рРНК) и комплексы белков отвечают за трансляцию кодирующей белок части молекулы мРНК в белок. Белки содержат 20 различных аминокислот, закодированных кодонами мРНК. В общей сложности, большинство аминокислот закодировано более чем одним

отформатировано: русский

триплетом (кодоном), что означает, что большинство аминокислот кодируются более чем одним триплетом нуклеотидов. Исключениями являются фенилаланин (F), триптофан (W) и метионин (M), которые кодируются только одним триплетом. Важно отметить, что кодон последнего также распознается как стартовый кодон, с которого начинается трансляция белка. Кроме того, три кодона кодируют так называемые стоп-кодона, указывающие на конец аминокислотной последовательности. Во время трансляции молекулы тРНК функционируют как переносчики аминокислот и распознают соответствующие триплеты, кодирующие эти аминокислоты. Связываясь с определенными кодонами на мРНК внутри рибосомы, соответствующая аминокислота может быть присоединена к предыдущей аминокислоте растущего пептида. Повторяя этот процесс, последующие аминокислоты связываются друг с другом, в результате чего образуется полноценный белок. В ходе или после завершения этого процесса белок приобретает свою окончательную конформацию, если только сначала его не нужно транспортировать в другие клеточные органеллы, такие как эндоплазматический ретикулум (ЭР), митохондрии и т.д. Примечательно, что часто происходят также посттрансляционные модификации белков, такие как гликозилирование белков в ЭР и комплексе Гольджи. Как упоминалось ранее, только небольшая часть (2%) ДНК на самом деле кодирует белки. В то же время, около 25% ДНК кодирует интроны, последовательности, разделяющие последующие экзонные последовательности, которые обычно длиннее экзонов. Остальная часть генома может выполнять различные функции: такие последовательности могут играть регуляторные роли (например, промоторные и энхансерные последовательности), участвовать в стабилизации и/или поддержании ДНК (например, связываясь с гистонами), или играть роль в процессах репликации и рекомбинации. Часть ДНК также может быть просто остатком древних эволюционных процессов, и они больше не выполняют никаких функций. Например, известно значительное количество так называемых псевдогенов, которые напоминают части генов или иногда полные гены, но не превращаются в функциональные белки, даже если эти псевдогены иногда отличаются от функционального гена всего несколькими нуклеотидами.

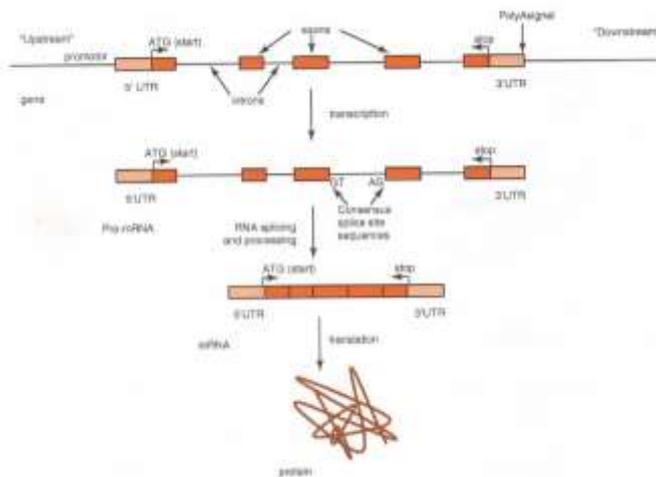


Рис 3. Организация человеческого гена и его превращение из пре-мРНК и мРНК в белок. (Адаптировано из книги «Клиническая кардиогенетика 2020 г.»)

Также все чаще описывается, что геном кодирует широкий спектр некодирующих РНК, которые, выполняют функциональные роли. Среди них есть тРНК и рРНК, а также многие более недавно выявленные каталитические и регуляторные РНК, такие как малые ядерные РНК (мяРНК), малые ядрышковые РНК (мяРНК), микроРНК (миРНК), транскрипционные интерференционные РНК (тиРНК), сплайсинговые РНК (сплиРНК) и длинные некодирующие РНК (днкРНК) (рис.4) [4]. МиРНК распознают специфические нуклеотидные последовательности в пределах 3'-нетранслируемых участков и, делая это, модулируют синтез белка, в то время как днкРНК, как полагают, участвуют в регуляции дифференцировки и развития. Для многих из этих функциональных РНК их точные роли еще предстоит выяснить. Более того, до сих пор неизвестные новые функции ДНК могут быть выявлены в ближайшем будущем. Наконец, весьма вероятно, что вариации в различных некодирующих, но функциональных последовательностях также способствуют спектру мутаций, вызывающих заболевания.

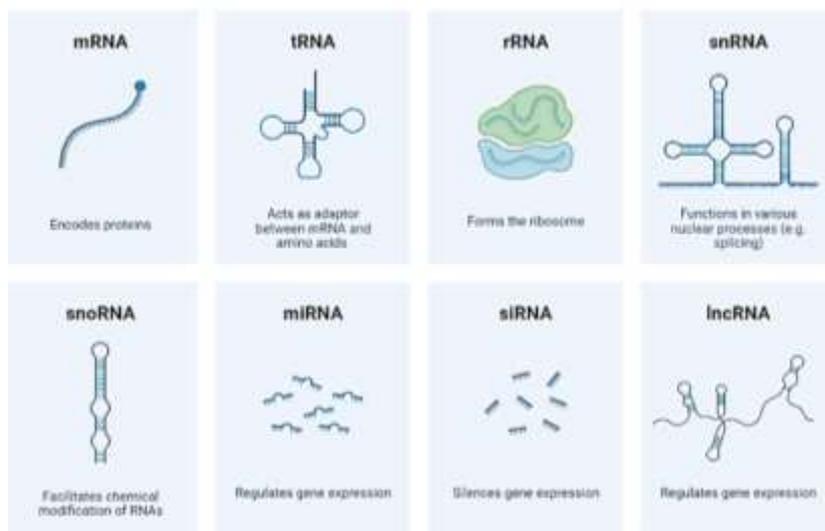


Рис.4. Виды РНК, продуцируемые в клетках: mRNA (мРНК, матричная РНК) – кодирует белки, tRNA (тРНК, транспортная РНК) – действует как адаптер между мРНК и аминокислотами, rRNA (рРНК, рибосомная РНК) – формирует рибосому, snRNA (малая ядерная РНК) – участвует в различных ядерных процессах (например, сплайсинг), snoRNA (малая ядерная РНК) – способствует химической модификации других РНК, miRNA (миРНК, микроРНК) – регулирует экспрессию генов, siRNA (малая интерферирующая РНК) – подавляет экспрессию генов, lncRNA (длинная некодирующая РНК) – регулирует экспрессию генов.

## §1.2. Генетические мутации

Как упоминалось ранее, в процессе репликации ДНК и рекомбинации происходят ошибки, и несмотря на наличие механизмов восстановления, эти ошибки могут стать основой для соматических или герментативных мутаций. Более того, мутации также могут возникать в результате химической модификации под воздействием солнечного света (УФ-излучения), курения, загрязнения воздуха, радиоактивности и/или просто химической нестабильности ДНК. В то время как соматические мутации могут приводить к заболеваниям у отдельных людей (например, к развитию рака), герментативные мутации (те, что возникают во время гаметогенеза) могут стать основой наследственных заболеваний, в том числе и кардиологических. Мутации различаются по размеру, начиная от изменения одного нуклеотида до удаления или дупликации целой хромосомы (например, удаление участка хромосомы 21, что приводит к хорошо известному синдрому Дауна, включающий в себя и сердечные аномалии). Во второй главе “Методы молекулярной генетики” будут рассмотрены основные методы, используемые для идентификации этих мутаций. Мутации, затрагивающие только один нуклеотид, могут иметь различные последствия. Это, конечно, зависит от самого изменения нуклеотида, но также и от того, находится ли поражённая

база в регуляторных, кодирующих или интронных последовательностях. При рассмотрении мутаций в кодирующих последовательностях, эти мутации могут оказывать разные эффекты на уровне аминокислот. Замена одного нуклеотида может привести к изменению аминокислоты, что называется миссенс-мутацией, которая нарушает функцию белка, либо из-за изменения активности белка, либо из-за того, что происходит производство неполноценной молекулы (мутации, приводящие к улучшению или к потере функции), или из-за неправильного сворачивания или разворачивания белка, что приводит к его нестабильности. В последнем случае это приводит к приблизительно 50% снижению выработки данного белка. Примечательно, что другая половина произведенного белка является результатом транскрипции неповрежденной (“дикой”) копии гена на другой хромосоме и последующего перевода ее мРНК в продукт. Однако, когда этого количества недостаточно для нормального функционирования белка, это может привести к немедленным или долгосрочным негативным эффектам. Это явление известно как гаплонедостаточность. То же самое в основном относится к однонуклеотидным заменам, приводящим к тому, что кодирующий аминокислоту триплет изменяется на стоп-кодон, что на уровне белка приводит к бессмысленной мутации. Введение преждевременного стоп-кодона (также называемого усеченной мутацией) на протяжении многих лет по определению считалось патогенным. Однако крупномасштабные исследования геномов, проведенные за последнее десятилетие, показали, что каждый человеческий геном на самом деле содержит несколько десятков усеченных мутаций, которые не вызывают заболеваний. В этой связи было показано, что такие мутации оказывают либо минимальное, либо вовсе никакого воздействия на значительное количество генов, связанных с заболеваниями, тогда как миссенс-мутации в тех же генах могут иметь значительные последствия. Когда усеченные мутации терпимы, это чаще всего связано с наличием неповрежденной копии гена на другой хромосоме, что все еще позволяет производить достаточное количество белка. Конечно, в случаях, когда обе копии гена мутируют, ситуация меняется, и тогда она почти всегда оказывается вредоносной.

#### **Список использованной литературы**

1. K.Musunuru, R.E.Hershberger, Sh.M.Day et al. Genetic Testing for Inherited Cardiovascular Diseases: A Scientific Statement From the American Heart Association. <https://doi.org/10.1161/HCG.000000000000067>Circulation: Genomic and Precision Medicine. 2020;13:e000067
2. Recommendations on genetic testing for inherited cardiac diseases published today. ESC Press Office, 2022
3. Mills and Rahal. Cmmun. Biol. 2019;2:9. <https://www.nature.com/articles/s42003-019-0116-2>
4. Morris KV, Mattick JS. The rise of regulatory RNA. Nat Rev Genet.2014;15:423-37.

## Глава 2. Клинико-генетические методы диагностики заболеваний

## Глава 2. Клинико-генетические методы диагностики заболеваний

### §2.1. Генетическое консультирование

Генетическое консультирование-это двусторонний процесс общения, направленный на помощь пациентам с генетическими заболеваниями или с (предполагаемым) повышенным риском генетического заболевания, а также их родственникам, для понимания генетического риска и выбора соответствующего курса действий. Генетическое консультирование проводится специально обученным медицинским или парамедицинским специалистами. Его цели заключаются в следующем:

- Помочь пациентам и их семьям понять медицинские факты (диагноз, симптомы, осложнения, течение болезни, вариации и методы лечения).
- Помочь пациентам и их семьям осознать основные факты генетического вклада в их заболевание, где это имеет значение для передачи рисков конкретным членам семьи и рисков рецидива у будущих детей.
- Помочь им понять возможные варианты, доступные для снижения рисков и риска рецидива (профилактическое лечение, корректировка образа жизни, репродуктивные опции, пренатальная диагностика).
- Помочь людям выбрать подходящий курс действий с учетом их индивидуального риска заболевания, целей, личных и культурных ценностей, религиозных убеждений, а также облегчить выполнение этого плана действий.
- Поддержать людей и их семьи в максимальной адаптации к своему заболеванию или повышенному риску генетического заболевания.

**Наиболее распространенные ситуации для консультаций по поводу сердечных заболеваний можно сгруппировать в одну из трех категорий, указанных ниже. Все три категории имеют свои особенности и основные проблемы:**

- родители, у которых есть ребенок с врожденным пороком сердца или синдромом, имеющим важные кардиологические последствия, либо с другим детским сердечным заболеванием. Они могут получить информацию о прогнозе, риске рецидива у будущих детей, а также иногда о возможности пренатальной диагностики;
- пациенты с сердечным дефектом или заболеванием сердца, которые могут беспокоиться о генетических аспектах и прогнозах заболевания. Их также могут интересовать риски для членов семьи, чаще всего (будущих) детей и/или братьев и сестер;
- те, кого направили на консультацию из-за положительного семейного анамнеза сердечных заболеваний или подозрения на таковые, либо кто имеет семейный анамнез внезапной сердечной смерти в молодом возрасте. Эти люди приходят за информацией о своем личном риске и задают вопросы о

полезности пресимптоматической кардиологической оценки. Если возможно, они могут выбрать пресимптоматическое генетическое тестирование.

Некоторые основные принципы генетического консультирования:

- **Ненаправленность.** Исторически сложилось, что ненаправленность является важной отличительной чертой генетического консультирования. Консультант должен предоставить достаточную информацию и поддержку. Решение принимает клиент. Эта идея возникла в то время, когда генетическое консультирование в основном касалось вопросов репродукции. Естественно, консультанты не должны вмешиваться в репродуктивные решения, принимаемые их клиентами. Также, при пресимптоматическом тестировании на поздние нейродегенеративные заболевания, когда медицинские меры по изменению течения болезни практически отсутствуют, максимальная ненаправленность должна применяться в консультировании. Однако с изменением фокуса медицинской генетики на заболевания, которые, по крайней мере в какой-то степени, поддаются раннему вмешательству или профилактическому лечению, применимость ненаправленного генетического консультирования становится менее очевидной. Например, при синдроме удлиненного интервала QT типа 1, где терапия бета-блокаторами доказала свою эффективность у симптоматических пациентов, ненаправленное консультирование кажется менее целесообразным.

- **Информированное согласие.** Информированное согласие не является уникальным для клинической генетики или генетического консультирования. Однако, некоторые учреждения требуют письменного информированного согласия до тестирования ДНК, особенно если речь идет о пресимптоматическом тестировании практически здоровых людей. В таких случаях нет универсального правила, и может потребоваться учет индивидуальных представлений и местных особенностей в медико-правовой ситуации.

- **Проблемы конфиденциальности.** Эти вопросы не являются уникальными для генетической медицины, но могут быть более актуальными в этой области. Генетическая информация может оказать огромное влияние на страхование и карьерные перспективы. Степень, до которой это верно, в значительной степени зависит от законодательства, касающегося генетической дискриминации, которое варьируется в разных странах. Однако угроза дискриминации на генетической основе всегда существует. Поэтому необходимо обеспечить максимальную конфиденциальность генетической информации. Предоставление генетической информации третьим лицам без письменного разрешения от человека, чьи данные используются, должно быть допустимо только в случае медицинской необходимости. В то же время генетическая информация гораздо сложнее для сохранения в тайне, потому что ДНК передается родственникам, которые могут значительно выиграть от этой информации. Когда это уместно, разрешение на использование этой генетической информации в интересах родственников должно активно запрашиваться у генетического консультанта. Особенно в семьях, где

коммуникация недостаточна, клинические генетики могут столкнуться с проблемами конфиденциальности и противоречивыми обязанностями.

## **§2.2. Кардиологическое генетическое консультирование**

Самая важная особенность кардиогенетических заболеваний - это риск внезапной сердечной смерти (ВСС). Каждый аспект этого ужасающего события доказывает уникальную роль генетических консультантов у кардиологических больных.

Такие задачи, как помощь пациентам в изменении образа жизни и координация клинического обследования родственников из группы риска, также входят в обязанности кардиогенетического консультанта. Кроме того, кардиогенетический консультант может быть вовлечен в ключевые стратегии лечения, такие как имплантация кардиовертера-дефибриллятора, тщательное исследование семейной истории и, во многих случаях, работа с семьей, пережившей потерю близкого человека. Учитывая важность клинического скрининга родственников первой степени как основной стратегии профилактики, кардиогенетические консультанты часто помогают в координации клинического наблюдения за членами семьи из группы риска.

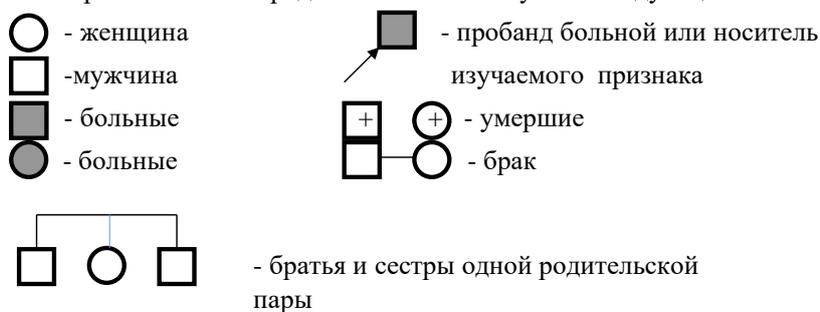
Будучи первой точкой контакта для многих семей, кардиогенетическим консультантам важно обучать пациентов тому, как часто должен проводиться клинический скрининг, а также часто развеивать ложные сведения о родственниках, которым ранее говорили, что им не нужно проходить повторные клинические обследования. Диагнозы многих из этих заболеваний также налагают ограничения на физические нагрузки, особенно в отношении соревновательных видов спорта, что может быть крайне разрушительным для многих пациентов, усложняя их адаптацию к заболеванию. Это особенно актуально для молодежи, где дисквалификация от участия в спорте может привести к серьезным психосоциальным последствиям. Аналогично, пациенты с повышенным риском внезапной сердечной смерти, которым рекомендована имплантация кардиовертера-дефибриллятора, испытывают широкий спектр эмоций, и роль кардиогенетического консультанта в предоставлении информации и эмоциональной поддержки может быть значительной. Многие семьи, которые обращаются в специализированные кардиогенетические клиники, имеют личный опыт внезапной сердечной смерти, часто потеряв близкого родственника. В таких случаях горе семьи выйдет на передний план, что затруднит предоставление информации и адаптацию к новому диагнозу.

## **§2.3. Метод составления родословной**

Сбор генеалогической информации о наличии среди родственников большого проводится методом опроса, в определенных случаях - личного

обследования членов семьи [1]. В последующем составляется графическое изображение родословной. В родословную включают родственников I степени родства (отец, мать, братья и сестра больного - пробанда), при этом генеалогическая информация собирается, как минимум в трех поколениях. В дальнейшем оценивается число пораженных родственников семьи пробанда.

При составлении родословной используются следующие символы:



## §2.4. Молекулярно-генетические методы

*с участием Закировой Д.В.*

### §2.4. 1. Полимеразная цепная реакция

Полимеразная цепная реакция (ПЦР), первоначально разработанная в 80-х годах прошлого века Кэри Маллисом [2], произвела революцию в фундаментальной науке и клинических исследованиях человеческих заболеваний.

Метод ПЦР является самым важным достижением в молекулярной методологии за последние десятилетия, приводя к ряду технических прорывов в этой области исследований. Этот циклический ферментативный процесс копирует ДНК-цепи, создавая практически неограниченное количество копий фрагментов ДНК. Метод основан на знании нуклеотидных последовательностей, расположенных на 5' и 3' концах амплифицируемой ДНК, и тщательном подборе короткого целевого фрагмента ДНК (праймера), который комплементарен искомой последовательности. Продукты предыдущих циклов используются в качестве субстратов для последующих циклов, что приводит к экспоненциальному увеличению количества целевого фрагмента.

Фермент (или полимеразы), который копирует ДНК в ПЦР-реакциях, зависит от праймера; то есть полимеразы будут копировать только те специфические последовательности ДНК, которые находятся рядом с праймером. Более того, полимеразы работают в одном направлении, копируя прилегающие последовательности только в направлении от 5' к 3' [3]. Первоначальное описание метода [4], включало трудоемкую двухэтапную реакцию, в которой расплавление двуцепочечной ДНК-матрицы до

одноцепочечной формы проводилось при высокой температуре (этап денатурации), после чего следовал синтез и амплификация идентичных одноцепочечных фрагментов ДНК с использованием олигонуклеотидных праймеров (этап амплификации).

Эти праймеры подбирались на основе последовательностей на границах области, подлежащей амплификации. Один праймер, так называемый «смысловый» (sense primer), имел последовательность, идентичную 5'-концу матрицы, тогда как «антисмысловый» (antisense primer) праймер комплементарно соответствовал 3'-концу матрицы.

Эти праймеры обычно имели длину от 18 до 24 пар оснований (bp). Удлинение комплекса матрица-праймер в направлении 5' → 3' (проводимое при температуре 25–37°C) осуществлялось с помощью температурочувствительного фрагмента Кленова ДНК-полимеразы I, выделенной из бактерии *Escherichia coli* [5], что приводило к образованию двуцепочечных продуктов.

Повторение цикла реакции, при котором вновь синтезированные цепи использовались в качестве матриц для следующего цикла, приводило к логарифмическому увеличению числа амплифицированных продуктов, пока не достигался плато-эффект после 25–30 циклов. Однако на каждом этапе денатурации ДНК-полимеразы теряла активность из-за высоких температур денатурации.

Saiki et al. (1988) значительно упростили этот процесс, успешно применив термостабильную, термоустойчивую ДНК-полимеразу, выделенную из термофильной бактерии *Thermus aquaticus*, обнаруженной в горячих источниках Йеллоустонского национального парка [5]. Этот фермент, известный как Taq-полимераза, позволил проводить циклы амплификации ПЦР при высоких температурах без необходимости добавления свежей полимеразы в каждый цикл. После завершения реакции продукты амплификации разделяются и детектируются классическим методом гель-электрофореза в агарозном геле.

Таким образом, открытие ПЦР привело к разработке полностью автоматизированного метода термического циклирования, который используется в настоящее время.

В кардиогенетике, метод ПЦР стали применять уже в конце 80-90-х годах прошлого века, для исследования и картирования генов ассоциированных с такими сердечно-сосудистыми заболеваниями, как гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) и синдром удлиненного интервала QT типа Романо-Уорда (LQTS), которые являются основными причинами внезапной сердечной смерти, синдромом Вольфа-Паркинсона-Уайта (WPW) и другими наследственными сердечными заболеваниями, включая три формы дилатационной кардиомиопатии (ДКМП). Возможность картирования генов, ответственных за эти сердечные заболевания, стала первым шагом к разработке молекулярных диагностических тестов на основе ПЦР. Когда в семье (родственной группе) обнаруживается сцепление с заболеванием, анализ членов семьи позволяет определить, является ли

конкретный человек носителем аномального гена или нет. У тех, кто несет патогенный вариант гена, можно предсказать развитие заболевания в будущем.

В качестве наглядного примера применения ПЦР, приведем выявление инсерционно/делеционного (I/D) Alu полиморфизма в 16 интроне гена дипептидилкарбокисептидазы 1 (DCP1) кодирующем ангиотензин превращающий фермент (АПФ), который по разным исследованиям имеет связь с рядом сердечно-сосудистых и других заболеваний (Рис.1 и Рис2.).

Вставка представляет собой повторяющуюся Alu последовательность длиной 287 пар оснований (bp). У человека может быть три возможных генотипа: гомозигота по вставке (II) – две копии вставки, гомозигота по делеции (DD) – отсутствие вставки и гетерозиготный генотип (ID) – одна копия вставки и одна копия делеции. Функциональные эффекты полиморфизма: у гомозигот DD наблюдается высокая активность АПФ, у гетерозигот ID – промежуточная активность АПФ и у гомозигот II – низкая активность АПФ. Этот полиморфизм можно детектировать с помощью ПЦР с использованием специфических праймеров, фланкирующих область инсерции [6].

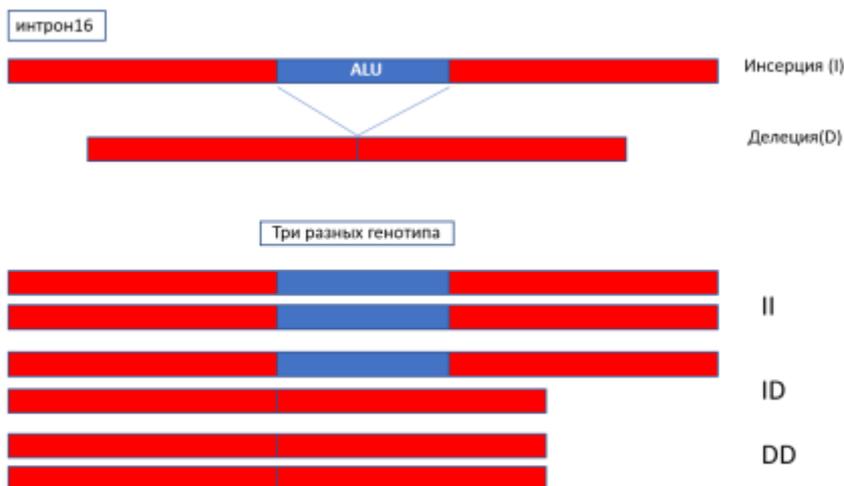


Рис.1. Схематическая картинка I/D полиморфизма Alu в 16 интроне гена DCP1 и возможных генотипов. II – гомозиготный генотип, две инсерции Alu; ID- гетерозигота, DD – гомозигота, две делеции

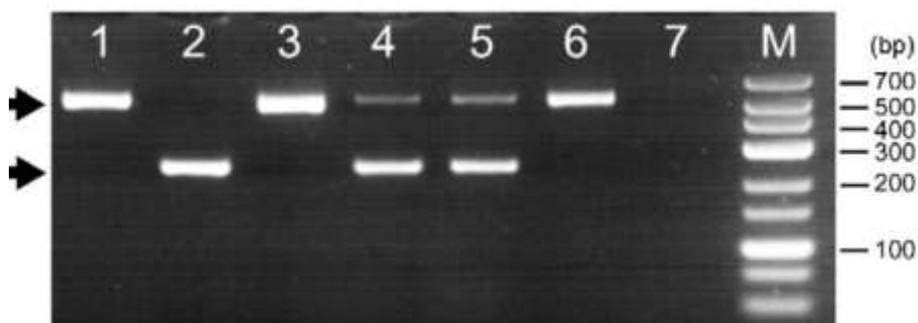


Рис.2. Визуализация генотипов (I/D) Alu полиморфизма в агарозном геле. 1,3, 6- II генотип, 2- DD генотип, 4-5 – I/D генотип, 7- отрицательный контроль (Asari et al., 2012). М-маркер молекулярного веса.

Дальнейшее развитие технологии ПЦР привело к разработке на его основе таких методик как ПЦР-ПДРФ, АС-ПЦР и ARMS-PCR, качественная и количественная ПЦР в реальном времени (qPCR), цифровая ПЦР (dPCR) и других.

После выполнения ПЦР, для выявления однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) доступны различные методы генотипирования, позволяющие идентифицировать вариации в последовательностях нуклеиновых кислот. Среди них: денатурирующий градиентный гель-электрофорез (DGGE), температурный градиентный гель-электрофорез (TGGE), метод химического расщепления несоответствий (СМС), конформационный полиморфизм одноцепочечной ДНК (SSCP)

Эти методы обладают различной эффективностью и чувствительностью для визуализации вариаций нуклеиновых кислот, а также имеют свои ограничения. К примеру, DGGE и TGGE ограничены из-за сложных требований к созданию градиентного геля, СМС требует дорогостоящих флуоресцентно-меченных проб, что снижает его популярность, ARMS-PCR может увеличивать стоимость и время анализа. Из-за этих ограничений широкое применение этих методов ограничено и используется только в специфических исследованиях.

Более распространенные методы PCR-RFLP и PCR-SSCP. В отличие от вышеупомянутых методик, PCR-RFLP (рестрикционный анализ полиморфизмов) и PCR-SSCP (анализ одноцепочечных конформационных полиморфизмов) получили широкое распространение для генотипирования амплифицированных продуктов.

ARMS-PCR является инструментом выбора, например, если необходимо изучить несколько SNPs на большом количестве образцов, с наименьшими затратами. Например, нами был разработан тест на основе ARMS-PCR для выявления rs4149056 (521T>C) в 6 экзоне гена SLCO 1B1, кодирующем белок OATP1B1, что приводит к замене аминокислоты валина на аланин в позиции 174 (Val174Ala), что в свою очередь изменяет транспортную активность белка участвующего в метаболизме статинов.

В результате изучения основных возможных стратегий выявления полиморфизмов, таких как секвенирование, рестрикционный анализ (ПЦР–ПДРФ), ПЦР в реальном времени с флуоресцентной детекцией, а также АС–ПЦР, было решено разработать подход с применением модифицированной одностадийной мультиплексной аллель-специфичной ПЦР (комбинация АС–ПЦР, ARMS или PASA–PCR amplification of specific alleles). Для одностадийного мультиплексного теста были разработаны 4 праймера (2 внешних и 2 внутренних) (Рис.3). Два внешних ген-специфичных праймера (прямой и обратный) амплифицируют фрагмент 6 экзона гена *SLCO 1B1* размером 260 п.н., содержащий полиморфный SNP 521T>C (rs4149056) [7]. В результате проведения мультиплексной ПЦР на электрофореграмме наблюдались фрагменты размером 260 п.н., 179 п.н. и 123 п.н., комбинации которых соответствовали следующим генотипам: СС – 260 п.н. и 123 п.н., ТТ – 260 п.н. и 179 п.н., СТ – 260 п.н., 179 п.н. и 123 п.н. (рис. 4)

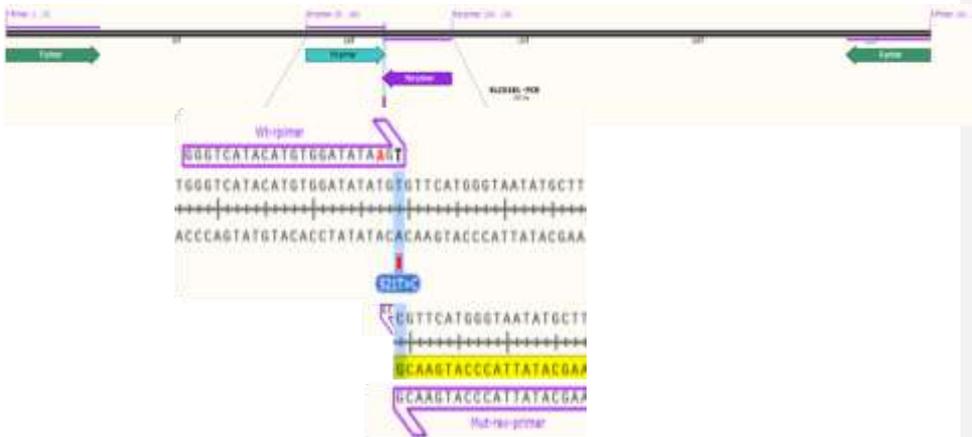


Рис.3. Схема дизайна ARMS-PCR для выявления rs4149056 (521T>C) в гене *SLCO 1B1*. В реакции используется 4 праймера: 2 внешних и два внутренних, для каждого аллельного варианта. На 3' конце внутренних праймеров вносится аллель-специфичный нуклеотид, а также заменяется третий нуклеотид с 3' конца, для повышения специфичности отжига праймера.

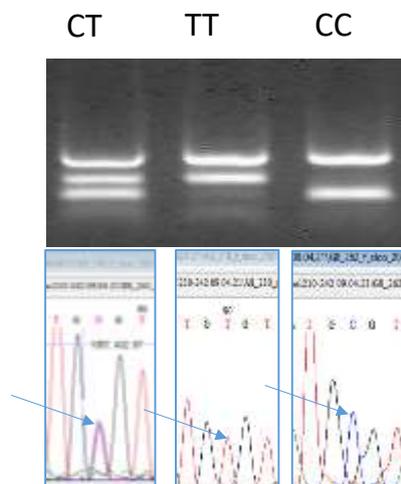


Рис.4. Визуализация продуктов ARMS-PCR в гель-электрофорезе и определение генотипов. Внизу представлен результат подтверждения специфичности методом секвенирования по Сэнгеру.

Затраты на дизайн и реактивы для ARMS-PCR, значительно дешевле по сравнению с ПЦР в реальном времени, однако этот метод значительно проигрывает по временным затратам и автоматизации, а также требует значительных усилий по оптимизации проведения реакции.

Таким образом, вышеперечисленные методы активно упоминаются в научной литературе и продолжают использоваться (в основном для научных исследований), несмотря на развитие высокопроизводительных методов, таких как секвенирование нового поколения (NGS) и полное экзомное секвенирование (WES).

#### §2.4.2. ПЦР в реальном времени (qPCR)

Хотя ресеквенирование и является очень точным, но остается дорогим и трудоемким, поэтому таргетное генотипирование SNP с помощью различных флуоресцентных технологий, таких как SYBR Green и TaqMan® на основе ПЦР предоставляет более экономичный, удобный и быстрый метод для эффективного генерирования тысяч генотипов в различных исследованиях.

Приведём принцип работы технологии TaqMan® SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA) методом ПЦР в реальном времени, используется для различения двух аллелей конкретного SNP в генотипировании. Метод включает использование прямого и обратного праймеров для амплификации полиморфной последовательности, а также два флуоресцентно-меченых зонда обеспечивающих аллель-специфическую детекцию. Зонд представляет из себя модифицированную последовательность ДНК. Один зонд на 5'-конце мечен флуорофором VIC® и детектирует аллель 1, второй - 6FAM™ (6'-карбоксифлуоресцеином) и детектирует аллель 2. Также к зонду прикрепляется MGB (Minor Groove Binder) – молекула связывающаяся с минорной бороздкой ДНК, которая повышает стабильность гибридизации зонда с матрицей и улучшает дискриминацию между совпадающими и несовпадающими последовательностями [8]. Репортерный флуоресцентный краситель прикреплен на 5'-конце зонда и нефлуоресцентный гаситель (NFQ) на 3'-конце. Гаситель не позволяет молекуле флуорофора испускать световой сигнал, таким образом, пока зонд не разрушен, сигнал подавляется. Сама реакция происходит, как и в классической ПЦР. Поскольку Taq-полимераза обладает 5' → 3' экзонуклеазной активностью, то в процессе постройки комплиментарной цепи после отжига

праймера, она расщепляет впереди себя зонд (Рис.5), отделяя флуоресцентный краситель от гасителя, что вызывает высвобождение флуоресцентного сигнала.

Далее в приборе, оборудованном специальной лампой для возбуждения флуорофора и камерой, для считывания сигнала, происходит генотипирование. Гомозигота по аллели 1 – сигнал VIC®. Гомозигота по аллели 2 – сигнал 6FAM™. Гетерозигота (обе аллели) – сигнал от VIC® и 6FAM™ одновременно.

Этот метод является быстрым, точным и автоматизированным, что делает его одним из самых популярных подходов для SNP-генотипирования.

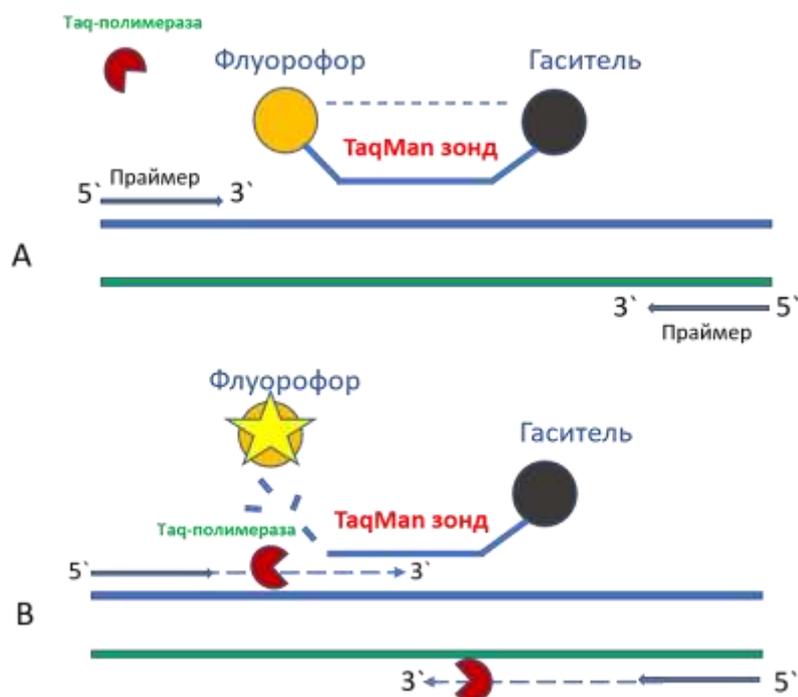


Рис.5. Схематическое изображение ПЦР в реальном времени с применением зондов TaqMan. А – Отжиг праймеров и зонда на ДНК матрице, за счет молекулярной связи с гасителем, флуорофор не испускает свет. В – В процессе реакции, Taq-полимераза за счет 5'-3' экзонуклеазной активности отщепляет флуорофор от гасителя, тем самым вызывая флуоресцентный сигнал, который детектируется прибором.

Также ПЦР в реальном времени успешно используется для количественного анализа и определения экспрессии генов. К примеру, этим методом проводили исследование уровня экспрессии матриксных металлопротеиназ (MMPs) и тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMPs), которые являются ключевыми регуляторами ремоделирования

внеклеточного матрикса и считаются фактором, играющим решающую роль в развитии абдоминальной аневризмы аорты [9].

Технология ПЦР в реальном времени активно применяется во всем мире для научных исследований и клинической диагностики сердечно-сосудистых патологий.

Таким образом, ПЦР в реальном времени идеально подходит для выявления экспрессии генов или однонуклеотидных полиморфизмов, и ее можно оптимизировать для одновременной детекции нескольких SNP в одной пробирке.

Однако, для выявления вариаций в копиях генов (CNV), применение qPCR сопряжено с определенными сложностями. Поэтому для этого можно использовать другую технологию - мультиплексный лигазный зондовый амплификационный анализ (MLPA). Данный метод подходит для исследований синдромальных микроделений/микродупликаций хромосом и охватывает 30 различных синдромов и рекомендуется при наличии врожденных пороков сердца для уточнения диагноза. MLPA позволяет определять CNV в нескольких генах/хромосомах и одновременно анализировать множество генетических регионов, он идеален для выявления делеций и дупликаций, однако менее точен для выявления малых изменений в геноме. Примером может служить исследование пациентов с врожденным пороком сердца, где методом MLPA были выявлены 27 геномных регионов с дупликациями, трипликациями и делециями [10].

#### **§2.4. 3. Метилирование-специфическая ПЦР**

Эпигенетические модификации могут изменять экспрессию генов, не изменяя их последовательности. Расшифровка эпигеномных сигнатур, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), может способствовать лучшему пониманию их механизмов, а также определению новых терапевтических мишеней и стратегий профилактики. С биохимической точки зрения, метилирование ДНК означает добавление метильной группы к нуклеотидам ДНК, обычно на цитозине в сайтах богатых цитозин-фосфат-гуанином (CpG островков).

Метилирование ДНК (особенно в промотерных областях генов) регулирует экспрессию генов через взаимодействие с транскрипционными факторами и транскрипционным аппаратом. Эпигеномные исследования широко применяются в изучении инфаркта миокарда (ИМ), инсульта, различных подкатегорий ишемической болезни сердца (ИБС) и других ССЗ.

Метилирование-специфическая ПЦР (MSP) – метод анализа метилирования CpG-островков. Перед проведением исследования, выделенная ДНК очищается от белков и примесей и подвергается бисульфитной модификации. Для этого, ДНК обрабатывают бисульфитом натрия, в результате чего происходит сульфонирование и неметилированные цитозины превращаются в урацил. Метилированные цитозины (с метильной группой в позиции C5) остаются неизменными, так как реакция

сульфонирования не может произойти при наличии метильной группы. После бисульфитного превращения ПЦР проводится с двумя парами праймеров. Праймеры для метилированной ДНК – амплифицируют только участки, где цитозины остались неизменными (метилированные), а праймеры для неметилированной ДНК – амплифицируют только участки, где цитозины были превращены в урацил (неметилированные), который в процессе ПЦР заменяется тиминном. После этого продукты амплификации детектируются различными методами, такими как гель-электрофорез или секвенирование.

MSP- высокочувствительный и специфичный метод для детекции метилированных участков в геноме. Широко используется в эпигенетических исследованиях, включая изучение рака, сердечно-сосудистых заболеваний и других патологий.

#### **§2.4.4. Цифровая ПЦР (dPCR)**

Совсем недавно была разработана цифровая полимеразная цепная реакция (digital PCR, dPCR), которая, в сочетании с флуоресцентными гидролизными пробами, позволяет проводить прямую и абсолютную количественную оценку молекул, например, микроРНК. dPCR является методом конечной точки для абсолютного количественного анализа, который был недавно внедрен как метод позволяющий проводить абсолютную количественную оценку без необходимости использования стандартной кривой. Принцип работы dPCR заключается в разделении образцов в реакционной смеси до микроподсуспензии, где каждый микропузырек представляет собой микро-реактор, где происходит ПЦР. Образец разделяется примерно на 20 000 индивидуальных реакций [11]. Система dPCR применяет математический анализ по распределению Пуассона для оценки флуоресцентных сигналов (положительных и отрицательных реакций). В сочетании с флуоресцентными гидролизными пробами становится возможным высоко-специфическое прямое количественное определение микроРНК. Данный метод имеет преимущества перед количественной ПЦР qPCR в анализе микроРНК, за счет низкой вариабельности данных, высокой воспроизводимости результатов при повторных измерениях в разные дни, высокой линейности измерений, высокой чувствительности в детекции низкоэкспрессируемых микроРНК в циркулирующей крови [12].

В кардиологии, поиск новых биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний остается актуальной задачей в клинических исследованиях. Применение dPCR незаменимо в новейших исследованиях направленных на выявление циркулирующих микроРНК, которые являются биомаркерами сердечно-сосудистых заболеваний. Циркулирующие микроРНК (miRNAs) в сыворотке крови проявляют перспективность в качестве биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний, включая острый инфаркт миокарда. Они высвобождаются из сердечно-сосудистых клеток в кровотоки, обладают высокой стабильностью и могут быть количественно определены [13]. Количественная экспрессия специфических микроРНК коррелирует с патологическими процессами. Некоторые miRNAs обладают высокой

тканевой и заболевание-специфичностью, что делает их перспективными кандидатами в диагностические и прогностические биомаркеры.

Таким образом, dPCR является предпочтительным методом для точного количественного определения микроРНК, особенно в крупных многоцентровых клинических исследованиях сердечно-сосудистых заболеваний.

#### §2.4.5. Секвенирование

Секвенирование по Сэнгеру — это метод определения последовательности ДНК, разработанный Фредериком Сэнгером и его коллегами в 1977 году. Он основан на случайном включении флуоресцентно-меченных дидеоксинуклеотидов (ddNTP), которые прекращают синтез ДНК, что приводит к образованию фрагментов различной длины [14]. В реакции ПЦР используется один праймер и смесь меченных ddNTP (четыре цвета) и немеченных нуклеотидов dNTP. Эти фрагменты затем разделяются с помощью гель-электрофореза, позволяя определить последовательность нуклеотидов в исследуемой ДНК (Рис.6). За разработку этого метода Фредерик Сэнгер был удостоен второй Нобелевской премии по химии в 1980 году. В настоящее время этот метод по-прежнему известен как метод секвенирования ДНК по Сэнгеру и остается стандартным методом в клинической генетике и одним из основных инструментов для секвенирования ДНК в течение примерно 40 лет после его создания [15].

В 1987 году была коммерциализирована автоматизированная система секвенирования, использующая флуоресцентные метки и капиллярный гель-электрофорез, что значительно повысило эффективность и точность метода.

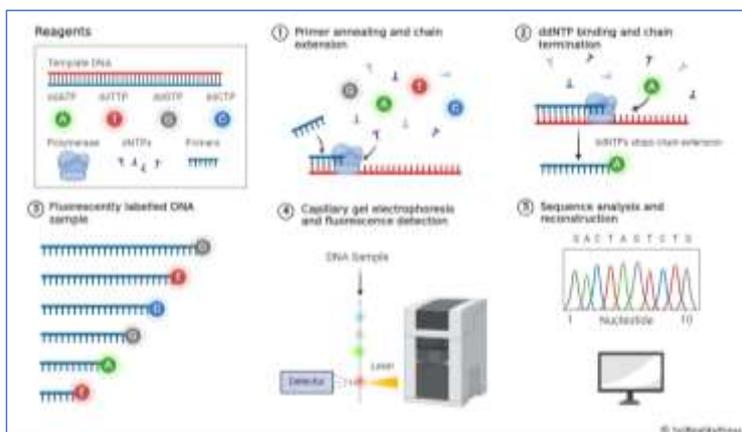


Рис.6. Этапы секвенирования по Сэнгеру. Проведение реакции ПЦР с добавлением одного праймера, меченных ddNTP и немеченных нуклеотидов dNTP. 1. Постройка цепи со случайным включением в цепь dNTP и ddNTP. 2. при включении ddNTP, постройка цепи прекращается и синтез начинается заново. 3. Образование флуоресцентно-меченных фрагментов ДНК разной длины. 4. Разделение фрагментов при помощи капиллярного электрофореза и лазерная детекция светового сигнала прибором. 5. Расшифровка нуклеотидной последовательности [16]

Несмотря на появление новых технологий секвенирования, метод Сэнгера остается "золотым стандартом" для подтверждения результатов, полученных другими методами, используется для валидации данных, полученных с помощью методов массового параллельного секвенирования (NGS). Так же метод Сэнгера применяется в исследованиях, где требуется секвенирование небольших участков ДНК (до 1000 п.н), широко используется в клинической практике для генетического тестирования и диагностики наследственных заболеваний.

Например, в кардиологии его активно применяют для диагностики синдрома Андерсена-Тавила (ATS) – редкого аутосомно-доминантного наследственного заболевания, связанного с мутациями в гене *KCNJ2*, который кодирует калиевый канал Kir2.1. Этот канал играет важную роль в поддержании мембранного потенциала в сердечной и скелетной мышцах [17]. На сегодня описано свыше 250 мутаций в этом гене связанных с ATS, поэтому для диагностирования заболевания, целесообразно проводить секвенирование.

Таким образом, метод секвенирования по Сэнгеру имеет высокую точность, а низкая частота ошибок делает метод надежным для детального анализа. Позволяет получать последовательности длиной до 700–900 пар оснований. Одним из ограничений метода является его дороговизна при секвенировании длинных последовательностей и большого количества образцов, также для секвенирования больших геномов метод требует значительных финансовых и временных затрат.

#### §2.4.6. ДНК-микрочипы

Анализ генетических вариаций при помощи технологии ДНК-микрочипов относится к современным высокопроизводительным геномным подходам в исследовании мультигенных сердечно-сосудистых заболеваний. Ранее возможности идентификации точного набора генов, связанных с мультигенными заболеваниями, такими как кардиомиопатии и аритмогенные заболевания (фибрилляция предсердий (ФП), синдром удлиненного QT (LQTS)), были очень ограничены. Классические генетические подходы, описанные выше, были направлены на определение одиночных локусов или генов, вызывающих Менделевские сердечно-сосудистые заболевания. Единственное изменение нуклеотида в ДНК могло приводить к значительным изменениям в концентрации или функции белка, что становилось причиной болезни. Однако в случае LQTS заболевание часто обусловлено множественными генетическими вариантами, которые взаимодействуют с клиническими факторами риска (например, физическая нагрузка, стресс, сильные звуковые раздражители, электролитные нарушения). Варианты генов часто существуют в форме однонуклеотидных полиморфизмов которые могут умеренно изменять функцию или концентрацию белкового продукта.

Классические генетические исследования неэффективны для обнаружения каждого SNP из-за их большого количества и незначительного

вклада в заболевание. Современные широкомасштабные геномные технологии позволяют анализировать сотни тысяч SNP, экспрессию генов в патологически измененных тканях, выявляя изменения в количестве мРНК, которые коррелируют с терапевтическим ответом, клиническим исходом или стадией болезни. Сегодня ДНК-микрочипы позволяют одновременно анализировать тысячи генов, предоставляя уникальные возможности для изучения генетического вклада в сердечно-сосудистые заболевания [18].

Таким образом, геномные технологии радикально изменили подход к изучению мультигенных заболеваний, сделав возможным поиск комплексных взаимодействий генов и факторов окружающей среды в развитии сердечно-сосудистых патологий.

Суть технологии заключается в нанесении в микроячейки размером несколько микрон, ДНК зондов специфичных каждому SNP. Достижения в инженерии и химии, в значительной степени обусловленные разработками коммерческих производителей микрочипов, позволили создать высокоплотные олигонуклеотидные микрочипы с  $10^5$ – $10^6$  зондами на одной микроматрице [19]. Самыми распространенными технологиями микрочипов являются Affymetrix и Illumina. Однако, технология Illumina является одной из самых передовых для анализа экспрессии генов и полногеномных исследований с использованием ДНК-микроматриц. Ключевые преимущества технологии Illumina это малый размер элементов, что увеличивает плотность данных, высокая плотность зондов, позволяющая анализировать большое количество генов и возможность параллельного анализа нескольких образцов, что ускоряет процесс и повышает эффективность исследований [20].

ДНК-микроматрицы – это устройства, изготовленные с использованием таких технологий, как фотолитография и струйная печать. ДНК-микрочипы работают на основе принципа гибридизации. Гибридизация – это процесс, при котором две комплементарные одноцепочечные нуклеиновые кислоты соединяются в единую молекулу, то есть нуклеотиды связываются со своими комплементарными основаниями. Если две цепи полностью комплементарны, они связываются и образуют двуцепочечную структуру. Этот процесс является основой молекулярной биологии, используемой в ДНК-микроматрицах, ПЦР, секвенировании и других методах анализа нуклеиновых кислот. Структура и принцип работы микроматриц. Они состоят из многочисленных одноцепочечных ДНК-зондов, закрепленных на кремниевой поверхности. Комплементарная ДНК или РНК, содержащая исследуемую последовательность, избирательно связывается с этими зондами, как показано на Рис.7. Сам микрочип довольно маленький, но на нем сотни тысяч микроячеек, на которых прикреплены ДНК-зонды (Рис 8).

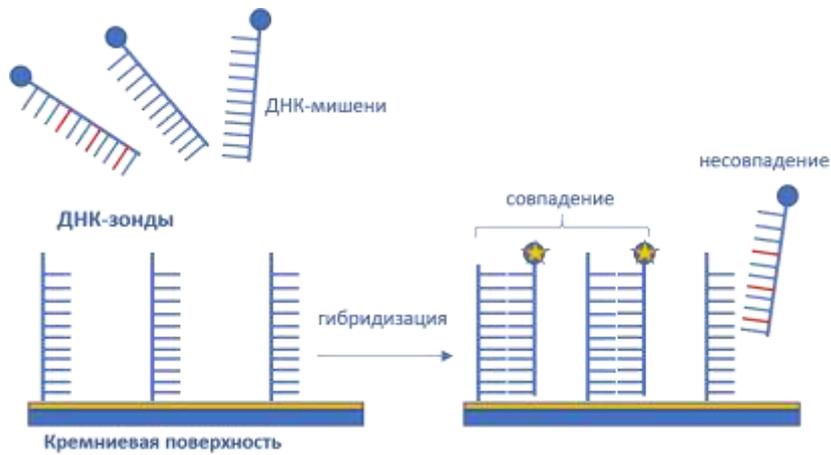


Рис.7 Принцип гибридизации применяемой в технологии ДНК-микроматриц.

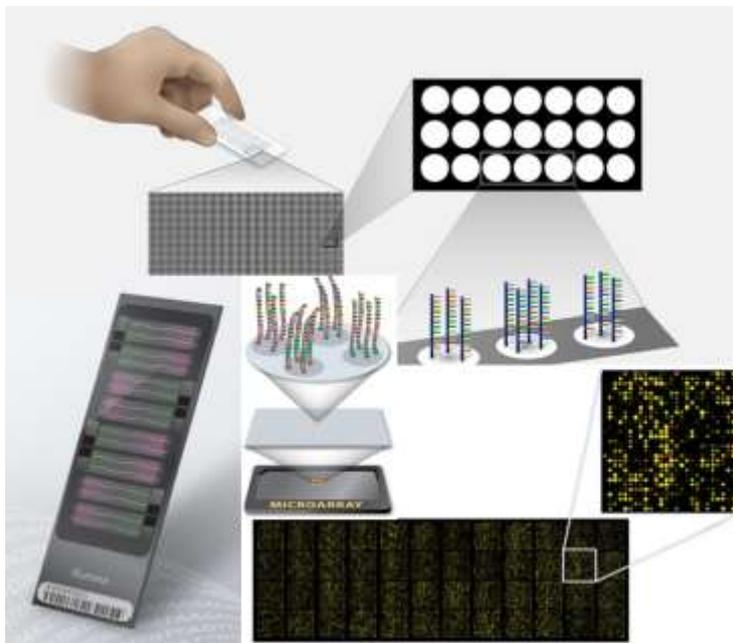


Рис.8 ДНК-микрочип содержит сотни тысяч наночастиц, где прикреплены ДНК-зонды, с которыми происходит гибридизация и последующая детекция связанных ДНК-мишеней.

Эта технология позволяет анализировать экспрессию генов, обнаруживать мутации и исследовать генетические вариации. Сегодня ДНК-микроматрицы используются в клинических диагностических тестах для выявления некоторых заболеваний, путем определения мутаций и вариаций числа копий (CNV), связанных с патологиями. Они также применяются для

фармакогенетики, где анализируется, какие препараты будут наиболее эффективны для конкретного пациента, так как гены определяют метаболизм лекарств. С появлением новых технологий секвенирования ДНК некоторые тесты, ранее проводившиеся на ДНК-микроматрицах, теперь выполняются с помощью геномного секвенирования. Микроматрицы остаются наиболее дешевым методом, чем секвенирование нового поколения (NGS). Они по-прежнему востребованы в крупных популяционных исследованиях и ряде клинических тестов, где стоимость имеет критическое значение.

Таким образом, ДНК-микрочипы сохраняют свою значимость, особенно в исследованиях с большим объемом данных и в диагностике отдельных заболеваний.

#### **§2.4.7. Секвенирование следующего поколения (NGS), WGS, WES и CES**

Осознав основные принципы функционирования нуклеиновых кислот, научное сообщество приложило значительные усилия для разработки быстрых и эффективных методов определения их первичной последовательности – секвенирования. Развитие методов секвенирования привело к тому, что в 2003 году в рамках проекта «Геном человека» была завершена полная расшифровка генома человека [21]. В основе этого грандиозного проекта лежало выделение и исследование дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Учитывая огромный объем информации, содержащейся в человеческом геноме, ученым пришлось разработать новые методы анализа ДНК, позволяющие быстро, экономично и надежно обрабатывать большие массивы данных. На ранних этапах исследований ученые могли секвенировать лишь несколько пар оснований в год, что делало невозможной полную расшифровку даже одного гена. Однако прогресс в области секвенирования привел к появлению первых полных геномных последовательностей, что стало возможным благодаря стремительному развитию технологий РНК- и ДНК-секвенирования. Автоматизированное секвенирование ДНК методом Сэнгера с использованием флуоресцентных меток стало доминирующим подходом в секвенировании и сыграло ключевую роль в завершении проекта «Геном человека» в 2003 году. По сей день метод Сэнгера остается «золотым стандартом» секвенирования [22].

Современные методы секвенирования должны быть доступными, быстрыми, точными и простыми в реализации. Ограничения секвенирования первого поколения привели к поиску новых технологий. После завершения первого полного секвенирования генома человека спрос на более дешевые и быстрые методы секвенирования значительно возрос. Методы массового параллельного секвенирования позволили преодолеть проблему масштабируемости традиционного секвенирования по Сэнгеру. Они используют микрореакторы или закрепляют молекулы ДНК на твердых поверхностях или шариках, что позволяет проводить миллионы реакций секвенирования одновременно [23]. После метода Сэнгера настоящую

революцию в области секвенирования произвели технологии нового поколения (NGS). Теперь полное секвенирование человеческого генома занимает всего несколько дней и обходится менее чем в 600 долларов, тогда как первый геном человека был расшифрован методом Сэнгера за многие годы и с затратами в миллиарды долларов [24]. Технологии секвенирования нового поколения проложили путь для тестирования большого количества генов. Типичная панель генов, связанных с сердечными заболеваниями, теперь включает от 50 до 200 генов. Многие из генов, включенных в эти панели, имеют лишь минимальные доказательства ассоциации с заболеванием или причинности, то есть они объясняют менее 5% заболеваний. Использование таких панелей значительно увеличило результаты генетической диагностики кардиомиопатий в семьях. Однако, как и ожидалось, это также привело к значительному увеличению выявления ВНЗ (вариантов неопределенного значения). Несмотря на наличие баз данных с последовательностями более чем 120 000 контрольных образцов из разных популяций (<http://exac.broadinstitute.org/>, <http://gnomad.broadinstitute.org/>) и доступность различных алгоритмов для предсказаний *in silico*, многие из этих вариантов на данный момент не могут быть окончательно интерпретированы. Секвенирование экзома (секвенирование всей кодирующей области генома) и геномное секвенирование (секвенирование внутреннего генома) сильнейший инструмент для исследования и открытия гена становятся все более распространёнными в коммерческой сфере. В сочетании с быстро снижающейся стоимостью и более широким доступом и распространением, сложность результатов получаемых при заказе кардиогенетического теста теперь выходит за рамки базовой экспертизы и текущей практики.

#### **§2.4.8. Полное секвенирование генома**

Полное секвенирование генома (Whole Genome Sequencing, WGS) – это передовая технология генетического анализа, основанная на детальном секвенировании всего генома человека. Полученные фрагменты ДНК сравниваются с референсным геномом, что позволяет выявлять генетические вариации [25]. Одним из ключевых преимуществ WGS является его уникальная способность анализировать некодирующие области генома, которые играют важную роль в понимании генетических механизмов сложных заболеваний [26]. Как правило, WGS проводится с глубиной покрытия не менее 30X, что генерирует огромные объемы данных – зачастую превышающие 90 гигабайт. Однако у метода есть и определённые ограничения, включая высокую стоимость, сложность анализа данных и трудности в интерпретации редких генетических вариантов, обусловленные сравнительно невысокой глубиной секвенирования. Альтернативой WGS является секвенирование экзонов. Экзоны – это ключевые фрагменты эукариотических генов, основная функция которых заключается в кодировании белков. Совокупность всех экзонных областей генома называется экзомом и представляет собой генетический код для белок-

кодирующих элементов. Экзоны имеют решающее значение, поскольку именно в них находится большинство известных мутаций, вызывающих заболевания.

#### **§2.4.9. Полное секвенирование экзома**

Полное секвенирование экзома (Whole Exome Sequencing, WES) – это метод, при котором целенаправленно обогащают ДНК из экзонных областей всего генома с помощью методов захвата или таргетирования, а затем проводят высокопроизводительное секвенирование [27]. Такой подход позволяет эффективно выявлять генетические мутации, влияющие на функцию белков. Для получения надежных результатов эксперты рекомендуют проводить секвенирование с глубиной покрытия не менее 100X, что эквивалентно примерно 12 Гб данных. WES выгодно отличается от полногеномного секвенирования (WGS) за счёт более высокой точности, меньших затрат и глубокой проработки белок-кодирующих областей, что облегчает выявление вариантов, влияющих на структуру белков. Высокая глубина секвенирования способствует обнаружению как частых, так и редких генетических вариантов [28]. Кроме того, поскольку WES ориентирован исключительно на экзоны, это значительно снижает стоимость, время анализа и объём обрабатываемых данных. Однако важно учитывать, что WES может иметь ограничения в выявлении вариаций числа копий (CNV) и структурных перестроек (SV) из-за особенностей метода захвата и ограниченного охвата некодирующих регионов.

В настоящее время технология WES широко используется для выявления генов, ответственных за развитие различных сложных заболеваний, а также генов, повышающих предрасположенность к ним. Это играет важную роль в разработке стратегий профилактики и лечения. Кроме того, секвенирование экзома активно применяется в онкологических исследованиях, в изучении генома человека, а также в анализе наследственных заболеваний [29]. WES охватывает кодирующие области более 20 000 генов, что делает его мощным инструментом для выявления мутаций. В случаях, когда клиническая картина заболевания не определена, WES позволяет провести комплексный анализ всех кодирующих регионов генома по разумной цене.

#### **§2.4.10. Секвенирование клинического экзома**

В то же время клиническое секвенирование экзома (Clinical Exome Sequencing, CES) экзома является упрощённой версией WES. CES ориентировано на гены, мутации в которых ассоциированы с заболеваниями и зарегистрированы в Human Mutation Database [30]. В настоящее время этот поднабор экзома включает около 5000 генов (примерно 25% экзома) и продолжает расширяться [31]. Основной идеей CES является уменьшение сложности и стоимости за счёт сокращения числа анализируемых генов [32]. Выборка включённых в анализ генов основывается на данных об их связи с заболеваниями, частоте мутаций и их распространённости. Однако число известных генов, ассоциированных с заболеваниями, постоянно

увеличивается благодаря новым исследованиям и публикациям. Именно поэтому набор генов в CES может варьироваться в зависимости от лаборатории. Соответственно, CES имеет следующие преимущества:

Экономическая эффективность – метод фокусируется на клинически значимых генах, что сокращает затраты, ускоряет анализ и повышает качество данных за счёт глубокого покрытия.

Снижение числа вариантов с неопределённой значимостью (VUS) – это упрощает генетическое консультирование и интерпретацию результатов.

Использование компактного оборудования – секвенирование можно выполнять на настольных приборах, таких как Illumina MiSeq, что особенно удобно при таргетном секвенировании нескольких десятков генов, ассоциированных с ССЗ.

Таким образом, существует три подхода к масштабному генетическому анализу: CES, WES и WGS. В таблице 1 приведены ключевые характеристики данных подходов NGS, а также приведены характеристики таргетного секвенирования и секвенирования по Сэнгеру.

**Таблица 1. Ключевые характеристики различных методов секвенирования [31].**

Характеристики	Стоимость	Аналитическая чувствительность	Диагностическая чувствительность	Интерпретируемость	Видимые варианты	Избегаемые случаи находок	Аналитическая специфичность
	Покрывание, Q30 основаный	Р (истинно-положительный)	Качество клинического обследования, специфичность фенотипа	VUS, корреляция генотип-фенотип	SNV, MNV, CNV, некодирующие, структурные вариации		Р (истинно-отрицательный)
WGS	\$\$\$	+	+++	+	++++ +	+	+
WES	\$\$	++	++	++	+++	++	++
CES	\$	+++	+++	+++	+++	+++	++++
Секвенирование	\$	++++	+	+++	+++	+++ +	+++

таргетных панелей							
Секвенирование по Сэнгеру	\$\$\$\$	++++ +	+	++++	++++	+++ ++	++++

Как показано в таблице, традиционная диагностика обладает высокой аналитической специфичностью и чувствительностью, но очень дорогая и менее эффективна для поиска новых мутаций. WGS и WES обеспечивают широкий охват, но требуют сложной интерпретации. CES представляет оптимальный баланс стоимости и информативности в клинической практике. Данный метод наиболее целесообразен в диагностике, так как фокусируется на известных заболеваниях, снижает затраты и сложность интерпретации. Также несмотря на то, что стоимость и сложность анализа между WES и CES сопоставимы, обработка данных CES намного проще, что делает его предпочтительным для диагностических лабораторий. Полное экзомное секвенирование (WES) является исключительно ценным инструментом скрининга, особенно для установления клинического диагноза наследственных сердечно-сосудистых заболеваний, включая неопределенные случаи внезапной сердечной смерти (ВСС) [33]. Значимость WES в кардиогенетике сложно переоценить. Например, WES незаменим при диагностике сложных и плохо определенных случаев ССЗ, где стандартные методы не дают результата, выявлении новых кандидатных генов, ассоциированных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, подтверждении клинического значения ранее неохарактеризованных генетических вариантов. Создание и обмен экзомными базами данных между медицинскими центрами позволит идентифицировать новые варианты и гены ССЗ. Совместное использование данных поможет улучшить персонализированную медицину, сделав диагностику более точной и эффективной.

Таким образом, WES не только улучшает диагностику наследственных заболеваний сердца, но и способствует выявлению новых генетических мишеней, что критически важно для будущих исследований и терапии.

#### **§2.4.11. Анализ клинических данных и генетических ассоциаций**

1. Статистический анализ клинических данных
  - t-критерий Стьюдента - для сравнения непрерывных переменных между группами.
  - $\chi^2$ -критерий - для категориальных переменных.
  - Непараметрические тесты используют для данных с ненормальным распределением (Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса в SPSS v.14.0, R).
2. Анализ генетических данных

- Частоты аллелей рассчитывают на основе генотипов испытуемых.
  - Для каждого полиморфизма используют  $\chi^2$ -критерий для проверки соответствия распределения равновесию Харди-Вайнберга (HWE).
3. Многомерный логистический регрессионный анализ
- Для изучения ассоциации полиморфизмов и взаимодействия полиморфизмов с ковариатами применяют логистический регрессионный анализ (R, snprassoc)
4. Расчет статистических показателей
- Оценка отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI) для каждого генотипа по сравнению с гомозиготой наиболее частого или референтного аллеля.
  - Статистическую значимость определяют по пороговому значению  $P < 0,05$ :

#### **Список использованной литературы**

1. Бочков Н.П. Клиническая генетика: Учебник-М. Медицина, 1997-288с:ил.
2. Mullis KB, Faloona F. A Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. *Methods in Enzymology* 1987; 155:335.
3. Towbin JA. Polymerase chain reaction and its uses as a diagnostic tool for cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med.* 1995 Sep-Oct;5(5):175-85.
4. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, et al.: 1985. Enzymatic amplification of fl-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 30:135&1354.
5. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, et al.: 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491
6. Sonnemans DG, de Windt LJ, de Muinck ED, Doevendans PA. *Methods in molecular cardiology: the polymerase chain reaction.* *Neth Heart J.* 2002 Oct;10(10):412-418.
7. Абдуллаев А.А., Закирова Д.В., Абдуллаева Г.Ж., Алиева Р.Б., Шек А.Б. Разработка системы АС-ПЦР для выявления полиморфизма rs4149056 в гене SLCO1B1, ассоциированного с сердечно-сосудистыми заболеваниями в узбекской популяции. *Кардиология Узбекистана.* 2021 №1 (59). С. 8-14.
8. Schleinitz D, Distefano JK, Kovacs P. Targeted SNP genotyping using the TaqMan® assay. *Methods Mol Biol.* 2011;700:77-87. doi: 10.1007/978-1-61737-954-3\_6.

9. Higashikata, Takeo et al. Application of real-time RT-PCR to quantifying gene expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis*, Volume 177, Issue 2, 353 – 360
10. Sørensen KM, El-Segaier M, Fernlund E, Errami A, Bouvagnet P, Nehme N, Steensberg J, Hjortdal V, Soller M, Behjati M, Werge T, Kirchoff M, Schouten J, Tommerup N, Andersen PS, Larsen LA. 2012. Screening of congenital heart disease patients using multiplex ligation-dependent probe amplification: Early diagnosis of syndromic patients.
11. Hindson BJ, et al. High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number. *Analytical Chemistry*. 2011; 83:8604–8610.
12. Hindson CM, et al. Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. *Nature Methods*. 2013;10:1003–1005.
13. Benning L, Robinson S, Follo M, Heger LA, Stallmann D, Duerschmied D, Bode C, Ahrens I, Hortmann M. Digital PCR for Quantifying Circulating MicroRNAs in Acute Myocardial Infarction and Cardiovascular Disease. *J Vis Exp*. 2018 Jul 3;(137):57950.
14. Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1977. Vol. 74, № 12. P. 5463–5467.
15. Shendure, J., Balasubramanian, S., Church, G. et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature* 550, 345–353 (2017).
16. [www.biotechreality.com/2024/10/sanger-sequencing-steps-and-process.html](http://www.biotechreality.com/2024/10/sanger-sequencing-steps-and-process.html).
17. Totomoch-Serra A, Marquez MF, Cervantes-Barragán DE. Sanger sequencing as a first-line approach for molecular diagnosis of Andersen-Tawil syndrome. *F1000Res*. 2017 Jun 28;6:1016.
18. Moric-Janiszewska E, Hibner G. Microarray analysis in cardiac arrhythmias: a new perspective? *Pacing Clin Electrophysiol*. 2013 Jul;36(7):911-7.
19. Gresham, D., Dunham, M. & Botstein, D. Comparing whole genomes using DNA microarrays. *Nat Rev Genet* 9, 291–302 (2008).
20. Fajriyah, Rohmatul. (2021). Paper review: An overview on microarray technologies. *Bulletin of Applied Mathematics and Mathematics Education*. 1. 21. 10.12928/bamme.v1i1.3854.
21. Behjati S., Tarpey P.S. What is next generation sequencing? // *Arch. Dis. Child. Educ. Pract. Ed*. 2013. Vol. 98, № 6. P. 236–238.
22. Cheng C., Fei Z., Xiao P. Methods to improve the accuracy of next-generation sequencing // *Front. Bioeng. Biotechnol*. 2023. Vol. 11. P. 982111

23. Pareek C.S., Smoczynski R., Tretyn A. Sequencing technologies and genome sequencing // *J. Appl. Genet.* 2011. Vol. 52, № 4. P. 413–435.
24. National Human Genome Research Institute (2022) – with minor processing by Our World in Data. “Cost of sequencing a full human genome” [dataset]. National Human Genome Research Institute, “DNA Sequencing Costs” [original data]. Retrieved February 11, 2025 from <https://ourworldindata.org/grapher/cost-of-sequencing-a-full-human-genome>.
25. 1000 Genomes Project Consortium et al. A global reference for human genetic variation // *Nature.* 2015. Vol. 526, № 7571. P. 68–74.
26. Bagger F.O. et al. Whole genome sequencing in clinical practice // *BMC Med. Genomics.* 2024. Vol. 17, № 1. P. 39.
27. Warr A. et al. Exome Sequencing: Current and Future Perspectives // *G3 Bethesda Md.* 2015. Vol. 5, № 8. P. 1543–1550.
28. Meienberg J. et al. Clinical sequencing: is WGS the better WES? // *Hum. Genet.* 2016. Vol. 135, № 3. P. 359–362.
29. Retterer K. et al. Clinical application of whole-exome sequencing across clinical indications // *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.* 2016. Vol. 18, № 7. P. 696–704.
30. Stenson P.D. et al. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies // *Hum. Genet.* 2017. Vol. 136, № 6. P. 665–677.
31. Klein H.-G., Bauer P., Hambuch T. Whole genome sequencing (WGS), whole exome sequencing (WES) and clinical exome sequencing (CES) in patient care // *LaboratoriumsMedizin.* 2014. Vol. 38, № 4. P. 221–230.
32. Alix T. et al. Predictors of the utility of clinical exome sequencing as a first-tier genetic test in patients with Mendelian phenotypes: results from a referral center study on 603 consecutive cases // *Hum. Genomics.* 2023. Vol. 17, № 1. P. 5.
33. Seidelmann SB, Smith E, Subrahmanyam L, Dykas D, Abou Ziki MD, Azari B, Hannah-Shmouni F, Jiang Y, Akar JG, Marieb M, Jacoby D, Bale AE, Lifton RP, Mani A. Application of Whole Exome Sequencing in the Clinical Diagnosis and Management of Inherited Cardiovascular Diseases in Adults. *Circ Cardiovasc Genet.* 2017 Feb;10(1):e001573.

### **Глава 3. Молекулярно-генетические аспекты сердечно-сосудистых заболеваний**

#### **§3.1. Генетические аспекты артериальной гипертензии**

*с участием Хамидуллаевой Г.А., Атаниязова Х.Х.*

Гипертензия является ведущим глобальным фактором риска заболеваемости и смертности, и исследования продемонстрировали четкую связь между повышенным систолическим и диастолическим артериальным давлением (АД) и сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) [1]. В 2015 году около 7,8 миллионов смертей были связаны с гипертензией [2], а число людей с диагнозом гипертензия, по оценкам, достигнет 1,5 миллиарда во всем мире к 2025 году [3]. Текущие рекомендации, предложенные Европейским обществом кардиологов, характеризуют гипертензию 1 степени клинически как  $\geq 140/90$  мм рт. ст. у пациентов моложе 80 лет [4], в то время как клинический порог, определяющий гипертензию в Соединенных Штатах, ниже и составляет  $\geq 130/80$  мм рт. ст., как указано в Американской кардиологической ассоциации [5]. Примерно 95% случаев гипертензии называются эссенциальной гипертензией (ЭГ); гипертензия неизвестной причины является результатом взаимодействия экологических и генетических факторов. Оставшиеся 5% случаев сгруппированы как вторичная гипертензия, из которых 1% являются моногенными расстройствами [6]. Несмотря на обширные исследования, механизмы регуляции АД и патофизиология гипертензии остаются плохо изученными, и существуют проблемы с различной реакцией пациентов и приверженностью к текущей фармакологической терапии. На протяжении десятилетий геномные исследования гипертензии и АД давали ключи к ее сложной генетической архитектуре в попытке определить новые целевые механизмы для терапии и персонализированных лекарств.

К настоящему времени имеются убедительные доказательства роли генетических факторов в развитии артериальной гипертензии (АГ). Регуляция АД осуществляется сложной комбинацией процессов, влияющих на сердечный выброс и периферическое сосудистое сопротивление. Многие

физиологические системы вносят свой вклад в формирование уровня АД, в этой связи уместно заключить, что многочисленные гены потенциально влияют на индивидуальные различия в АД. Сложность регуляции АД с вовлечением различных прессорных и депрессорных систем предполагает существенную генетическую гетерогенность АГ. Исследования последнего десятилетия сформировали новые представления о развитии и прогрессировании АГ. Потребовалось проведение кропотливых и масштабных работ, чтобы доказать, что АГ, в отличие от вторичной АГ представляет собой мультифакториальное генетически детерминированное заболевание, при котором по наследству передается не болезнь в полном ее проявлении, а предрасположенность к болезни. Особенность патогенеза АГ заключается в том, что несомненная роль неблагоприятных факторов среды, включая известные факторы риска, реализуется в связи с генотипическими особенностями индивида.

Согласно современным знаниям АГ представляет собой менделевски наследуемое, возрастзависимое заболевание, представляющее собой сложный комплекс нейрогуморальных, гемодинамических и метаболических факторов, взаимоотношения которых тесно переплетены и при этом трансформируются во времени при участии большого числа генов предрасположенности, иначе называемых генами-кандидатами АГ. АГ носит полигенный характер, с включением множества генов-кандидатов АГ. Полигены или гены-кандидаты относятся к полиморфным генам и аллели их широко распространены в популяции, встречаются и у здоровых лиц, но чаще у больных, что позволяет отнести их к генам подверженности мультифакториальных заболеваний, к которым относится АГ [7]. Гены-кандидаты экспрессируют ферменты, гормоны, рецепторы, структурные и транспортные белки, которые прямо или косвенно участвуют в развитии АГ, поражении органов-мишеней при АГ. В патогенезе АГ обсуждается, прежде всего, роль генов, кодирующих компоненты основных нейро-гуморальных систем, ответственных за развитие и прогрессирование заболевания. Сегодня известно более 150 генов-кандидатов АГ, наиболее изученными из них являются гены компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, симпато-адреналовой системы, системы эндотелия, а также  $\alpha$ -аддуцина, G-протеина, ионовых каналцев. Молекулярно-генетические аспекты эссенциальной гипертензии, а также первые результаты проведенных научно-исследовательских работ были подробно описаны в ранее опубликованной [нами](#) монографии [8].

### **§3.1.1. История генетики артериальной гипертензии, ранние исследования и результаты**

В 1949 году Page et al. задокументировал многогранную природу гипертонической болезни (ГБ) как результат дисрегуляции четырех интегральных систем: сердечно-сосудистой, почечной, эндокринной и нервной [9]. Генетический вклад в гипертонию был признан 32 года спустя в

его пересмотре Мозаичной теории гипертензии [10] после доказательств из множества семейных исследований [11-13] и характеристик редких моногенных расстройств гипертензии [14,15]. С консенсусом относительно существования генетического компонента АД, дебаты Платта против Пикеринга 1950-х годов рассматривали, является ли гипертензия моногенным или полигенным расстройством [16]. Платт утверждал, что редкие моногенные расстройства гипертензии являются доказательством моногенной природы. Напротив, Пикеринг постулировал гауссовское, а не бимодальное распределение АД среди населения, предположил, что АД определяется набором генов, и далее признал гипертензию как количественный признак с нормальным распределением, противопоставив предыдущее предположение о гипертензии как качественном признаке, отличном от нормотензивного АД [16]. Более поздние исследования подтвердили полигенную природу гипертензии и оценили наследуемость клинического систолического АД (САД) и диастолического АД (ДАД) в 15%–40% и 15%–30% соответственно [11], при этом редкие моногенные расстройства представляли собой крайний предел распределения. Проект «Геном человека» послужил катализатором для достижений в картировании генов в 1990-х годах [17]. Анализ сцепления был ключевым инструментом в первые годы, когда микросателлитные генетические маркеры проверялись на косегрегацию с признаком в семьях, результаты этих исследований предоставили хромосомные местоположения генов для признаков [6]. Исследование семей с моногенными расстройствами гипертонии с использованием анализа сцепления способствовало выявлению первых генов, связанных с АД, и подчеркнуло роль почечных и надпочечниковых путей в контроле АД, что подробно описали Ryan et al. [14]. Lifton et al. и его коллеги были ответственны за большинство исследований моногенных расстройств гипертонии в 1990-х годах – следует отметить, что исследование пациентов с синдромом Лиддла выявило мутации усиления функции в генах SCNN1B и SCNN1G, кодирующих субъединицы эпителиального натриевого канала (ENaC), присутствующего в собирательных трубках почек, установив роль реабсорбции почечного натрия в контроле АД [15]. Тем не менее, моногенные формы гипертензии составляют очень небольшой процент случаев гипертензии, и в попытке выяснить гены, вовлеченные в полигенные формы гипертензии, была проведена серия исследований сцепления генов-кандидатов в семейных когортах [18-24]. Эти исследования дали некоторые многообещающие результаты; однако они часто были противоречивыми в разных когортах, и ни один ген-кандидат не показывал устойчивую связь с гипертензией. В частности, варианты гена AGT, кодирующего ангиотензиноген, ключевого игрока в системе ренин-ангиотензин контроля АД, были связаны с гипертензией в анализе сцепления 63 белых европейских семей [21]; этот

отформатировано: Шрифт: 14 пт, русский

результат не был воспроизведен в более крупном европейском исследовании 350 семей [22]. Сцепление в этом локусе впоследствии было продемонстрировано в разных популяциях, в афро-карибских [20], мексикано-американских [19] и японских [23] когортах, хотя и в другом варианте, но не в других [18], что подчеркивает возможность потенциальных различий между этническими группами. Исследования генов-кандидатов, как правило, были недостаточно мощными, поскольку они опирались на семейные когорты, для которых набор затруднен, и отсутствовали данные по репликации, особенно из небелых европейских популяций [25]. На рубеже 21-го века были развернуты полногеномные анализы сцепления с целью идентификации локусов в любом месте генома, так называемый подход без гипотез. Различные полногеномные анализы сцепления были проведены в относительно больших когортах, включая Framingham Heart Study [26], Family BP Program [27,28] и British Genetics of Hypertension (BRIGHT) исследование [29]. Эти исследования успешно идентифицировали ряд количественных локусов признаков (QTL) (регионов ДНК, связанных с вариациями фенотипа), связанных с гипертензией, некоторые из которых были подтверждены в последующих исследованиях [30-32]. Идентификация широких регионов QTL на пяти хромосомах привела к тому, что исследование BRIGHT предложило гипертензию как «олиогенное» расстройство, при котором небольшое количество генов, расположенных в этих регионах, обеспечивают наибольшее влияние на признак, а дополнительные гены оказывают меньшие эффекты [29]. Тем не менее, интерпретация результатов анализа сцепления представляла трудности и ограничения; идентифицированные QTL охватывали широкие регионы ДНК, что затрудняло идентификацию ответственного гена [6], и не было возможности идентифицировать варианты с меньшими эффектами [33,28].

Наряду с исследованиями в человеческих популяциях также изучались модели грызунов, и они предоставили ценный ресурс для понимания полигенной природы ЭГ. Важно, что генетически модифицированные модели мышей сыграли важную роль в функциональном анализе и валидации генов-кандидатов АД [34]. Инбредные линии спонтанно гипертензивных крыс (SHR) оказались эффективными для идентификации новых генов, а также предоставили полезные физиологические модели сердечно-сосудистых заболеваний, а также ценный инструмент для анализа терапевтической эффективности и токсичности препаратов-кандидатов [35]. Семейство крыс SHR состоит из нескольких линий селективно инбридинговых крыс, каждая из которых несет разный генотип и выражает комбинации признаков, наблюдаемых при человеческой гипертензии, в целом имитируя человеческий клинический фенотип [35–39]. До полного секвенирования генома крысы [34] анализ сцепления в этих линиях крыс выявил более 270 областей QTL,

отформатировано: Шрифт: 14 пт, русский

связанных с гипертензивными признаками, преимущественно расположенных на четырех хромосомах [36], в соответствии с олигогенной теорией гипертензии [29]. Исследования на крысах имеют некоторые преимущества по сравнению с исследованиями на людях, поскольку генетическая гетерогенность линий крыс и их среда легко контролируются, что увеличивает мощность исследования. Тем не менее, подобно анализу сцепления на людях, эти исследования были ограничены размерами выборки, и картирование областей QTL для идентификации генов-кандидатов оставалось сложной задачей. Параллельное секвенирование геномов крысы [40] и человека [17] предоставило возможность для сравнительного картирования между видами, способствуя более точной трансляции областей QTL из исследований крыс на людей [36]. Теперь мы знаем, что некоторые области QTL, идентифицированные с помощью анализа сцепления у людей, подтверждаются в конгенных штаммах крыс, эта тема подробно освещалась Падманабханом и Джо в 2017 году [41]. В частности, метаанализ данных микрочипов из SHR идентифицировал несколько генов, связанных с АД у крыс [42]. Ряд идентифицированных генов ранее были связаны с гипертензией у людей с помощью анализа сцепления или сканирования по всему геному, включая APOE [43], NPPA и NPPV [44], что подтверждает роль этих генов в контроле АД.

Как было отмечено выше, артериальная гипертензия – это мультифакториальное заболевание, которое определяется взаимодействием генетически детерминируемой предрасположенности и средовых факторов. Во многих работах доказан высокий уровень наследуемости фенотипической вариабельности артериального давления (АД) от 30% до 50% [45]. Доказательства в пользу генетической детерминации АД не вызывают сомнений. При этом отягощенная наследственность увеличивает риск развития АД примерно в 4 раза [46]. В то же время наблюдения, основанные на реальной клинической практике, свидетельствуют, что препараты с высокодоказанной эффективностью нередко характеризуются у больных АД различной выраженностью антигипертензивных и органопротективных эффектов. В основе этого лежат расовые и этнические различия фармакологического ответа на прием лекарственных средств, в частности, антигипертензивных препаратов.

Как было отмечено выше, артериальная гипертензия – это мультифакториальное заболевание, которое определяется взаимодействием генетически детерминируемой предрасположенности и средовых факторов. Во многих работах доказан высокий уровень наследуемости фенотипической вариабельности артериального давления (АД) от 30% до 50% [45]. Доказательства в пользу генетической детерминации АД не вызывают сомнений. При этом отягощенная наследственность увеличивает риск развития АД примерно в 4 раза [46]. В то же время наблюдения, основанные на реальной клинической практике, свидетельствуют, что препараты с

высокодоказанной эффективностью нередко характеризуются у больных АГ различной выраженностью антигипертензивных и органопротективных эффектов. В основе этого лежат расовые и этнические различия фармакологического ответа на прием лекарственных средств, в частности, антигипертензивных препаратов.

Таким образом, многочисленные исследования последних лет демонстрируют, что уровень АД зависит как от кардиоваскулярных и средовых факторов, так и от генетических маркеров, влияющих на индивидуальный риск развития АГ [47,48].

В генетических исследованиях факторов развития АГ идентифицировано более 1500 генов, которые ассоциированы с повышением уровня АД [3]. Из них около 200 обнаружены или подтверждены при выполнении GWAS, ещё почти на 200 имеются мета-анализы, следовательно, выполнен колоссальный объём работы. В то же время, существенная доля результатов противоречива, а полученные эффекты отдельных полиморфизмов недостаточны для того, чтобы сделать весомые достоверные выводы [45]. Именно это, по сути, является подтверждением классического представления о множестве факторов, влияющих на артериальное давление, которое определяется вкладом множества генов с незначительным эффектом каждого во взаимодействии с факторами риска. Несмотря на то, что в целом идентифицированные генетические маркеры объясняют небольшую долю фенотипической дисперсии (менее 5%), тем не менее, на их основе уже тестируются генетические шкалы риска для превентивной оценки вероятности развития АГ. Причины недостаточной статистической значимости и отрицательных результатов репликации более ранних исследований, а также небольшая величина вклада генетических факторов по результатам полногеномных исследований могут быть связаны с методологией исследования (фенотип, дизайн), этническими особенностями, вкладом средовых факторов, недостаточной плотностью маркеров и другими технологическими параметрами, а также зависят собственно от сложности патогенеза АГ. Всё это делает актуальным проведение реплицирующих исследований на каждой этнической группе, популяции, проживающих в специфических условиях среды, отличающихся по характеру питания и целому ряду других факторов.

Важно заметить, что GWAS предполагают генетическую экспрессию и эпигенетический анализ в различных тканях, и таким образом могут быть обнаружены тысячи генов и путей, имеющих потенциальную биологическую значимость. Однако результаты для фенотипов АД скудны, поскольку варианты генов объясняют только 2,2% вариабельности АД и, таким образом, неприменимы для клинической практики [49].

### **§3.1.2. Генетические аспекты резистентной артериальной гипертензии**

Резистентная АГ, определяемая как высокое АД, несмотря на то, что пациенты принимают три класса антигипертензивных препаратов [50], не так

отформатировано: русский

хорошо изучена с использованием генетических подходов. Это отчасти связано с тем, что резистентная АГ является сложной клинической единицей, в которой резистентная АГ также используется как обобщающий термин для любого повышенного АД, которое не реагирует, когда вы можете исключить несоблюдение и вторичные причины. Этот фенотип может быть результатом большого спектра разнообразных патофизиологических источников и, таким образом, представляет собой большую проблему для надежного выявления значимых результатов в генетических исследованиях. Вопрос о том, может ли влияние генетических факторов различаться между резистентной АГ и нерезистентной АГ, представляет большой интерес, особенно с учетом расовых и этнических принадлежностей. Хотя предыдущие исследования выявили многочисленные генетические варианты, связанные с гипертензией и кровяным давлением [51-54], к сожалению, литературные данные по ассоциации молекулярно-генетических факторов с резистентной АГ малочисленны. Доступные молекулярно-генетические данные, касающиеся резистентной АГ, ограничены и в основном сосредоточены на генах-кандидатах АГ [55-57].

В одном из нескольких генетических исследований пациентов с резистентной АГ были обследованы 347 лиц на наличие мутаций  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединиц натриевых каналов эпителиоцитов [58]. Мутации в этих субъединицах могут вызвать синдром Лиддла - редкую моногенную форму АГ. Мутации  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединиц натриевых каналов эпителиоцитов чаще встречаются у пациентов с резистентной АГ. Наличие данных изменений в генах связано с увеличением экскреции натрия с мочой по отношению к уровню ренина в плазме, но не связано с уровнем альдостерона и активностью ренина.

Фермент CYP3A5 играет важную роль в метаболизме кортизола и кортикостероидов, частично в почках. Аллель CYP3A5 у афроамериканцев связан с высоким САД [59] и резистентностью к лечению [60]. В проведенных нами исследованиях также была выявлена положительная ассоциация G аллеля G6986A полиморфного маркера гена CYP3A5 с АГ у лиц узбекской национальности, иначе говоря G аллель G6986A полиморфного маркера гена CYP3A5 является фактором предрасположенности к АГ у лиц узбекской национальности [61].

За последние годы несколько исследований с комплексным генетическим подходом GWAS выявили некоторые значимые локусы предрасположенности к резистентной АГ в популяции США [62-65]. Чтобы выявить новые генетические локусы, ассоциированные с резистентной АГ в японской популяции, провели общегеномное исследование ассоциаций с 2705 большими резистентной АГ и 21296 контрольными лицами с легкой гипертензией, все из BioBank Japan [66]. Исследователи определили один новый локус-кандидат, rs1442386 на хромосоме 18p11.3 (DLGAP1), ассоциированный с резистентной АГ с высокой степенью достоверности (OR=

0,85; DI (0,81–0,90);  $p=3,75 \times 10^{-8}$ ) и 18 локусов, демонстрирующих предполагаемую ассоциацию, включая rs62525059 из 8q24.3 (CYP11B2) и rs3774427 из 3p21.1 (CACNA1D) [66].

В другом исследовании носители аллеля 235Т гена AGT M253Т (rs699) имели значительный риск развития резистентной АГ [67]. В исследование, проведенном в Бразилии, было включено 70 больных с резистентной АГ, 80 больных с контролируемой АГ и 70 контрольных лиц с нормотензией. Все испытуемые были прогенотипированы на инсерционно-делеционный полиморфизм гена ACE (rs179952), M235Т полиморфизм гена AGT (rs699) и Glu298Asp полиморфизм гена NOS3 (rs1799983). Результаты полученные на основе классической логистической регрессии и анализа MDR подтвердили высокую связь 235Т аллеля гена AGT с высоким риском развития резистентной АГ, особенно у лиц старше 50 лет [68].

Существуют доказательства того, что больные с резистентной АГ имеют особенный генотип. Как известно, в основе патогенеза резистентной АГ может лежать высокий порог вкусовой чувствительности к поваренной соли, а отдельные компоненты РААС предрасполагают к формированию повышенной чувствительности к соли. Как оказалось высокий риск ее развития имеется у носителей аллеля W-гена альдостеронсинтазы (CYP11B2 1C) [69]. Результаты наблюдения за индейцами Kupa, долго проживавших в изоляции на островах SanBlas и практически не потреблявших соли также свидетельствуют о генетической предрасположенности к солечувствительности. В основе доказательств этого лежит тот факт, что последние 60 лет количество потребления ими натрия, выросло, как и у жителей близлежащей Панамы, однако в отличие от последних уровень АД у них остается стабильно нормальным [70]. К настоящему моменту у человека определены некоторые гены, предрасполагающие к солечувствительности, в частности Trp/Trp и Trp/Gly-варианты гена ADD-1 [71] а также AA-вариант гена ангиотензиногена [72]. Marlin D.N. et al. показали, что рост сывороточного уровня натрия с одновременным снижением концентрации калия отмечен при наличии TT-варианта гена  $\beta$ -3 субъединицы G-белка (C825T полиморфизм), способствующего значительному увеличению активности почечного  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -транспортера [73]. Все вышесказанное доказывает, что продукты большинства генов, участвующих в развитии солечувствительности, так или иначе участвуют в регуляции почечного транспорта натрия, способствуя его ретенции в организме.

Согласно проведенному обзору научной литературы разнообразные генетические мутации и полиморфизмы генов натриевых каналов и соответствующих протеинов в почках способствуют нарушению обмена натрия и развитию солечувствительной АГ. К примеру мутации, вызывающие нарушение синтеза и регуляции уровня минералкортикоидов (глюкокортикоидзависимый альдостеронизм, нарушение синтеза альдостерона, переизбыток минералкортикоидов), мутации рецепторов к минералкортикоидам (прогестеронзависимая гипертензия у беременных) и

мутации, вызывающие повреждение в почечных канальцах (синдром Лиддла, синдром Гиттельмана, синдром псевдо-гиперальдостеронизма, синдром Бартера), которые были описаны Lifton et al [74].

Как известно, гены, участвующие в развитии солечувствительности, участвуют и в регуляции почечного транспорта натрия, способствуя его ретенции в организме. Таким примером могут служить, гены кодирующие  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -субъединицы аддуцина. При этом аддуцин – это гетеродимерический белок, входящий в состав преэбранного актин-спектринного цитоскелета. Его роль заключается в стимуляции активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , -АТФ-азы, ключевого фермента транспорта  $\text{Na}^+$  через канальцы почек. Ген  $\alpha$ -аддуцина (ADD1) локализован в хромосоме 4p16.3. Ряд исследований показали, что ген ADD1 несет ответственность за развитие солечувствительных форм АГ [75-78]. В частности, замена одного нуклеотида в 460-й позиции гена ADD1 – глицина на триптофан, ассоциируется с изменением реабсорбции ионов в почечных канальцах [79-81]. Интересен тот факт, что в европеоидной популяции, как показало исследование Cusi D. et al было отмечено, что генетическая мутация в виде замены аминокислоты глицина на триптофан в позиции 460  $\alpha$ -аддуцина ассоциирована с АГ [78]. Тогда как в японской популяции, а именно в исследовании Kato N. et al не было выявлено ассоциации 460Т аллеля гена ADD1 с АГ, хотя частота его в популяции составила от 54% до 60% в сравнении с европеоидами от 13% до 23% [82]. Это еще раз доказывает тот факт, что расовые и этнические особенности могут являться причиной того, что одна и та же мутация в разных популяциях может иметь различное влияние на развитие любого заболевания.

К настоящему моменту варианты гена ADD-1 являются наиболее изученными генетическими мутациями, которые могут быть ассоциированы с солечувствительной АГ. В частности, в этом контексте группой ученых во главе с Strazzullo P. отмечены Gly460Trp полиморфизм гена ADD-1, повышающий активность калий-натриевого насоса, Arg40Ser полиморфизм гена глюкогона, который снижает продукцию циклического аденозинмонофосфата и снижает натрийурез, также, как и мутации киназы, глюкокортикоидрегулируемой, которые усиливают альдостерониндуцируемую экспрессию натриевых канальцев [83]. Zhao X. Et al. отметили, что гены, участвующие в метаболизме арахидоновой кислоты, также участвуют в развитии солечувствительной АГ [84]. В другом исследовании, Nakagawa et al. показали, что изменения в CYP4A10 гене (из семейства цитохромов P450), вовлеченного в функциональную регуляцию натриевых канальцев, могут также вызвать солечувствительную АГ [85]. Hunt et al., 1998, продемонстрировали, что у больных АГ, имеющих аллель 235Т полиморфного маркера M235Т гена ангиотензиногена, снижение АД при ограничении соли в пище было более выраженным, чем у носителей аллеля 235М, что указывает на их более высокую солечувствительность [86].

В дальнейшем ряд авторов подтвердили, что G460Т полиморфизм гена  $\alpha$ -аддуцина (ADD-1) предрасполагает к солечувствительности [79,80], Также была доказана роль C825Т полиморфизм гена G-белка (GNB3) [81], M235Т

полиморфизм гена ангиотензиногена (AGT) [87], С344Т полиморфизм гена альдостеронсинтазы (CYP11B2) [88], А6986G полиморфизм гена семейства цитохрома Р450 - CYP3A5 [89], генов каналов хлора (гены CLCNKA и CLCNKB) [90], генов, влияющие на натрийзависимую регуляцию АД, экспрессирующиеся в дистальном нефроне (WNK1/rs880054 А/Г и NEDD4L/rs4149601 G/A) [91], генов, кодирующих синтез предшественника натрийуретического пептида NPPAT2238С [92]. Важно заметить, что вышеописанные гены являются генами-кандидатами для развития самой АГ и их влияние на водно-солевой обмен, изучалось параллельно в ходе изучения их роли в патогенезе АГ.

Группа исследователей во главе с Manuta P. et al, представили интересные данные по межгенному взаимодействию по влиянию на натрийзависимую регуляцию АД с участием генов ADD1 (Glu460Trp), WNK1 (rs880054 А/Г) и NEDD4L (rs4149601 G/A) [92]. Они оценили вклад каждого из этих генов по отдельности и в комбинации по воздействию на почки и реакцию АД в ответ на острую натриевую нагрузку (n=344). NEDD4L – нейрональный предшественник клеточно-экспрессирующегося убиквитин-связывающегося белка. Ген NEDD4L локализован в хромосоме 18q12.31, представлен 38 экзонами и множеством сплайсирующих вариантов. NEDD4L является антагонистом альдостерона и увеличивает экскрецию натрия. При синдроме Лиддла NEDD4L не может связать натрий, что приводит к его задержке в организме и развитию гипертензии. WNK1 – цитоплазматическая серин-треонинкиназа. Ген WNK1 расположен в коротком плече 12 хромосомы (12p13.3), экспрессируется в дистальном нефроне. Вероятно этот ген играет ключевую роль в дифференциации человека от приматов. Manuta P. et al предположили, что G аллель гена WNK1 и G аллель гена NEDD4L проявляли себя только в присутствии Т аллеля гена ADD1, в отличие от носительства G аллеля. При этом мутантный Т аллель гена ADD1 повышает  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ , АТФ-азную активность в проксимальных сегментах нефрона. Таким образом, количество натрия, поступающего в дистальные сегменты, где расположены WNK1и NEDD4L может повысить активность этих систем. Однако, в присутствии дикого типа гена ADD1, эти эффекты маскируются. Авторы обнаружили, что для проявления эффектов вариаций комбинации генов WNK1 и NEDD4L необходимо присутствие Т аллеля гена ADD1. Комбинированное носительство (ADD1,Trp/WNK1GG/NEDD4LGA+AA) приводило к задержке натрия (p=0,009), резкому подъему АД в ответ на солевую нагрузку (p=0,021), снижению уровня АД на фоне терапии тиазидами (p=0,008) и снижению ночного САД (p=0,044). Исследование Manuta P. et al еще раз подтвердило роль G460T полиморфизма гена ADD1 в патогенезе солечувствительной АГ.

Напротив, в другом мета-анализе 22 исследований с включением 14303 гипертоников и 15961 нормотоников, Liu K. et al. было продемонстрировано достоверно незначимая ассоциация Т аллеля гена ADD1 с риском развития АГ в сравнении с G аллелем (p=0,69, OR=1,02, 95% CI 0,94-1,10,  $P_{\text{гетерогенности}} < 0,0001$ ). Мета-анализ, проводимый по другим генетическим

признакам также не выявил значительных различий в общей популяции, как у европеоидов, восточных азиат и других популяциях. Таким образом, проведенный мета-анализ не доказал ассоциацию G460T полиморфизма гена ADD1 с гипертензией [93].

Противоречивость данных по ассоциации G460T полиморфизма гена ADD1 с солечувствительной АГ побуждают необходимость изучения эффективности генетических связей, факторов окружающей среды, индивидуальных биологических характеристик и их взаимодействия с целью выявления возможных механизмов развития АГ.

Следует отметить, что в ранее проведенных нами исследованиях в узбекской популяции не было выявлено ассоциации G460T полиморфизма гена ADD1 с солечувствительной АГ [61].

Особую роль в развитии резистентной АГ занимают гены, кодирующие компоненты РААС. Ангиотензиноген – первый белок в каскаде РААС. Ангиотензиноген синтезируется в печени и его образование стимулируется глюкокортикоидами и эстрогенами. Расположен ген ангиотензиногена (AGT) в локусе 1q42, в том же регионе, что и ген ренина. Ренин гидролизует пептидную связь в молекуле ангиотензиногена и отщепляет N-концевой декапептид - ангиотензин I, не имеющий биологической активности [94]. По данным наших исследований, проведенным ранее у больных АГ узбекской популяции носительство T-аллеля и TT-генотипа M235T полиморфного маркера гена AGT ассоциировалось с высокой частотой ГЛЖ [95].

Как известно, под влиянием ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), выявленного в эндотелиоцитах, лёгких и плазме крови, с C-конца ангиотензина I удаляются 2 аминокислоты и образуется октапептид - ангиотензин II. Ген АПФ локализуется в q23 локусе 17-й хромосомы. Структурный полиморфизм по данному локусу носит название инсерционно-делеционного (I/D). Наличие D-аллеля ассоциировано с более высоким уровнем циркулирующего АПФ и более высокой активностью тканевого фермента [96].

Ангиотензин II – является основным биологически активным эффекторным пептидом, оказывающим стимулирующее действие на продукцию и секрецию альдостерона клетками клубочковой зоны коры надпочечников, который, в свою очередь, вызывает ретенцию ионов натрия и воды. Ангиотензин II является гуморальным стимулятором миокардиальной гипертрофии, роста и пролиферации гладкомышечных клеток, синтеза коллагена, а также участвует в реализации гипертрофического ответа на механическую стимуляцию [97].

Альдостерон - наиболее активный минералокортикостероид, синтезирующийся в коре надпочечников из холестерина. Синтез и секреция альдостерона клетками клубочковой зоны непосредственно стимулируются низкой концентрацией  $\text{Na}^+$  и высокой концентрацией  $\text{K}^+$  в плазме крови. Aldosterone участвует в регуляции обмена натрия и сосудистого объема и, кроме того, является стимулятором клеточной гипертрофии и фиброза в сердечно-сосудистой системе. На секрецию альдостерона влияют также

простагландины, адренкортикотропный гормон. Однако наиболее важное влияние на секрецию альдостерона оказывает ренин-ангиотензиновая система. Суммарным биологическим эффектом индуцируемых альдостероном белков является увеличение реабсорбции ионов натрия в канальцах нефронов, что вызывает задержку натрия в организме, и возрастание экскреции калия [98].

Ген альдостеронсинтазы картирован в хромосоме 8q22, состоит из 9 экзонов и 8 интронов. Главным стимулятором экспрессии альдостеронсинтазы являются ангиотензин II и ионы калия. В норме ген, кодирующий альдостеронсинтазу, экспрессируется только в клубочковой зоне коры надпочечников, и только в этой зоне синтезируется альдостерон. В ряде работ была показана взаимосвязь С344Т полиморфизма гена альдостеронсинтазы (CYP11B2) с АД и положительная связь с уровнем альдостерона плазмы. В японской популяции С344-аллель данного полиморфизма гена CYP11B2 является генетическим маркером для низкорениновой гипертензии [88,99,100].

В другом исследовании Kuraqi M. et al. обследовали 84 индивидуума (из них 44 женщины) в возрасте 36-37 лет финской популяции. Все лица были прогенотипированы по двум полиморфным маркерам гена CYP11B2: один в промотерном регионе, а другой в интронном регионе [101]. Множественный регрессионный анализ генотипов промотера выявил статистически значимую вариацию в конечном диастолическом размере ЛЖ ( $p < 0,001$ ), конечном систолическом размере ЛЖ ( $p = 0,0009$ ) и в ММЛЖ ( $p = 0,023$ ). Полученный результат не зависел от таких факторов, как пол, вес, АД, физическая активность, курение и потребление алкоголя. Группы генотипов также различались по состоянию диастолической функции ЛЖ ( $p = 0,018$ ). Увеличение ММЛЖ, связанное с повышенным потреблением соли идентифицировалось только при наличии определенного генотипа С344Т полиморфного маркера гена CYP11B2 (СТ и СС) ( $p < 0,001$ ). По результатам исследования, авторы сделали заключение, что генетические вариации возле и в самом гене CYP11B2 значительно влияют на размер и массу ЛЖ у молодых лиц, не имеющих в анамнезе заболеваний сердца. Также было сделано заключение, что эти полиморфизмы влияют на ремоделирование ЛЖ в ответ на избыточное потребление соли.

В ряде работ было доказано, что патологическая активность  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  обмена в клеточной мембране и сниженная скорость  $\text{Na-K-Cl}$  – ко-транспортной системы в эритроцитах крови, генетически обусловлены активацией G-белка. По данным литературы одним из наиболее изученных генетических маркеров, связанных с повышенным обменом ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{H}^+$  на уровне клеточной мембраны, а также задержкой натрия почками, является ген GNB3 G-белка. В испанской популяции согласно проведенным в 2004 году исследованиям полиморфизм С825Т гена GNB3G-белка у больных ЭГ был связан с увеличенной активностью  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  обмена через синтез аномального гиперактивного белка. Данный полиморфизм изучался и в турецкой популяции, где была определена ассоциация между С825Т полиморфизмом

гена GNB3 и гипертензией с учетом данных почечной реабсорции Na<sup>+</sup> в организме [81,102]. В ранее проведенных нами исследованиях было показано, что в формировании солечувствительности принимает участие С-аллель С825Т полиморфизма гена GNB3. В частности, низкая вкусовая чувствительность к поваренной соли и избыточный солевой режим чаще встречаются у больных ЭГ с С-аллелью (СС и СТ-генотипы) гена GNB3. Была отмечена ассоциация СС-генотипа С825Т полиморфизма гена GNB3 с высоким порогом вкусовой чувствительности к поваренной соли и более высокими уровнями САД и ДАД в отличие от носителей СТ и ТТ-генотипов [103].

Важно заметить, что GWAS ВР были в значительной степени сосредоточены на количественных фенотипах АД, как описано в них; однако в последние годы были проведены GWAS для резистентной АГ [104,105], с некоторыми новыми результатами. Например, Rouby et al. выполнили, насколько нам известно, один из первых GWAS для резистентной АГ и использовали свои результаты для разработки GRS (genom risk score) [104]. GRS был основан на трех сигналах (в MSX2, IFLTD1 и PTPRD), которые были обнаружены у участников, взятых из двух рандомизированных клинических испытаний (1194 белых и латиноамериканских участника на стадии открытия из одного клинического исследования и 585 человек на стадии репликации из независимого клинического исследования) [104]. GRS еще предстоит протестировать, так как исследователи отмечают, что на тот момент не было достаточно большой когорты для изучения [105]. Напротив, Irvin et al. провели GWAS резистентной АГ, в котором они воспроизвели результаты в новых образцах с использованием Программы миллиона ветеранов (n = 16 833) с репликацией среди разных этнических групп и определили локус CASZ1 с наибольшей значимостью [105]. В частности, они обнаружили, что носители rs12046278 Т в CASZ1, локусе, также связанном с количественными признаками АД, с меньшей вероятностью имели резистентную АГ [82]. В целом, эти результаты подчеркивают, что GWAS резистентной АГ находится в зачаточном состоянии и требует дальнейших исследований. Новые результаты могут улучшить наше понимание биологии резистентной гипертензии АГ и оптимизировать назначение антигипертензивных препаратов.

### **§3.1.3. Генетика артериальной гипертензии за пределами GWAS – эпигенетика**

Хотя GWAS позволили открыть большое количество локусов, они объясняют только около 6% наследуемости SNP АГ на данный момент [106]. Эпигенетические изменения также могут играть важную роль в наследуемости АГ и могут объяснять часть наследуемости, не учтенной вариацией SNP. Эпигенетические изменения (модификации, которые приводят к изменениям

в экспрессии генов, но не изменяют последовательность ДНК) могут быть как наследуемыми, так и модулируемыми через факторы окружающей среды, например, питание [107]. Эпигенетические механизмы могут изменять экспрессию определенных генов с помощью различных методов, включая метилирование ДНК, которое часто обнаруживается в динуклеотидах CpG (цитозиновые и гуаниновые основания, соединенные фосфодиэфирной связью), расположенных в промоторах генов [108]. Некоторые известные локусы, ответственные за уровень АД, уже, как было показано, действуют через эпигенетические механизмы. Разработка массивов, нацеленных на сайты CpG, позволила исследовать эпигенетическую регуляцию АД с использованием EWAS (исследования ассоциаций по всему эпигеному). EWAS BP все еще находятся на ранних стадиях изучения по сравнению с GWAS, и опубликовано лишь небольшое количество исследований, каждое из которых имеет ограниченные размеры выборки и, следовательно, низкую мощность. Один из крупнейших EWAS BP (17 010 человек европейского, афроамериканского и латиноамериканского происхождения) сообщает о 13 локусах метилирования, которые составляют дополнительные 1,4%–2% наследуемой вариации АД. Результаты были подтверждены на когорте из 1516 человек, а также 126 локусов, идентифицированных после метаанализа [109]. Другой недавний EWAS предположил потенциальные этнические различия в метилированных сайтах [110]; однако это было основано на значительно меньшем размере выборки ( $n = 712$ , включающей южноазиатских и европейских предков), идентифицирующих восемь локусов (один присутствует в обеих этнических группах, семь только в европейских). В этом исследовании не было когорты проверки; однако оно включало сравнение их результатов с вышеупомянутым исследованием, которое выявило некоторое совпадение (например, cg19693031 около гена TXNIP) с более слабыми доказательствами ассоциации по сравнению с предыдущим исследованием. Это отчасти могло быть связано как с меньшим размером выборки, так и с различным этническим происхождением этого исследования (49% южноазиатского происхождения). Понимание эпигенетики и ее вклада в гипертензию в настоящее время ограничено технологиями. Текущий массив, используемый в EWAS, охватывает <2% известных сайтов CpG [111], а также не обнаруживает эффект других распространенных эпигенетических механизмов, таких как модификация гистонов и некодирующая РНК, которые также можно увидеть работающими в тандеме друг с другом (например, lncRNA, регулирующая метилирование ДНК [112]). Дальнейшие исследования в этой области будут проводиться и предоставят представление о том, как эпигенетика может опосредовать связь между генетикой АД, факторами окружающей среды и сердечно-сосудистыми заболеваниями.

#### **§3.1.4. Взаимодействие генов и генов с окружающей средой**

Продолжается много работ по изучению взаимодействий ген-ген и ген-окружающая среда, результаты которых могут продвинуть наше понимание того, почему препараты для лечения АГ эффективны только у некоторых пациентов, и помочь в разработке целевых препаратов, регулирующих взаимодействие генов. Насколько нам известно, взаимодействие генов АГ оценивалось только в нескольких небольших исследованиях [111,113,114]. Например, Мэн и др. обнаружили пять новых взаимодействий (MAN1A1, LMO3, NPAP1/SNRPN, DNAL4 и RNA5SP455/KRT8P5), способствующих гипертензии [115]. Однако это исследование включало только 2203 случая с соответствующим числом контролей из преимущественно европейского происхождения [115]. Выявленные гены требуют дальнейшего исследования, чтобы окончательно доказать связь с модуляцией АД. Есть также несколько других подобных исследований с небольшими наборами данных (менее 1000 случаев гипертензии в исследовании) [111,113,115]. Эти исследования выявили новые взаимодействия между известными генами АД (например, между MTHFR и FGF5 [113]). Эта работа подчеркивает необходимость будущих исследований по изучению ген-ген взаимодействий в разных популяциях для понимания того, как экспрессия генов может регулироваться и влиять на более точное лечение по мере того, как мы получаем лучшее понимание взаимодействия между генами. Существует больше работ по взаимодействию генов и окружающей среды. Цель этого подхода - точно понять, как факторы окружающей среды (например, курение, употребление алкоголя, загрязнение воздуха) взаимодействуют с генотипами, чтобы влиять на уровень АД. Эти взаимодействия могут привести к профилактической медицине для лиц из группы риска в зависимости от модифицируемых факторов окружающей среды. В 2018 году Rao et al. создали Рабочую группу по взаимодействию генов и образа жизни для разработки надежного исследования взаимодействий генов и окружающей среды [116]. Эта рабочая группа разработала дизайн исследования, который позволяет проводить крупномасштабное исследование генов и окружающей среды и состоит из 610 475 человек из 124 когорт [116], что создает основу для будущего исследования. Недавнее исследование Sunga et al. включило взаимодействия генов и курения в свой многоэтапный GWAS, обнаружив 30 локусов, которые были связаны только с лицами африканского происхождения [117]. Восемь из этих локусов имели значительные взаимодействия со статусом курения, например, локус CSMD1, который также был связан с АД у экспериментальных крыс [117]. Однако эти локусы были идентифицированы только на этапе открытия исследования, и из-за небольшого размера выборки африканских лиц репликация оказалась невозможной [117]. Результаты этого анализа и других исследований [118] дополнительно подчеркивают

необходимость будущей работы по включению более крупных размеров выборки неевропейских популяций.

### **§3.1.5. Эпоха GWAS – обнаружение распространенных и редких вариантов**

Полное секвенирование генома человека в 2003 году [17] в сочетании с разработкой чиповых массивов однонуклеотидного полиморфизма (SNP) позволило провести экономически эффективное высокопроизводительное генотипирование выбранных вариантов и обеспечило первые полногеномные ассоциативные исследования (GWAS) [119-124]. SNP — это однонуклеотидные вариации в геноме, которые встречаются в популяции с разной частотой. В GWAS SNP, распределенные по геному, проверяются на их связь с признаками или заболеваниями. GWAS имеют преимущества по сравнению с анализом сцепления и исследованиями генов-кандидатов, поскольку они беспристрастны, допускают большие размеры выборки и позволяют проводить метаанализы, повышающие статистическую мощность [125]. Первые GWAS для гипертензии дали разочаровывающие результаты, и не было обнаружено никаких значимых локусов [119,124]. Год спустя, в 2008 году, первый локус (ATP2B1), значительно связанный с АД, был идентифицирован в GWAS 1484 японцев [126]. Этот результат был воспроизведен в корейской когорте из >8000 человек [127] и в большой европейской когорте из почти 30 000 человек [45]. В последующие годы многие исследователи, использующие GWAS, идентифицировали локусы для количественных признаков систолического, диастолического и пульсового давления [128], что способствовало открытию новых путей АД. Массивы SNP включают лишь небольшую часть вариантов, присутствующих в геноме. Разработка референтных панелей SNP, включая проект 1000 геномов [129] и консорциум HapMap Reference Consortium [130], позволила оценить эффекты, связанных SNP, не представленных в массивах. В тандеме с массивами SNP, создание доступных крупномасштабных биобанков (например, UK Biobank), содержащих не только генетические данные, но и разнообразные фенотипические и связанные со здоровьем данные [131], улучшило статистическую мощность GWAS и позволило обнаружить как распространенные, так и редкие варианты АГ [44,132–134]. Первые GWAS были рассчитаны на обнаружение распространенных вариантов; они имеют относительно небольшие размеры эффекта на АД в диапазоне от 0,5 до 1 мм рт. ст. на аллель. С увеличением доступа к образцам, данным секвенирования исследователи также сосредоточили усилия на выявлении низкочастотных и редких вариантов (частота минорного аллеля < 1%), которые имеют большие размеры эффекта (около 1,5 мм рт. ст. на аллель). В 2011 году был запущен чип Exome [135]; массив преимущественно редких и низкочастотных

вариантов, в основном расположенных в экзонных (кодирующих) регионах. Четыре года спустя трансэтнический метаанализ данных Exome chip с репликацией у европейских и южноазиатских предков выявил первые редкие экзонные варианты, связанные с признаками АД, с размерами эффекта, большими, чем наблюдаемые с распространенными вариантами ( $>1,5$  мм рт. ст. на аллель), сопоставленными с четырьмя генами: RBM47, COL21A1, DBH и RRAS. В том же году дополнительное трансэтническое исследование сообщило о редком варианте гена NPR1, связанном с повышением САД на  $+1,1$  мм рт. ст.; этот ген является лекарственной мишенью для лечения гипертензии, и клинические испытания продолжаются [133]. Тем не менее, общее число локусов, идентифицированных на этом этапе, составило 2,8% генетической наследуемости АД. Только в 2018 году влияние крупномасштабных биобанков было по-настоящему продемонстрировано, с идентификацией более 500 новых локусов в одном исследовании одного миллиона лиц европейского происхождения, что удвоило общую наследуемость с менее чем 3% до ~6% [134]. Совсем недавно, в 2020 году, исследование, включающее 1,3 миллиона человек с использованием данных чипа Exome с репликацией у трансэтнических лиц, выявило еще 106 новых локусов, из которых 87 были редкими вариантами [132]. На сегодняшний день более 1000 локусов были значительно связаны с АД, и прилагаются постоянные усилия для дальнейшего раскрытия генетической архитектуры АД. Однако выяснение причинных SNP остается сложной задачей; большинство из них сопоставлены с некодирующими областями генома, и варианты часто находятся в неравновесном сцеплении (LD) с одним или несколькими другими вариантами, в которых они неслучайно связаны в популяции.

### **GWAS за пределами европейского происхождения**

В то время как проекты генетических открытий, связанных с АД продолжают расширяться в размерах, они сохраняют сильную предвзятость в отношении сосредоточения на лицах европейского происхождения, и, таким образом, существует ограниченное представительство и результаты по другим предковым фонам. Это отчасти связано с недавними исследованиями, включая образцы из Британского биобанка, который в основном является европейским [131], с кумулятивными оценками того, что европейцы вносят 88,45% генотипов в GWAS по всем признакам в 2020 году [136]. Для того чтобы результаты GWAS были эффективными для всех популяций, необходимо устранить этот пробел в данных. Сохранение этой предковой предвзятости в генетике может усугубить различия в состоянии здоровья из-за этнической принадлежности и упустить преимущества новых возможностей для открытий и понимания в инклюзивной системе. У лиц африканского происхождения

самая высокая скорректированная по возрасту распространенность гипертензии [137]. Проблемы ниже по течению уже возникают из-за предковой предвзятости; в частности, использование генетики для стратификации риска кардиомиопатии ошибочно неправильно классифицировало некоторых афроамериканцев из-за их исключения из контрольных когорт [138]. Это демонстрирует важность изучения популяционной специфичности выявленных вариантов. Исследования по предкам увеличиваются либо путем выборки менее изученных популяций, либо путем проведения трансэтнических исследований [41,139]. Эти исследования обнаружили новые и специфичные для предков локусы, хотя они часто ограничены меньшими размерами выборки по сравнению с европейскими исследованиями [140]. Увеличение разнообразной выборки решается путем продолжающегося создания национальных биобанков (H3Africa, BioBank Japan, Korean Biobank, African Genome Variation Project, Qatar Biobank и GenomeAsia 100k), и эти наборы данных все чаще используются в геномных исследованиях [141,142].

#### **Прогнозирование риска и причинно-следственные механизмы**

Поскольку сводная статистика GWAS BP и другие наборы данных становятся общедоступными для исследователей ([ebi.ac.uk/gwas/](http://ebi.ac.uk/gwas/), [genetics.opentargets.org/](http://genetics.opentargets.org/), [phenoscanner.medschl.cam.ac.uk/](http://phenoscanner.medschl.cam.ac.uk/)), были разработаны новые методы интерпретации и перевода этих данных для клинических приложений и биологической интерпретации результатов. Моделирование прогнозирования риска сердечно-сосудистых заболеваний теперь включает генетические биомаркеры. Оценки генетического риска (GRS) могут быть разработаны путем объединения значимых аллелей риска, выявленных с помощью GWAS. В качестве альтернативы можно создать более сложную полигенную оценку риска (PRS) путем объединения более широкого спектра SNP, которые по отдельности могут не достигать общегеномной значимости, но вместе обеспечивают улучшенную оценку риска [143]. Один из последних BP-GRS, разработанный в UK Biobank ( $n = 392\,092$ ), объединяющий 901 SNP, обнаружил разницу в 12,9 мм рт. ст. (САД) и 7,5 мм рт. ст. (ДАД) между самым низким децилем риска и самым высоким децилем риска, а также утроенный риск гипертонии и повышенный риск инсульта, сердечно-сосудистых заболеваний и инфаркта миокарда [134]. Авторы этого исследования указали, что такая оценка риска может быть полезна для ранней идентификации людей, в то время, когда факторы образа жизни могут быть рекомендованы для снижения уровней АД. PRS также использовались для проверки на восприимчивость к различным классам препаратов. Одно из таких недавних исследований оценило связь общегеномной PRS ( $>1$  миллиона SNP) с ответами на антигипертензивные препараты. Это было проведено по четырем

классам антигипертензивных препаратов на основе данных с выборкой  $n \sim 200$  с использованием данных АД до и после 4 недель монотерапии; однако никакой связи установлено не было [144]. Использование оценок риска таким образом является областью исследований, находящейся в зачаточном состоянии, и это отражается в небольших размерах изученных выборок и, следовательно, в более низкой мощности, что может повлиять на полученные до сих пор результаты. Увеличенные размеры выборки были бы важны для учета любой дисперсии измерений АД. Кроме того, исследования в этой области в основном проводятся на лицах европейского происхождения, что потенциально приводит к проблемам эффективности между этническими группами из-за внутренних ограничений PRS [145]. Наряду с разработкой оценок риска, менделевская рандомизация (MR) широко применяется для определения причинно-следственных эффектов с использованием генетических данных для имитации рандомизированного контролируемого исследования [146]. Структура MR использует SNP для преодоления проблем с традиционными наблюдательными исследованиями, такими как смещение из-за факторов, искажающих результаты, и обратная причинно-следственная связь. Поскольку случайный набор аллелей передается потомству независимо от любых других характеристик, однонуклеотидные полиморфизмы в данной популяции должны быть схожи по всем другим характеристикам, устраняя любые потенциальные помехи [146]. С момента своего создания MR регулярно применялась к генетическим данным для выявления причинных факторов риска, оценки действия лекарств и выявления механизмов заболевания. Недавнее исследование MR использовало новый подход для оценки того, повлияет ли повторное использование антигипертензивных препаратов на риск болезни Альцгеймера [147]. Исследование проводилось с использованием однонуклеотидных полиморфизмов в генах, связанных с 12 классами антигипертензивных препаратов. Выбор SNP был основан на данных с [www.drugbank.ca/](http://www.drugbank.ca/) и [www.gtexportal.org/](http://www.gtexportal.org/), и они были проверены в когорте UK Biobank SBP GWAS ( $n = 317\ 754$ ), а эффект был оценен в GWAS болезни Альцгеймера ( $n = 17\ 008/37\ 154$  случай/контроль). Результаты показали, что снижение САД с помощью выбранных целевых антигипертензивных препаратов вряд ли повлияет на риск развития болезни Альцгеймера. Эта работа представляет собой схему оценки применения антигипертензивных препаратов без проведения полного рандомизированного контролируемого исследования [147]. В другом примере Richardson et al. использовали принципы MR для изучения ассоциации транскриптома в 48 типах тканей со сложными признаками для идентификации локусов генов-кандидатов [148]. Их анализ, примененный к данным BP, выявил возможные причинно-следственные связи, например, один SNP (rs1706003), который мог быть упущен из виду при использовании только данных GWAS, указал на ген-

кандидат ATR13A3 [148]. Эти методы служат напоминанием о том, что существует множество подходов, которые постоянно развиваются с многочисленными приложениями для использования и интерпретации результатов генетических исследований. Определение генов-кандидатов и механизмов в локусах, ответственных за уровень АД является ключевым для перевода на лекарственно-активируемые цели. До появления GWAS гены и механизмы АГ в основном были обнаружены с использованием моделей крыс или мышей. Теперь GWAS занимает центральное место, и объединение их результатов с экспериментальными моделями обеспечивает дополнительную поддержку для разработки лекарств, как показано на NPR1. Как упоминалось ранее, GWAS не предоставляют причинный вариант или ген. Функциональные исследования с использованием мышинных моделей остаются ключевым экспериментальным инструментом, как только ген идентифицирован как имеющий сильную поддержку с помощью биоинформатического анализа. Недавний пример последующего наблюдения за локусами GWAS демонстрируется с идентификацией ARHGAP42 (Rho GTPase Activating Protein 42) как результат SNPrs633185, сообщенного как ведущий вариант в этом локусе в GWAS [149]. Генетически модифицированные мыши использовались для установления того, что дефицит ARHGAP42 приводит к гипертензии через повышенный ответ на ангиотензин II и эндотелин-1 [150]. Эти модели продолжают применяться для оценки того, может ли этот ген-кандидат быть допустимой мишенью для лекарств в будущем [151]. Тем не менее, функциональная проверка представляет собой серьезную проблему из-за большого количества SNP, связанных с АД. Гены-кандидаты из GWAS могут быть оценены с использованием систем «in vitro», включая такие методы, как CRISPR, которые могут быть использованы для редактирования генов вариантов BP и последующего тестирования в клеточных моделях. В качестве альтернативы механизмы для «генов-кандидатов» GWAS могут сходиться с другими работами, изучающими известные механизмы обуславливающие уровень АД. Например, вариант rs880315, расположенный в интроне CASZ1 (Castor Zinc Finger 1), связан с гипертензией в GWAS и реплицируется в разных популяциях и родословных [121,152,153]. Недавнее исследование установило, что CASZ1b (короткая форма CASZ1) локализуется совместно с минералокортикоидным рецептором в почках и является частью альдостерон-зависимого прессорного комплекса, подавляющего ENaCa и SGK1, которые связаны с повышением АД путем стимулирования реабсорбции натрия [154]. Механизмы для «генов-кандидатов» GWAS могут сходиться с другими работами, изучающими известные механизмы АД.

### **§3.1.6. Генетика стимулирует открытие лекарств**

Разработка новых лекарственных средств для лечения ГБ является ключевым фактором исследований генетики. Увеличение нашего арсенала методов лечения, которые эффективно снижают АД с минимальными побочными эффектами и уменьшают сердечно-сосудистые заболевания, связанные с гипертензией, важно для персонализированной медицины. Это особенно необходимо для гипертензией, поскольку существует большая доля людей, которые не реагируют на современные методы лечения. Эванджелло и др. сообщили о пяти локусах (PKD2L1, SLC12A2, CACNA1C, CACNB4 и CA7), содержащих гены, которые являются лекарственными мишенями для нескольких известных классов антигипертензивных препаратов [134]. Эти гены убедительно подтверждают генетический подход к определению потенциальных лекарственных мишеней. Поскольку в настоящее время идентифицировано более 1000 локусов, связанных с АГ, и генетические данные собираются каждый год, список возможных генов-мишеней для лекарственных препаратов постоянно расширяется. Например, в 2020 году Surendan et al., сообщили о 23 генах как потенциально поддающихся лечению [132]. Однако только 12 из потенциально поддающихся лечению генов, идентифицированных Evandzhelo et al., находятся в центре внимания клинических испытаний для лечения АГ, включая ген EDNRA. EDNRA кодирует эндотелиновый рецептор А, который играет роль в эндотелиновом пути, установленном механизме контроля ВР. Однако EDNRA можно рассматривать как мишень для лекарств, это упоминается с осторожностью, поскольку в настоящее время антагонисты эндотелиновых рецепторов, которые используются клинически для лечения легочной гипертензии, столкнулись с препятствиями при достижении клинического применения для ГБ [155]. Существуют также поддающиеся лечению гены, изначально не идентифицированные с помощью GWAS, но из других генетических исследований, которые находятся в разработке, включая ген MTHFR. Ведется работа по подтверждению механизма, посредством которого MTHFR потенциально влияет на уровень АД. Есть надежда, что некоторые из этих открытий будут преобразованы в новые терапевтические средства. Наряду с выявлением новых терапевтических целей генетика также дает представление о возможностях повторного использования лекарств. Evandzhelo et al., Giri et al., составили списки потенциальных взаимодействий генов и лекарственных препаратов и определили гены с лекарственными мишенями с потенциалом репозиционирования для АД (например, MARK3, PDGFC, TRHR, ADORA1, GABRA2, VEGFA, PDE3A и SLC5A1, отмеченные Evandzhelo et al., и PDE3A, PSMB9 и SH2B3, отмеченные Giri et al.) [44,134]. Одним из самых сильных претендентов был SLC5A1, мишень канаглифлозина. Канаглифлозин является ингибитором SGLT2 и изначально использовался как терапевтическое средство для диабета 2 типа. С тех пор он был лицензирован для лечения

сердечной недостаточности. Канаглифлозин снижает реабсорбцию глюкозы, но также снижает АД у пациентов с диабетом, что указывает на потенциал в качестве антигипертензивного терапевтического средства [134]. Анализ обогащения путей — это пост-GWAS-тест, который может предоставить идеи и выделить системы органов и сигнальные пути, которые могут быть терапевтически направлены. В частности, из GWAS BP наблюдается обогащение генов в артериях, а также указываются сигнальные пути TGF- $\beta$  и Notch [44,132]. Однако отсутствие обогащения в других тканях, включая почки, которые активно участвуют в регуляции АД, подчеркивает оговорки в анализе обогащения тканей (отмечая, что в общедоступных наборах данных имеется ограниченное количество образцов почек) [44]. Тем не менее, анализы путей успешно выявили гены, связанные с АД и сердечно-сосудистыми заболеваниями, включая RNAS3L1, что свидетельствует о возможном взаимодействии между механизмами заболевания [44].

## **Заключение**

Риск развития АГ определяется как генетическими вариациями, так и факторами окружающей среды. Было идентифицировано сотни общих генетических вариантов, каждый из которых оказывает небольшое влияние на риск, и вместе они указывают на тысячи генов, которые потенциально могут иметь причинное значение. В совокупности эти общие варианты объясняют около 6% общего генетического вклада в риск, и при совместном рассмотрении они могут использоваться для создания прогностического риска, который является слабым предиктором.

Напротив, исследования редких вариантов выявляют лишь несколько генов, некоторые из которых играют очевидную физиологическую роль в регуляции АД. Однако такие варианты остаются крайне редкими и, в совокупности, объясняют лишь небольшую часть генетического риска. Предположительно, оставшийся генетический риск можно объяснить, по крайней мере частично, большим числом редких вариантов, не имеющих очевидных предсказуемых эффектов, встречающихся как в кодирующих, так и в некодирующих регионах. Сравнивая АГ с онкологическими заболеваниями, можно увидеть разницу в потенциальной ценности генетического тестирования для выбора лечения. Например, при раке молочной железы существуют достаточно распространённые генетические подтипы, и есть специфические вмешательства, которые эффективны для одного подтипа, но не для другого. В случае АГ чётко выраженные подтипы отсутствуют, и можно разумно использовать метод проб и ошибок для оценки переносимости и эффективности лечения, регулируя дозировку на основе измеренного давления. Таким образом, ни редкие, ни распространённые генетические варианты вряд ли дадут дополнительную клиническую ценность.

В заключение, в отношении АГ генетические исследования подтверждают известные физиологические механизмы, но не имеют явной полезности ни для оценки риска, ни для выбора лечения. Генетические исследования АГ углубляют наши знания о влиянии генетической вариации на риск, но трудно утверждать, что они оказали или могут оказать значительное клиническое влияние. Учитывая тот факт, что АГ включает в себя множество фенотипов, которые, вероятно, вызваны как распространенными, так и редкими вариантами полиморфизмов генов. В то время как распространенные варианты генетических полиморфизмов могут быть идентифицированы с помощью GWAS, редкие варианты могут и не быть идентифицированы. Поэтому настоятельно необходимо усовершенствовать этот метод для выявления новых генетических вариантов и понимания связи между ними и ответом на прием антигипертензивных препаратов. Кроме того, хотя трудно перевести результаты фармакогеномики генотипов АГ в клиническую практику, это, вероятно, будет очень важным шагом в лечении этой патологии, поскольку это может улучшить реакцию АД на прием антигипертензивных препаратов и исходы сердечно-сосудистых заболеваний, так как назначение лечения с учетом генетического профиля больного позволит повысить эффективность и переносимость проводимой терапии.

### **§3.1.7. Результаты собственных исследований лаборатории артериальной гипертензии и молекулярно-генетических исследований РСНПМЦК**

В последующем—нашей лаборатории также был проведен ряд исследований, посвященных дальнейшему—изучению молекулярно-генетических основ АГ. В частности, в работе Абдуллаевой Г.Ж. были освящены клинико-генетические особенности солечувствительной АГ с учетом генов, регулирующих водно-солевой обмен [156]. Распространенность генотипов и аллелей генов, участвующих в ретенции воды и соли характеризовалась достоверным накоплением GG-, GT- генотипов и G-аллеля гена ADD-1, AA-генотипа и A-аллеля гена SACNA1c, T-аллеля гена EDNRA как у больных АГ, так и у здоровых лиц узбекской национальности. На основании генетических моделей наследования выявлено, что G аллель G6986A полиморфного маркера гена CYP3A5 является фактором предрасположенности к АГ у лиц узбекской национальности (частоты G и A аллелей 81% и 19% соответственно), а также найдена тенденция к ассоциативной связи T-аллеля C-344T полиморфного маркера гена CYP11B2 с АГ (частоты T и C аллелей 61,3% и 38,7%). Носительство T-аллеля C-344T полиморфного маркера гена CYP11B2 и носительство A-аллеля 52797G>A полиморфного маркера гена SACNA1 ассоциировалось с солечувствительной АГ. В группе солерезистентной АГ выявлено достоверно большее накопление G-аллеля G460T полиморфного маркера гена ADD-1, чем среди больных солечувствительной АГ. Указанные генетические полиморфизмы определены как генетические маркеры, ассоциирующиеся с солечувствительностью.

Носительство ТТ-генотипа и Т аллеля С-344Т полиморфного маркера гена CYP11B2 неблагоприятно в отношении развития ГЛЖ и ДДЛЖ у больных АГ.

В работе Атаниязова Х.Х. были освещены клинико-генетические аспекты осложненной гипертонической болезни у жителей Приаралья [157]. Изучение частоты распределения полиморфных маркеров генов-кандидатов АГ показало достоверное превалирование G аллеля G460T полиморфного маркера гена ADD1 как среди больных со злокачественным течением АГ, так и среди здоровых лиц, а также преобладание С аллеля С825Т полиморфизма гена GNB3 среди больных со злокачественным течением АГ и здоровых лиц. Полученные результаты указывают на достоверно большее накопление С-аллеля С521Т полиморфизма гена AGT среди здоровых лиц в сравнении с больными с осложненным течением АГ. Также показано достоверно большее накопление СС-генотипа и С-аллеля Т704С полиморфизма гена AGT среди здоровых лиц в сравнении с больными с осложненным течением АГ. Анализ с применением методик генетических моделей наследования не показал достоверных различий в распространенности изученных генотипов и аллелей G460T полиморфного маркера гена ADD1 и С825Т полиморфизма гена GNB3 во взаимосвязи со злокачественной АГ в популяции Приаралья. Тогда как на основании генетических моделей наследования выявлена положительная ассоциация С аллеля и СС генотипа С521Т полиморфизма гена AGT со злокачественным течением АГ у лиц Приаралья, иначе говоря, С аллель и СС генотип С521Т полиморфизма гена AGT являются факторами предрасположенности к злокачественному течению АГ у лиц Приаралья. При этом СТ генотип оказывает протективный эффект. На основании генетических моделей наследования выявлено достоверное превалирование С аллеля и СС генотипа Т704С полиморфизма гена AGT у здоровых лиц Приаралья, иначе говоря, С аллель и СС генотип Т704С полиморфизма гена AGT являются протективными в отношении злокачественной АГ у лиц Приаралья.

Машарипов Ш.М. и соавт. изучали молекулярно-генетические аспекты резистентной АГ. Полученные ими результаты указывали на ассоциацию С аллеля и СС генотипа Т704С полиморфизма гена AGT с резистентной АГ, а носительство G аллеля и GG генотипа G894T полиморфизма гена NOS3 было ассоциировано с низким риском развития резистентной АГ в узбекской популяции [158].

### **§3.2. Генетические аспекты ишемической болезни сердца: современное состояние исследований с участием Алиевой Р.Б.**

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – это хроническое заболевание, связанное с недостаточным кровоснабжением миокарда, вызванным нарушением проходимости коронарных артерий. В последние десятилетия генетические исследования открыли новые горизонты в понимании патогенеза ИБС, подчеркнув важную роль наследственных факторов в развитии заболевания.

### §3.2.1. Общие генетические принципы ИБС

ИБС является мультифакторным заболеванием, где генетические факторы взаимодействуют с окружающей средой, включая образ жизни, диету и вредные привычки. Исследования подтверждают, что наследуемость ИБС составляет от 40 до 60%.

Основные подходы в изучении генетики ИБС:

- Кандидатные гены. Эти исследования направлены на анализ отдельных генов, предположительно связанных с заболеванием.
- Полногеномные ассоциативные исследования (GWAS). Позволяют идентифицировать новые локусы, ассоциированные с риском ИБС.
- Эпигенетика. Изучает влияние мутационных изменений на экспрессию генов, что важно в контексте ИБС.

#### **Гены-кандидаты, ассоциированные с ИБС**

Гены, участвующие в липидном обмене:

*АРОЕ (аполипопротеин Е): Аллель ε4 связан с повышенным уровнем холестерина ЛПНП и увеличенным риском атеросклероза.*

Ген АРОЕ (аполипопротеин Е) играет ключевую роль в липидном обмене и развитии сердечно-сосудистых заболеваний, включая ИБС. Он кодирует белок, участвующий в транспорте липидов и регуляции их уровня в крови. В последние годы многочисленные исследования показали, что полиморфизмы гена АРОЕ оказывают значительное влияние на риск развития ИБС. Ген АРОЕ расположен на хромосоме 19 (19q13.32) и состоит из четырех экзонов. Продукт гена, аполипопротеин Е, участвует в транспорте липопротеинов (ЛПНП, ЛПВП и хиломикронов), регуляция уровня холестерина и триглицеридов, взаимодействие с липопротеиновыми рецепторами, включая рецептор ЛПНП, LPL (липопротеиновая липаза): полиморфизмы этого гена влияют на уровень триглицеридов и липопротеинов в крови.

Ген АРОЕ имеет три основные аллели:

1. ε2 (Cys112, Cys158) – ассоциируется с пониженным уровнем ЛПНП, снижая риск ИБС.
2. ε3 (Cys112, Arg158) – наиболее распространённый вариант, считается нейтральным.
3. ε4 (Arg112, Arg158) – повышает уровень холестерина ЛПНП и ассоциируется с увеличенным риском ИБС.

Аллель ε4 приводит к снижению взаимодействия аполипопротеина Е с липопротеиновыми рецепторами, что увеличивает накопление холестерина и способствует атеросклерозу. Систематический обзор Lu et al. [159] показал, что аллель ε4 повышает риск ИБС на 40–50%, особенно в европейской популяции. А в исследовании Singh et al. [160] в Южной Азии была выявлена сильная ассоциация ε4 с ранним развитием ИБС.

*PCSK9:* Ген кодирует фермент, который регулирует уровень холестерина ЛПНП. Протеин-конвертаза субтилизин-кексин типа 9 (PCSK9) играет ключевую роль в регуляции уровней холестерина липопротеинов низкой

плотности (ХС ЛПНП) в силу её способности влиять на ХС ЛПНП-рецепторы. Роль PCSK9 заключается в том, чтобы направлять рецептор ЛПНП на лизосомную деградацию, тем самым уменьшая количество рецепторов на поверхности клетки. Мутации PCSK9 приводят либо к уменьшению (например, к усилению функциональных мутаций), либо к увеличению (т.е. потере функциональных мутаций) уровней ХС ЛПНП рецепторов [161,162]. В случае усиления функциональных вариантов, это приводит к увеличению концентрации ЛПНП в плазме и повышению восприимчивости к сердечно-сосудистым заболеваниям. Напротив, при потере функциональных вариантов существенно снижаются уровни ХС ЛПНП и соответственно, сердечно-сосудистых заболеваний. Учитывая, что статины также увеличивают экспрессию PCSK9, что является контрпродуктивным по отношению к их влиянию на регуляцию ХС ЛПНП-рецептора, в США и на Западе рассматривается стратегия добавления к статинам ингибитора PCSK9, для повышения эффективности снижения уровня ХС ЛПНП.

Генетические полиморфизмы PCSK9 оказывают значительное влияние на колебания его концентрации в плазме крови и, соответственно этому, делятся на ослабляющие («loss-of-function») и усиливающие («gain-of-function») его функцию в крови. При этом, в большинстве исследований, именно генетические полиморфизмы loss-of-function (LOF), связанные со снижением уровня PCSK9, в частности, R46L (rs11591147) признаются ведущими регуляторами его действия [163,164]. Варианты LOF генетических полиморфизмов PCSK9 (Y142X и C679X) уменьшают синтез или секрецию PCSK9 в культурах клеток, что связано с заметно более низкой концентрацией в плазме крови PCSK9 [165].

Таким образом, уровни циркулирующего PCSK9 действительно отражают скорость синтеза белка. Третий вариант генетического PCSK9, связанный с более низким уровнем ЛПНП в плазме в общей популяции, R46L, был связан с уменьшением количества PCSK9 синтезируемого или секретируемого в культурах клеток [165].

В раннем исследовании Cohen et al [166], также основанном на выборке пациентов из пациентов из Далласа, было показано, что афро-американцы, которые были гетерозиготны по LOF-мутациям PCSK9 (PCSK9: Y142X или PCSK9: C679X) (n=31), имели в среднем 40%-ное снижение уровня ЛПНП-С в плазме [166]. Величина медианных значений PCSK9 была у них значительно ниже (194 нг/мл), чем у тех, у кого не было нулевого аллеля (484 нг/мл). Снижение уровня PCSK9 оставалось значительным также после корректировки на возраст, пол и ХС ЛПНП ( $P < 0,0001$ ).

В отличие от них, Евро-американцы, гетерозиготные по PCSK9: R46L, имевшие миссенс-мутации в продомене PCSK9, имели в среднем снижение уровня ХС ЛПНП на 21% в этом исследовании [167]. Эта вариация последовательности также была связана со значительно более низкой медианной концентрацией PCSK9 в плазме крови (319 против 490 нг/мл) в моделях, ориентированных на возраст и пол ( $P < 0,0004$ ), а также исходно более низкий уровень PCSK9 ( $P < 0,004$ ).

В отличие от изучения LOF-аллелей Chen et al. [168] исследовали генетические полиморфизмы, повышающие функцию PCSK9 (GOF) у пациентов, участвовавших в исследовании эффективности флувастатина – LCAS. Они обнаружили, что носительство G-аллели генотипа 23968A>G (E670G), ассоциировалось с увеличением ХС ЛПНП и коронарным атеросклерозом. Они подтвердили своё наблюдение, в исследовании TexGen, (средний уровень ХС ЛПНП 108 мг/дл) по сравнению с исследованием LCAS, где частота аллеля G была ниже (0,043 против 0,074;  $\chi^2=5,5$ ; P=0,019) и GG-генотип отсутствовал.

**Гены, участвующие в регуляции сосудистого тонуса:**

- NOS3 (синтаза оксида азота): Полиморфизм Glu298Asp ассоциируется с нарушением синтеза оксида азота, что приводит к эндотелиальной дисфункции.
- AGT (ангиотензиноген): Ген участвует в регуляции артериального давления, а его вариации связаны с повышенным риском гипертензии и ИБС.

**Гены воспаления:**

- IL6 (интерлейкин-6): Повышенная активность этого провоспалительного цитокина ускоряет процесс атеросклероза.
- TNFA (фактор некроза опухоли альфа): Полиморфизмы в этом гене усиливают воспалительный ответ и повышают риск сосудистых поражений.

**Результаты GWAS в изучении ИБС**

Полногеномные ассоциативные исследования выявили более 150 локусов, связанных с ИБС. Наиболее изученные из них:

- *9p21*: Локус на хромосоме 9, впервые выявленный в 2007 году, является наиболее устойчиво ассоциированным с риском ИБС. Однако его функциональная роль до сих пор остается предметом исследований.
- *SORT1*: Ассоциирован с регуляцией липопротеинов низкой плотности, что влияет на развитие атеросклероза.
- *HNF1A*: Ген регулирует метаболизм липидов и уровень липопротеинов в крови.

**Основные выводы GWAS:**

1. Многофакторный характер ИБС: большинство ассоциированных локусов имеют умеренное влияние на риск заболевания.
2. Взаимодействие генетических факторов: полиморфизмы в различных генах могут иметь кумулятивный эффект на предрасположенность к ИБС.
3. Открытие новых терапевтических мишеней: GWAS позволяет идентифицировать гены, которые могут быть использованы для разработки новых лекарств.
4. Эпигенетические механизмы в патогенезе ИБС

Эпигенетические изменения, такие как метилирование ДНК, модификации гистонов и регуляция с помощью микроРНК (miRNA), играют важную роль в развитии ИБС.

- Метилирование ДНК: Изменения в метилировании генов, таких как IL6 и TNFA, могут усиливать воспаление и способствовать атеросклерозу.

- МикроРНК: miR-33, miR-21, miR-92a регулируют экспрессию генов, связанных с липидным обменом, воспалением и пролиферацией клеток.

#### **Молекулярные механизмы патогенеза ИБС**

Липидный обмен: Генетические мутации в APOA5, LDLR и PCSK9 влияют на метаболизм липидов, что является ключевым фактором в развитии атеросклероза.

Воспаление: Повышенная активность провоспалительных генов, таких как IL6, TNFA, и MCP1, усиливает процесс атерогенеза и ускоряет формирование атеросклеротических бляшек.

Окислительный стресс: Полиморфизмы в гене SOD2 (супероксиддисмутаза) снижают способность организма к нейтрализации свободных радикалов, что повреждает сосудистую стенку.

Генетические исследования значительно продвинули понимание патогенеза ИБС, выделив ключевые молекулярные пути и потенциальные терапевтические мишени. Однако остаются нерешенные вопросы, такие как функциональное значение некоторых GWAS-локусов, взаимодействие генетических и средовых факторов, а также роль эпигенетики.

Для дальнейшего прогресса в этой области необходимы интегративные исследования, сочетающие генетику, эпигенетику и молекулярную биологию, что позволит приблизить медицинскую практику к персонализированному подходу в диагностике и лечении ИБС.

### **§3.2.2. Гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия (ГеСГ)**

Гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия (ГеСГ) – генетически обусловленное заболевание, характеризующееся повышенным уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), значительно повышенным риском раннего развития атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и 50% вероятностью наследования среди потомства. Недавние эпидемиологические и генетические исследования поддерживают распространенность ГеСГ  $\approx 1$  на 200 населения в общей популяции; так, «для населения США, на 300 миллионов населения не менее 1,5 миллиона американцев могут иметь ГеСГ»<sup>1</sup>. Клиническое значение этого самого широко распространенного наследственного заболевания в том, что «ИБС развивается в раннем возрасте, после 30 лет у мужчин и после 40 лет у женщин»<sup>2</sup>, ежегодно до 20% всех больных, страдающих инфарктом миокарда составляют пациенты, с недиагностированной вовремя ГеСГ.

Для диагностики ГеСГ используются Голландские диагностические критерии для постановки диагноза (DLCN, табл. 1.) которые рекомендуются Европейским обществом Атеросклероза [169].

**Табл. 1. Диагностический алгоритм СГХС Датских Липидных Клиник (Dutch Lipid Clinic Network Criteria, DLCNC)**

Семейный анамнез	
А. Родственник 1-й степени родства с ранней (мужчины < 55 лет, женщины < 60 лет) ИБС или другим сосудистым заболеванием или родственник 1-й степени родства с ХС ЛНП > 95-й перцентили	1
Б. Родственник 1-й степени родства с ксантомами сухожилий и/или липоидной дугой роговицы или дети до 18 лет с ХС ЛНП > 95-й перцентили	2
История заболевания	
А. У пациента ранняя (мужчины < 55 лет, женщины < 60 лет) ИБС	2
Б. У пациента раннее (мужчины < 55 лет, женщины < 60 лет) развитие атеросклеротического поражения церебральных/периферических сосудов	1
Физикальное обследование	
А. Ксантомы сухожилий	6
Б. Липоидная дуга роговицы в возрасте до 45 лет	4
Лабораторный анализ	
А. ХС ЛНП > 8,5 ммоль/л (> 330 мг/дл)	8
Б. ХС ЛНП 6,5 – 8,5 ммоль/л (250 – 330 мг/дл)	5
В. ХС ЛНП 5 – 6,4 ммоль/л (190-250 мг/дл)	3
Г. ХС ЛНП 4 – 4,9 ммоль/л (150-190 мг/дл) (ХС ЛНП и ТГ – в норме)	1
Анализ ДНК	
А. Имеется функциональная мутация гена ЛНП-Р	8
Диагноз СГХС	
Определенный	>8 баллов
Вероятный	6 – 8 баллов
Возможный	3 – 5 баллов

В 2014г. опубликованы новые рекомендации Европейского общества кардиологов (ESC) и Европейского общества по атеросклерозу (EAS) по диагностике и лечению гомозиготной СГ (ГоСГ), в соответствии с которыми критериями диагностики ГоСГ являются следующие: генетическое повреждение мутаций двух аллелей локусов генов LDLR, APOB, PCSK9, LDLRAP1 или уровень ХСЛНП>13ммоль/л без медикаментозной терапии или >8ммоль/л на фоне гиполипидемической терапии в сочетании с:

- кожными или сухожильными ксантомами у детей в возрасте до 10 лет или

- нелечеными повышенными уровнями ХСЛПНП, что сочетается с гетерозиготной СГХС у обоих родителей.

Указанные уровни ХС-ЛПНП являются лишь ориентировочными, более низкие значения этого показателя, особенно у детей или пациентов, получавших лечение, не исключают гомозиготную СГХС. В европейском руководстве отмечено, что гомозиготная СГХС характеризуется ускоренным развитием атеросклероза, как правило, с локализацией в корне аорты и других сосудистых бассейнах. Первые сердечно-сосудистые события у пациентов с гомозиготной СГХС встречаются в подростковом возрасте, но возможны и в детском (у LDLR-отрицательных больных или не получающих лечения). Поскольку заболевания аорты и её надклапанных структур могут прогрессировать даже при снижении уровня ХСЛПНП, рекомендован регулярный скрининг субклинических поражений аорты, сонных и коронарных артерий. Из изложенного выше следует, что СГХС, является распространенным, аутосомно-доминантно наследуемым заболеванием человека, которое развивается вследствие мутации гена, ответственного за синтез мембранных рецепторов к ЛПНП, удаляющих ЛПНП из плазмы крови. В связи с мутацией данного гена с рождения значительно повышается уровень ХСЛПНП в крови. СГХС способствует ускоренному развитию ССЗ атеросклеротической природы, особенно ИБС, высокому уровню событий в популяции таких больных.

Для ранней диагностики гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии (ГеСГ) скринингу должны подвергаться члены семьи пациента с ГеСГ, взрослые больные с уровнем ХС  $\geq 8$  ммоль/л или >95-го перцентиля по возрасту и полу, дети с уровнем ХС  $\geq 6$  ммоль/л или >95-го перцентиля по возрасту и полу, пациенты с ранним развитием ИБС, сухожильными ксантомами, отягощенным семейным анамнезом (Рис. 1). Так как развитие сердечно-сосудистых заболеваний и осложнений у больных СГХС зависит от степени и продолжительности воздействия повышенного уровня ХС ЛПНП, раннее начало терапии является жизненно необходимым.

Однако, несмотря на очевидность того, что быстрое обнаружение и лечение СГХС снижает риск преждевременной ишемической болезни сердца (ИБС) и смерти [170], большинство пациентов с СГХС во всем мире остаются нераспознанными [169], и из тех, кому поставлен диагноз, большинство не получают лечения [170].



Рис 1. Сигны СГХС. Фото из личного архива лаборатории ИБС и Атеросклероза Сигны: а) ксантомы, б) ксантелазмы, в)-липидная дуга роговицы

В мире проводится ряд научно-исследовательских работ по раннему выявлению больных с высоким риском ССЗ, оптимизации профилактики и лечения ишемической болезни сердца, нарушений мозгового кровообращения. Большую актуальность приобретает оптимизация методов ранней диагностики ГсСГ при помощи ее генетической верификации, что будет в конечном итоге способствовать снижению заболеваемости, инвалидности и показателей смертности. В связи с этим, важной проблемой, стоящей перед специалистами этой области является индивидуализация и оптимизация патогенетического лечения ССЗ, основанного на оценке полиморфизма E670G гена PCSK9, а также уровня PCSK9.

### §3.2.3. Результаты собственных исследований лаборатории ишемической болезни сердца и атеросклероза РСНПМЦК

В лаборатории ишемической болезни сердца и атеросклероза РСНПМЦК было проведено исследование, целью которого явилось оптимизировать методы ранней диагностики и лечения гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии у больных ишемической болезнью сердца с учетом уровня проконвертин субтилизин-кексиновой конвертазы 9 типа, её генетического полиморфизма E670G и структурно-функциональных изменений брахиоцефальных артерий. Было обследовано 201 пациент со стабильной хронической ишемической болезнью сердца (ХИБС), обратившихся за консультацией в Республиканский специализированный

научно-практический медицинский центр кардиологии. **Были получены следующие результаты:** с учетом того, что поздняя диагностика Гетерозиготной семейной гиперхолестеринемии в узбекской популяции приводит к раннему развитию ИБС и её осложнений - инфаркта, инсульта, чрескожных коронарных вмешательств, оптимизирована тактика ее диагностики с рекомендацией расширения проведения липидных исследований в амбулаторном звене, в первую очередь у молодых лиц с наследственным анамнезом ИБС, с использованием Голландских диагностических критериев, учитывая, что не всегда возможна оценка уровня PCSK-9 в крови, E670G полиморфизма гена PCSK9, определение толщины комплекса интимы-медиа (более 1,1 мм) и упруго-эластических свойств (эластический модуль Петерсона свыше > 460 кра) в соотношении с возрастом (<50 лет) способствует подтверждению диагноза. Научная значимость результатов исследования заключалась в том, что на основании собственных результатов – иммуноферментного исследования и генотипирования больных ГеСГ узбекской популяции установлена её связь с повышением уровня PCSK9 в крови и носительством аллеля G, что приводит к повышению риска инфаркта миокарда и инсульта, преждевременному старению сосудов, вследствие снижения их упруго-эластических свойств.

Также, была проведена оценка распределения полиморфизма гена E670G у больных гетерозиготной семейной и несемейной гиперхолестеринемией, его связь с клиническим течением заболевания, уровнем липидов, маркеров воспаления и проконвертин субтилизин-кексиновой конвертазы 9 типа в крови.

При сравнении частоты генотипов и аллелей полиморфизма E670G (rs505151) гена PCSK9 у пациентов с ГеСГ, не ГеСГ и здоровых лиц, количество аллелей G было в 2 раза выше в I группе (13,11.4%), чем во II (17,6.0%) и в 3 раза (1, 3.0%), чем у здоровых (контрольная группа), однако так как G-аллель, представитель «gain» (усиливающей) мутации, встречается редко, но оказывает усиливающее на концентрацию PCSK9 действие, представляло интерес сравнить исходные клинико-гемодинамические параметры у пациентов в зависимости от носительства генотипа AA и комбинированного носительства генотипов AG и GG. Анализ полученных результатов свидетельствовал, что у больных ГеСГ (I группа), среди носителей G-аллеля, преобладал мужской пол – 64%. При этом G-носительство сопровождалось более высокой частотой инфаркта миокарда ( $P < 0.05$ ) и инсульта ( $P < 0.05$ ), аорто-коронарного шунтирования в анамнезе ( $P < 0.001$ ), что свидетельствовало о мультифокальном атеросклерозе.

Между AA- и G-носителями внутри групп пациентов с ГеСГ ( $n=57$ ) и не ГеСГ ( $n=144$ ) не было достоверных различий в уровне липидных параметров, вчСРБ, PCSK-9. Однако, в I группе среди G-носителей уровень глюкозы в крови был несколько выше ( $6.8 \pm 4.6$  против  $4.9 \pm 2.2$ ,  $P < 0,05$ ), а средний уровень PCSK9 – ( $972.3$  против  $718.7$ ) был недостоверно выше, чем среди носителей AA-генотипа. Этим, а также возможными другими эффектами повышения уровня PCSK-9 может объясняться несколько более высокая

частота сердечно-сосудистых осложнений в анамнезе среди носителей аллеля G. Корреляционный анализ полученных результатов у больных ХИБС с GeCG подтверждает наличие умеренной достоверной корреляционной связи носительства аллеля G с наличием инфаркта миокарда в анамнезе ( $r=0,27$ ,  $P<0,05$ ), сахарного диабета ( $r=0,43$ ,  $P<0,05$ ), уровнем глюкозы в крови ( $r=0,30$ ,  $P<0,05$ ). Также следует отметить наличие недостоверной корреляционной связи с мужским полом и уровнем PCSK-9 в крови. У больных ХИБС без GeCG также отмечена умеренная положительная корреляционная связь с сахарным диабетом ( $r=0,17$ ,  $P<0,05$ ), и уровнем PCSK-9 в крови ( $r=0,17$ ,  $P<0,05$ ). При сравнении частоты генотипов и аллелей полиморфизма E670G гена PCSK9 у пациентов, количество аллелей G было в 2 раза выше у больных с GeCG (13, 11.4%), чем без GeCG (17, 6.0%) и в 3 раза (1, 3.0%), чем у здоровых лиц, хотя различия носили недостоверный характер. При этом G-носительство сопровождалось более высокой частотой инфаркта миокарда ( $P <0.05$ ) и инсульта ( $P <0.05$ ), аорто-коронарного шунтирования в анамнезе ( $P <0.001$ ), что свидетельствует о мультифокальном атеросклерозе, а также ассоциировалось с более высокой частотой сахарного диабета по сравнению с AA-генотипом (82.0% против 19,6%,  $P <0.001$ ), хотя у больных без GeCG (56.0% против 30.5%) это различие было статистически недостоверным.

Генетические исследования значительно продвинули понимание патогенеза ИБС, выделив ключевые молекулярные пути и потенциальные терапевтические мишени. Однако остаются нерешенные вопросы, такие как функциональное значение некоторых GWAS-локусов, взаимодействие генетических и средовых факторов, а также роль эпигенетики. Для дальнейшего прогресса в этой области необходимы интегративные исследования, сочетающие генетику, эпигенетику и молекулярную биологию, что позволит приблизить медицинскую практику к персонализированному подходу в диагностике и лечении ИБС.

### **§3.3. Генетические аспекты кардиомиопатий**

#### **§3.3. 1. Современное состояние исследований**

*с участием Курбанова Н.А.*

Кардиомиопатии определяются Рабочей группой Европейского общества кардиологов (ESC) по миокардиальным и перикардиальным заболеваниям как нарушения миокарда, при которых сердечная мышца структурно и функционально аномальна при отсутствии достаточных причинных факторов, таких как ишемическая болезнь сердца, гипертония, заболевания клапанов сердца или врожденные пороки сердца, способные объяснить наблюдаемые аномалии миокарда [171]. Другими словами,

кардиомиопатия – это заболевание самой сердечной мышцы, но наличие “достаточного” структурного повреждения имеет решающее значение. Например, выявление легкой стенокардии не исключает диагноз дилатационной кардиомиопатии (ДКМП), и, аналогично, легкая гипертония не обязательно исключает диагноз гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП). Напротив, пациенты с генетической предрасположенностью к кардиомиопатии могут более легко продемонстрировать проявления сердечных заболеваний, вызванных факторами окружающей среды, такими как гипертония, прием медикаментов или интоксикация, чрезмерные физические нагрузки и т. д., что иллюстрирует, что мутация, которая по сути является основным фактором риска, сама по себе может быть недостаточной для развития болезни. Кардиомиопатия может быть частью системного заболевания (например, амилоидоза), синдрома (например, синдрома Нунан), заболевания мышц (например, дистрофии конечностей), или изолированным кардиологическим нарушением.

Как и определение кардиомиопатии, классификация подтипов кардиомиопатии всегда вызвала жаркие дебаты, отражая сложность темы и множество клинических проявлений и сущностей, а также постоянно растущие знания о лежащих в основе механизмах заболевания, включая новые молекулярно-генетические открытия. Действительно, количество научных публикаций с индексом PubMed по теме “кардиомиопатия” и “генетика” значительно увеличилось за последние годы. Стоит отметить, что классификация кардиомиопатий, используемая ESC, существенно отличается от классификации Американской кардиологической ассоциации (АНА). АНА фокусируется на механизме возникновения и в основном различает “генетические” и “приобретенные” формы кардиомиопатий. Например, американцы также рассматривают нарушения ионных каналов как формы (генетической) кардиомиопатии [172]. В отличие от этого, точка зрения ESC сосредоточена на клиническом фенотипе, представленном лечащему врачу, в частности на результатах эхокардиографии. Проще говоря: это фенотип гипертрофии левого желудочка по сравнению с дилатацией и систолической дисфункцией, рестрикцией, аритмиями и вовлечением правого желудочка.

В этой главе мы в основном придерживаемся европейской классификации и обсуждаем пять различных подтипов кардиомиопатии: гипертрофическую кардиомиопатию (ГКМП), дилатационную кардиомиопатию (ДКМП), аритмогенную кардиомиопатию (АКМП), рестриктивную кардиомиопатию (РКМП) и кардиомиопатию с ненормальной компакцией миокарда (НККМП). За последние годы было установлено, что существует значительное перекрытие между этими кардиомиопатиями, как клинически, так и генетически. Например, тяжелая ГКМП может прогрессировать до систолической дисфункции с дилатацией левого желудочка. Если диагноз не был поставлен до начала дилатации, такое состояние может быть ошибочно диагностировано как ДКМП, а не как ГКМП. Точно так же, ДКМП часто сопровождается определенной степенью гипертрофии, и особенно в начальных стадиях дилатации левого желудочка

и/или ограниченной систолической дисфункции различие с ГКМП может быть нечетким. Кроме того, термин аритмогенная кардиомиопатия был введен для учета факта, что аритмогенная правожелудочковая кардиомиопатия часто сопровождается некоторой степенью дилатации и/или дисфункции левого желудочка [173]. Формы с поражением левого желудочка характеризуются признаками, типичными для аритмогенной правожелудочковой кардиомиопатии, включая жировую инфильтрацию [174]. Следующим шагом в европейской классификации является различие между наследственными и ненаследственными формами кардиомиопатии. Например, кардиомиопатия с фенотипом гипертрофии (“гипертрофическая кардиомиопатия”) может быть обусловлена ожирением или амилоидозом. Аналогично, кардиомиопатия с фенотипом дилатации и систолической дисфункции (“дилатационная кардиомиопатия”) также может быть следствием других факторов.

Наследственные кардиомиопатии не только клинически разнообразны, но и гетерогенны с точки зрения генетики, так как мутации в различных генах могут вызывать один и тот же кардиомиопатический фенотип. Более того, мутации в одном и том же гене могут вызывать различные подтипы кардиомиопатии. Однако, несмотря на значительное перекрытие и множество важных исключений, некоторые мутации обычно вызывают определённые подтипы кардиомиопатий. Саркомерные гены в основном ассоциированы с ГКМП и частично с ДКМП. С другой стороны, АКМП чаще всего вызвана мутациями в генах, кодирующих компоненты десмосом. Частота наследственных кардиомиопатий часто занижена, потому что у многих пациентов отсутствуют симптомы, особенно на ранних стадиях. Однако средний возраст начала симптомов обычно приходится на подростковый или ранний взрослый возраст.

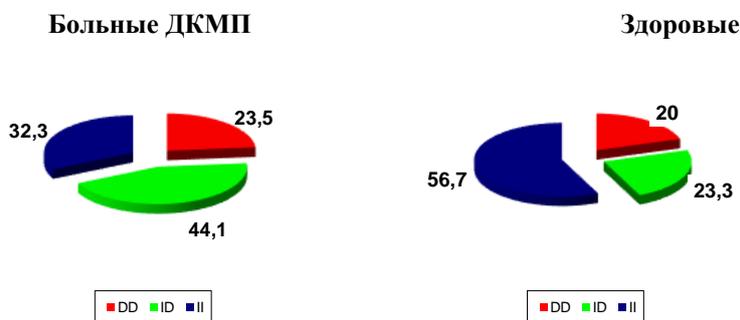
Некоторые случаи были связаны с митохондриальными нарушениями. В то же время кардиомиопатия может оставаться бессимптомной в течение длительного времени, даже внутри одной семьи, что называется переменной экспрессивностью. Количество генов, связанных с кардиомиопатиями, продолжает расти, и остаётся множество генетически нераскрытых случаев, включая семейные формы.

### **§3.3.2. Результаты собственных исследований лаборатории некоронарогенной патологии сердца РСНПМЦК**

К сожалению, генетические особенности кардиомиопатий в узбекской популяции к настоящему времени практически не изучены. Существует единственное исследование, в котором была изучена взаимосвязь I/D полиморфизма гена ACE с ДКМП, в котором участвовало 102 больных с ДКМП (39 женщин, 63 мужчин) со II-IV ФК ХСН (по NYHA). Средний возраст пациентов составил  $40 \pm 1,1$  (от 17 до 58) лет, давность заболевания составила  $12,8 \pm 1,8$  месяцев. Контрольную группу составили 65 здоровых добровольцев в возрасте от 20 до 50 лет.

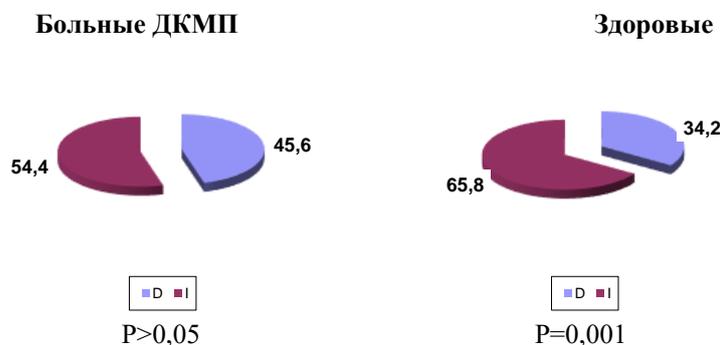
Анализ частоты распределения генотипов гена ACE выявил у 24 (23,5%) пациентов –DD(1гр.), у 45 (44,1%) – ID (2гр.), у 33 (32,3%) –II(3гр.) генотипы( $p<0,01$ ;  $\chi^2=9,8$ ) (рис. 2), причем количество мужчин в группе с II генотипированием значимо было больше чем в остальных группах 53,3%, 58,3% и 78,8% соответственно ( $\chi^2=8,9$ ;  $p<0,01$ ) . По частоте встречаемости преимущество принадлежало I-аллелю, который был выявлен в 111 (54,4%) случаях, в то время, как аллель D имел место в 93 (45,6%) случаях ( $p>0,05$ ). Полученные результаты показали преобладание I/D генотипа и отсутствие значимых различий по частоте аллелей I и D гена АПФ у лиц узбекской национальности страдающих ДКМП.В группе контроля генотипы и аллели были распределены следующим образом: DD-генотип был верифицирован у 12 (20%),ID-генотип – у 14 (23,3%), II-генотип –у 34 (56,7%) здоровых лиц ( $p<0,01$ ;  $\chi^2=22,2$ ), при этом D-аллель был выявлен в 41(34,2%) и I-аллель – в 79 (65,8%) случаях ( $p<0,001$ ;  $\chi^2=22,8$ ) (рис. ) [175].

### Генотипы



$P<0,001$ ;  $\chi^2=22,2$   $P<0,001$ ;  $\chi^2=9,8$

### Аллели



$P>0,05$

$P=0,001$

Рис. 2. Распределение генотипов и аллелей I/D-полиморфного маркера гена АПФ у лиц узбекской национальности. Соотношение генотипов у обследованных пациентов, в сравнении со здоровыми лицами

Полученные результаты по здоровым лицам указывают значительное накопление I-аллеля и II – генотипа I/D- полиморфного маркера гена АПФ. Таким образом, впервые был изучен ID полиморфизм гена АПФ у больных ДКМП - лиц узбекской национальности. Показано превалирование ID гетерозиготного генотипа у пациентов ДКМП и достоверным превалированием I-аллеля и II генотипа у здоровых лиц.

К настоящему времени начаты первые исследования по генотипированию больных с дилатационной и перипортальной кардиомиопатиями методом секвенирования NGS на секвенаторе нового поколения на приборе MiSeq (Illumina). 96-ти больным выполнено высокопроизводительное секвенирование кодирующей последовательности 128 генов, ассоциированных с наследственными заболеваниями сердечно-сосудистой системы с использованием панели Cardio Solution extended (Sophia Genetics). В настоящее время проводится биоинформатический анализ полученных результатов секвенирования, что позволит устранить такой большой пробел в изучении молекулярно-генетических механизмов развития кардиомиопатий в узбекской популяции.

### **§3.4. Генетические аспекты аритмий сердца**

*с участием Раджабовой Г.М.*

#### **§3.4.1. Генетические аспекты фибрилляции предсердий**

Фибрилляция предсердий (ФП) – это одно из часто встречающихся нарушений ритма сердца, являющееся основным предиктором заболеваемости и смертности. ФП является полигенным и полиэтиологическим заболеванием. Немаловажное значение имеют расовые и этнические различия в распространенности ФП в общей популяции, отмеченные в ряде работ. Среди факторов, повышающих риск развития ФП, отмечают возраст, гипертонию, кардиомиопатию, клапанные патологии, а также генетическую предрасположенность. По данным литературы, существует семейная форма ФП, указывающая на значимость генетических факторов в развитии ФП. Так, были идентифицированы мутации различных генов, связанных с ионными каналами, но, необходимо отметить, что подобного рода находки встречаются крайне редко [176]. Однако, в большинстве случаев ФП, обнаруженная в общей популяции, связана со множеством факторов, в том числе с генетическими факторами [177,178]. В последние годы исследования полногеномных ассоциаций (GWAS-genome wide association studies) выявили общие генетические варианты, связанные с более высоким риском ФП [179].

Генетическая предрасположенность к фибрилляции предсердий (ФП) была подтверждена неофициальными наблюдениями по семейной кластеризации аритмий. Однако первые молекулярно-генетические доказательства появились только в 1997 году, когда был обнаружен

генетический локус, который передавался вместе с аритмией в испанской семье, страдавшей от аутосомно-доминантной формы изолированной фибрилляции предсердий. Анализ сцепления позволил локализовать этот локус на длинном плече 10-й хромосомы (10q22–24). Несмотря на то, что этот локус был изолирован в относительно небольшом геномном регионе, ответственный ген так и не был идентифицирован. Кандидатами в этом регионе стали  $\beta$ -адренорецептор (ADRB1),  $\alpha$ -адренорецептор (ADRA2) и G-белок-сопряжённая рецепторная киназа (GPRK5). Однако секвенирование этих генов не выявило мутации, ассоциированной с заболеванием. Спустя более 20 лет ответственный за патологию ген в этом локусе остаётся неизвестным.

**Ген KCNQ1.** Первый причинный ген семейной ФП был обнаружен только через 6 лет после идентификации локуса 10q22–24. Это открытие было сделано в ходе исследования 4-х поколений китайской семьи. Исследуемая семья продемонстрировала аутосомно-доминантный тип наследования изолированной ФП. Анализ сцепления позволил локализовать патологический генетический локус на коротком плече хромосомы 11 (11p15.5), что отличалось от предыдущих случаев, зафиксированных в испанских семьях. Этот результат был значительным, поскольку подтвердил, что фибрилляция предсердий представляет собой генетически гетерогенное заболевание, вызванное мутациями нескольких генов. Независимое исследование в том же году подтвердило эти данные [180]. При анализе генетического содержимого локуса 11p15.5 было обнаружено, что он содержит ген KCNQ1, кодирующий  $\alpha$ -субъединицу калиевого канала IKs (KCNQ1/KCNE1). Мутации с потерей функции в этом гене ранее связывались с врождённым синдромом удлинённого интервала QT типа 1, что делало его идеальным кандидатом на изучение в контексте аритмии [181]. Секвенирование KCNQ1 выявило мутацию Ser140Gly, которая присутствовала у всех пострадавших членов семьи и отсутствовала почти у всех здоровых родственников (за исключением одного). Отсутствие мутации у 188 здоровых контрольных лиц подтвердило её клиническую значимость. Эта мутация расположена в высококонсервативном участке гена, что также указывает на её важную роль. После обнаружения предполагаемой мутации были проведены функциональные эксперименты, чтобы выяснить, как именно она приводит к фенотипу ФП.

- Совместная экспрессия мутантного KCNQ1 с KCNE1 в клетках COS-7 показала значительное увеличение плотности тока по сравнению с нормальной (wild-type) версией гена.
- Этот эффект соответствует мутации с усилением функции, что приводит к ускоренной реполяризации и сокращению эффективного рефрактерного периода клеток.
- Такое изменение создаёт идеальные условия для повторного входа импульса (reentry circuits), поддерживая аритмию.

• Подобное явление наблюдается у 30% пациентов с синдромом короткого интервала QT, что сопровождается увеличенной реполяризацией желудочков и злокачественными желудочковыми аритмиями [182,183].

**Неоднозначность мутации Ser140Gly.** Хотя теория мутации Ser140Gly хорошо объясняет аритмию, есть интересный факт: 9 из 16 пациентов с этой мутацией демонстрировали удлинённый интервал QT на ЭКГ. Это противоречит лабораторным данным, так как продлённый QT указывает на замедленную реполяризацию, а не ускоренную. Это наводит на мысль, что мутация может по-разному влиять на предсердия и желудочки из-за различий в электрических и структурных свойствах этих камер сердца. В дальнейших исследованиях было выдвинуто предположение (Lundby et al.), что другая мутация Gln147Arg в KCNQ1 может быть связана с изолированной фибрилляцией предсердий и удлинённым QT. Когда мутантный KCNQ1 коэкспрессировали с KCNE1 в яйцеклетках *Xenopus laevis*, наблюдалось снижение функции. Однако при совместной экспрессии с KCNE2 был зафиксирован обратный эффект – усиление функции. Эти находки вызывают интерес, но распределение KCNE1 и KCNE2 в предсердиях и желудочках остаётся неизвестным [184]. Альтернативное объяснение несоответствий между данными *in vitro* и электрокардиографическими наблюдениями может заключаться в неспособности лабораторных моделей точно воссоздать сложную физиологию сердца.

**Ген KCNE2.** Обнаружение мутации в гене калиевого канала, вызывающей аутосомно-доминантную форму ФП, намекает на возможность того, что и другие гены калиевых каналов могут вносить вклад в развитие аритмии. В одной из исследуемых семей прослеживался аутосомно-доминантный тип наследования изолированной ФП. Исследования семей с наследуемой формой изолированной ФП часто ограничены небольшими размерами родословных. Впоследствии был применён подход поиска кандидатов среди генов калиевых каналов, вовлечённых в аритмию. Этот метод позволил идентифицировать новые гены калиевых каналов, такие как KCNE2 и KCNJ2, которые, как оказалось, связаны с семейными формами изолированной ФП. Анализ сцепления позволил локализовать патологический генетический локус на коротком плече хромосомы 11 (11p15.5), что отличалось от предыдущих случаев, зафиксированных в испанских семьях. Этот результат был значительным, поскольку подтвердил, что фибрилляция предсердий представляет собой генетически гетерогенное заболевание, вызванное мутациями нескольких генов. Независимое исследование в том же году подтвердило эти данные. При анализе генетического содержимого локуса 11p15.5 было обнаружено, что он содержит ген KCNQ1, кодирующий  $\alpha$ -субъединицу калиевого канала IKs (KCNQ1/KCNE1). Мутации с потерей функции в этом гене ранее связывались с врождённым синдромом удлинённого интервала QT типа 1, что делало его идеальным кандидатом на изучение в контексте аритмии.

Была обнаружена мутация в гене KCNE2, кодирующем  $\beta$ -субъединицу калиевого канала IKs [185]. Мутация Arg27Cys была найдена у двух из 28

пациентов с семейной формой AF и впоследствии подтверждена у всех поражённых членов семей. Однако мутация отсутствовала у 462 здоровых людей. В каждой семье было только два поражённых члена, тогда как многие здоровые родственники также несли мутацию Arg27Cys, но не демонстрировали заболевание. Это может указывать на неполную пенетрантность мутации, требующую дополнительных генетических или экологических факторов для проявления AF. Совместная экспрессия Arg27Cys KCNE2 с KCNH2 не изменила ток по сравнению с диким типом, но при совместной экспрессии с KCNQ1 наблюдалось увеличение тока. Исследования в клетках COS-7 показали, что белковые продукты KCNE2 и KCNQ1 взаимодействуют, образуя фоновые калиевые токи, не зависящие от напряжения [186]. Это позволяет предположить, что мутантный KCNE2 может предрасполагать к ФП, изменяя реполяризацию кардиомиоцитов [187].

**Ген KCNJ2.** Похожий подход был использован для идентификации мутаций в KCNJ2 у 30 китайских семей с ФП. Было проведено секвенирование 10 генов, включая KCNQ1, KCNH2, SCNSA, ANK-B, KCNE1-5 [188]. Ген KCNJ2 (Kir2.1) кодирует входящий калиевый ток (IK1), поддерживающий мембранный потенциал покоя кардиомиоцитов. Этот же ген вовлечён в врождённый синдром удлинённого интервала QT типа 7 (синдром Андерсена-Тавила) [189]. Мутация Val93Ile в KCNJ2 была обнаружена у 4 поражённых членов семьи. Она также присутствовала у двух здоровых родственников, что могло быть связано с их молодым возрастом (33 и 42 года). Функциональные тесты показали, что мутантный белок увеличивал калиевый ток при потенциалах от -140 до -80 мВ, что соответствует мутации с усилением функции.

**Ген PITX2.** В различных этнических группах наиболее сильная и независимая взаимосвязь с развитием ФП, была обнаружена в локусе 4q25, где расположены гены ATF5 и PITX2 [190]. Ген PITX2 кодирует члена семейства гомеобоксов RIEG/PITX, который относится к классу бикоидов гомеодоменных белков. Кодируемый белок действует как фактор транскрипции и регулирует экспрессию гена лизилгидроксилазы проколлагена. Этот белок играет роль в терминальной дифференцировке фенотипов соматотрофных и лакторофных клеток, участвует в развитии глаз, зубов и органов брюшной полости и действует как регулятор транскрипции, участвующий в базальной и гормонально-регулируемой активности пролактина, а также вовлечен в асимметричное развитие сердца в течение эмбриогенеза, является геном, участвующим в развитии предсердных аритмий. Анализ литературных данных показал, что наиболее неблагоприятным в отношении развития ФП являлось носительство генотипа CC rs6817105 полиморфизма гена PITX2 [190,191]. Достоверных различий в клинических характеристиках между генотипами rs6817105 в группе пациентов не было. Однако электрофизиологическое исследование выявило достоверную линейную корреляцию между rs6817105 и дисфункцией синусового узла. Максимальное время восстановления синусового узла и скорректированное увеличивались с увеличением числа минорных аллелей C

и были самыми продолжительными у пациентов с генотипом СС rs6817105 полиморфизма гена PITX2. Следовательно, дисфункция синусового узла была независимо связана с минорным аллелем rs6817105 у этих пациентов с ФП. Эхокардиография показала, что диаметр левого предсердия, объем левого предсердия и индекс объема левого предсердия увеличивались с увеличением числа минорных аллелей С с наибольшими значениями у пациентов с генотипом СС [192].

**Ген ATF5.** Механизм влияния локуса 4q25 на риск развития ФП в настоящее время до сих пор неизвестен. Основная принятая гипотеза указывает на непосредственную близость гена ATF5 к гену PITX2, который вовлечен в асимметричное развитие сердца в течение эмбриогенеза, а также является главным источником предсердных аритмий. Анализ литературных данных показал, что наиболее неблагоприятным в отношении развития ФП является носительство генотипа ТТ rs2200733 полиморфизма гена ATF5 [191,192]. В частности, в исследовании случай-контроль, проведенном в Испанской популяции, включившем 257 пациентов с ФП и 379 лиц контроля, а также в проведенном этими же авторами мета-анализе была показана статистически достоверная связь между rs2200733 полиморфизмом гена ATF5 и повышенным риском развития ФП (ОР 1.87; 95% ДИ, 1.30-2.70- для испанской популяции; ОР 1.71; 95% ДИ, 1.54-1.90- для мета-анализа) [191].

### **KCNH2 и укороченный синдром интервала QT**

Укороченный синдром QT (Short QT Syndrome, SQTs) – редкое наследственное заболевание, характеризующееся:

- Укороченным QT-интервалом на ЭКГ [192,193]
- Повышенным риском внезапной сердечной смерти.
- Высокой предрасположенностью к полиморфным желудочковым аритмиям и фибрилляции предсердий [194].

К настоящему времени идентифицировано шесть генов, связанных с этим заболеванием [195-199]. Все они кодируют напряженно-зависимые калиевые каналы, и большинство также вовлечено в синдром удлиненного QT. Первая идентифицированная мутация при коротком QT была найдена в KCNH2, кодирующем  $\alpha$ -субъединицу IKr. В исследовании KCNH2 N588K у пациентов с коротким QT: было обнаружено сокращение потенциала действия, связанное с увеличением IKs. Эти изменения коррелировали с коротким QT на ЭКГ. Мутация выявлялась как в предсердиях, так и в желудочках, что подтверждало её влияние на оба отдела сердца. Недавно была обнаружена мутация E299V в KCNJ2, также связанная с ФП при коротком QT [200].

### **Исследования ассоциаций на уровне всего генома (GWAS)**

Использование ДНК-микроматриц, содержащих сотни тысяч однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), позволило исследователям

анализировать весь геном в поисках участков, которые могут повышать риск различных заболеваний. Этот метод оказался ценным инструментом для изучения сложной генетики, лежащей в основе распространённых заболеваний, включая ФП.

Ключевые находки исследования GWAS. Исследование ассоциаций на уровне всего генома (GWAS) было проведено с использованием ДНК-микроматрицы, содержащей 316 515 SNPs. В исследовании участвовали 550 пациентов с ФП или трепетанием предсердий и 4476 контрольных пациентов из Исландии [201]. Было обнаружено сильное генетическое сцепление с SNPs на хромосоме 4q25. Наиболее значимый полиморфизм rs2200733 имел относительный риск (OR) 1.84 (95% доверительный интервал 1.54–2.21). Для подтверждения этих результатов были проведены дополнительные исследования с участием следующих выборок пациентов в

- Исландии (2251 случаев ФП, 13 238 контролей)
- Швеции (143 случаев ФП, 738 контролей)
- США (636 случаев ФП, 804 контроля)
- Китае (333 случаев ФП, 2836 контролей)

Эти исследования подтвердили связь ФП с rs2200733. При этом относительный риск по популяциям составил:

- В объединённой европейской популяции OR = 1.72 (95% доверительный интервал 1.59–1.86).
- В китайской популяции OR = 1.42 (95% доверительный интервал 1.16–1.73).

### **Исследования генетических ассоциаций при фибрилляции предсердий**

После идентификации локуса 4q25, были проведены дополнительные исследования ассоциаций на уровне всего генома (GWAS) с увеличенным числом пациентов и контрольных групп. Это позволило улучшить статистическую мощность исследования и выявить ранее неизвестные генетические локусы, связанные с ФП. Независимо друг от друга две исследовательские группы идентифицировали два SNP: rs7193343 и rs2106261. Эти SNP были локализованы во внутригенной области гена ZFHX3 на хромосоме 16q22 [202,203].

**Ген ZFHX3.** Роль гена ZFHX3 в работе сердца пока остаётся неясной. Недавние исследования показали, что ZFHX3 может быть вовлечён в воспаление коронарных артерий (болезнь Кавасаки). Ассоциация 16q22 с фибрилляцией предсердий не была такой сильной, как для 4q25. Относительный риск (OR) находился в диапазоне 1.2 для европейских популяций. Однако в китайской популяции этот SNP не показывал значимой связи с ФП [204]. Важно отметить, что несмотря на локализацию SNPs в гене ZFHX3, это не означает, что ZFHX3 участвует в патогенезе ФП. Эти SNPs могут ассоциироваться с ФП из-за генетического дисбаланса сцепления (linkage disequilibrium) с истинными причинными вариантами в соседних регионах. Как и для локуса 4q25, требуется дополнительная работа, чтобы лучше понять взаимосвязь между 16q22 и ФП.

Новые GWAS с увеличенным числом участников уже выявили более 140 генетических вариантов, достоверно связанных с ФП [205-211]. Однако механизм, через который каждый из этих SNPs способствует аритмии, остаётся неясным [212-214]. Учёные предполагают, что эти SNPs могут находиться в регуляторных областях ДНК и влиять на экспрессию соседних генов. Дополнительные исследования необходимы для окончательного подтверждения их роли в развитии аритмии.

Таким образом, анализ путей (pathway analysis) показал, что набор SNPs, ассоциированных с ФП, может указывать на скрытую предсердную кардиомиопатию. Несмотря на то, что точные биологические функции этих SNPs неизвестны, их совместное использование в полигенных риск-оценках начинает показывать перспективные результаты. При этом эксперты уже обсуждают возможность внедрения этих SNPs в клиническую практику для оценки генетического риска развития ФП.

### **Генетическая диагностика и таргетная терапия фибрилляции предсердий**

Наше понимание генетического вклада в развитие ФП всё ещё находится на ранней стадии, и генетика пока не внедрена в рутинную клиническую практику для управления этим нарушением ритма [215]. Текущий статус клинической генетики при ФП различается по сравнению с другими известными наследственными аритмиями, такими как синдром удлинённого интервала QT и аритмогенная кардиомиопатия. В этих заболеваниях большинство генетических причин уже изучено, и эффективность клинического генетического тестирования превышает 50%. В отличие от этого, при ФП генетическое тестирование у большинства пациентов имеет эффективность менее 10%. Причины низкой эффективности тестирования это многофакторная природа развития ФП, полигенное наследование – вероятно, зависит как от редких, так и от распространённых вариантов, дополнительный вклад клинических и экологических факторов.

Подробное изучение генетики, влияющей на патофизиологию ФП может способствовать развитию фармакогеномных стратегий, улучшающих эффективность лечения и снижения риска побочных эффектов [216]. ФП, вероятно, является гетерогенным заболеванием, что подтверждается генетическими находками. В одном случае ФП может возникать из-за мутации с усилением функции в калиевом канале, тогда как в другом случае – из-за мутации с потерей функции в том же канале. Фенотипически (на ЭКГ) оба случая могут выглядеть одинаково. Однако наиболее эффективный выбор терапии может быть совершенно разным, поскольку электрофизиологические механизмы запуска аритмии различаются.

Кроме того, поскольку разные формы ФП могут иметь одинаковый фенотип, генетическая характеристика может быть необходима для точной идентификации подтипа ФП. В первом случае аритмия развивается из-за сокращённого рефрактерного периода предсердий. Это создаёт идеальные

условия для многократного повторного входа импульсов (reentrant wavelets) внутри предсердий. В таком случае блокатор калиевых каналов может восстановить нормальную длительность рефрактерного периода, разрушив эти волны и восстановив синусовый ритм.

Во втором случае, если ФП возникла из-за удлинённого рефрактерного периода предсердий, то то же самое лечение может ухудшить аритмию. Это может привести к состоянию, напоминающему “предсердную Torsades de Pointes” (atrial torsade). Вывод: генетическая и патофизиологическая гетерогенность ФП объясняет различную реакцию пациентов на лечение. Если ФП развивается из-за гипервозбудимости клеток в результате мутаций с усилением функции в натриевых каналах, то блокаторы натриевых каналов могут быть эффективным методом лечения. Если ФП вызвана гетерогенностью скорости проведения импульсов из-за мутации с потерей функции в щелевых соединениях, пациенту может подойти терапия, поддерживающая щелевые соединения (gap junctions) в открытом состоянии. В настоящее время такие препараты ещё не доступны, но уже разрабатываются фармакологические соединения, способные стабилизировать щелевые соединения [217].

### **Таргетная терапия и персонализированное лечение**

Таргетная терапия, основанная на фармакогеномных подходах, должна стать приоритетной целью на ближайшие годы. Помимо повышенной эффективности, этот подход также позволит снизить проаритмогенные эффекты, наблюдающиеся при использовании антиаритмических препаратов. Помимо персонализированного лечения, генетика открывает новые возможности для выявления людей с наибольшей предрасположенностью к аритмиям. Последние исследования показали, что использование полигенных риск-оценок, включающих более 1000 или даже миллионы SNPs, позволяет идентифицировать значительную часть населения, подверженную повышенному риску развития ФП [218,219]. Это открывает возможность для более агрессивного контроля факторов риска, включая контроль артериального давления, снижение веса, что может замедлить рост распространённости ФП.

Как известно, ФП опасна прежде всего риском развития инсульта. В связи с чем полигенные риск-оценки также могут помочь в профилактике инсульта, связанного с ФП, и обосновать необходимость раннего назначения антикоагулянтной терапии [220].

В настоящее время генетическое тестирование ФП остаётся в исследовательской области и не рекомендуется для клинического использования [221]. Перед внедрением генетического тестирования в рутинную клиническую практику необходимо глубже изучить генетическую структуру ФП. ФП отличается от классических наследственных аритмий, таких как синдром удлинённого интервала QT и катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия. Эти заболевания чаще всего вызваны

мутацией в одном гене. Развитие ФП в большинстве случаев связано с полигенными механизмами, включающими как редкие, так и распространённые генетические варианты. Ожидается, что дальнейшие исследования позволят идентифицировать генетические подтипы ФП. Это, в свою очередь, может привести к созданию клинически значимых стратегий лечения. Однако экологические и поведенческие факторы также играют важную роль в развитии ФП. Генетическое тестирование, вероятно, будет наиболее полезным для пациентов, у которых ФП развивается в молодом возрасте и без очевидных клинических факторов риска.

Понимание генетических факторов, которые приводят к развитию ФП, открывает большие перспективы для разработки эффективных терапевтических стратегий против этого распространённого заболевания. Идентификация специфических электрофизиологических механизмов, основанных на генетических открытиях, может привести к разработке более эффективных таргетных методов лечения с меньшими рисками. Фармакогеномика в области ФП всё ещё развивается, но постепенно становится всё ближе к клиническому применению. В ближайшем будущем использование полигенных риск-оценок (PRS) может улучшить прогнозирование риска ФП в общей популяции, позволить более активно модифицировать факторы риска у людей с наибольшей предрасположенностью к развитию аритмии и способствовать замедлению роста заболеваемости ФП и снижению нагрузки на пациентов и систему здравоохранения.

#### **§3.4.2. Результаты собственных исследований лаборатории Артериальной гипертензии и молекулярно-генетических исследований РСНПМЦК**

В одном из наших пилотных исследований изучалась взаимосвязь rs2200733 полиморфизма гена ATF5 с ФП у лиц узбекской национальности [222]. На основании генотипирования 69 пациентов с ФП было получено следующее распределение генотипов rs2200733 полиморфизма гена ATF5: СС-генотип был выявлен у 35 больных (50,72%), СТ-генотип у 25 (36,23%), ТТ-генотип у 9 (13,05%),  $p < 0,001$ ,  $\chi^2 = 22,435$ . При этом С-аллель выявлен в 95 (68,8%) случаев, Т-аллель в 43 (31,2%) случаев ( $p < 0,001$ ,  $\chi^2 = 37,696$ ). Среди лиц контроля по генотипам распределение было следующим: СС-генотип был верифицирован у 17 лиц (56,7%), СТ-генотип у 12 (40%), ТТ-генотип у 1 (3,3%),  $p < 0,001$ ,  $\chi^2 = 20,100$ . При этом С-аллель выявлен в 46 (76,7%) случаев, Т-аллель в 14 (23,3%) случаев ( $p < 0,001$ ,  $\chi^2 = 32,033$ ). Анализ встречаемости ФП в группах с различным носительством того или иного генотипа rs2200733 полиморфизма гена ATF5 показал, что ФП чаще встречается среди носителей ТТ генотипа по сравнению с носителями СС генотипа (90% против 67%,  $p < 0,001$ ,  $\chi^2 = 18,2$ ) и СТ генотипа (90% против 68%,  $p < 0,05$ ,  $\chi^2 = 7,9$ ) соответственно. Ассоциация между выявлением ФП и носительством повреждающего генотипа ТТ подтвердилась даже после объединения носителей генотипов СТ + СС (90% против 67%,  $p < 0,001$ ,  $\chi^2 = 55,6$ ).

Полученные результаты указывают на преобладание СС-генотипа и С-аллеля rs2200733 полиморфизма гена ATF5 у пациентов-узбеков, страдающих ФП. Аналогичный анализ, проведенный в группе лиц контроля (без ФП), продемонстрировал также значительное накопление С-аллеля и СС-генотипа rs2200733 полиморфизма гена ATF5. Показана ассоциация ТТ генотипа rs2200733 полиморфизма гена ATF5 с риском развития ФП, Поскольку ФП чаще встречалась среди носителей ТТ генотипа по сравнению с носителями СТ и СС генотипов (90% против 67%,  $p < 0,001$ ), можно предположить, что ТТ генотип rs2200733 полиморфизма гена ATF5 ассоциирован с риском развития ФП у лиц узбекской национальности.

К числу ограничений этого исследования относится небольшое количество больных, особенно больных с изолированной формой ФП. Из-за небольшого размера выборки у лиц узбекской национальности эти результаты представлены как генерирующие гипотезу и должны подтверждаться более крупными исследованиями. А также, бессимптомные эпизоды ФП в контрольной группе не могли быть исключены полностью.

В другой работе Раджабовой Г.М. и соавт. изучалась взаимосвязь rs6817105 полиморфизма гена PITX2 с фибрилляцией предсердий у больных артериальной гипертензией в узбекской популяции [223]. Среди больных АГ с ФП выявлено следующее распределение генотипов rs6817105 полиморфизма гена PITX2: СС генотип – определен у 72(50,7%) больных, СТ генотип – у 60(42,3%), ТТ генотип – 10(7,0%),  $\chi^2=68,535$ ,  $p=0,000$ . Аллельное распределение показало преобладание носительства С аллеля: С аллель – 71,8%, Т аллель – 28,2%,  $\chi^2=106,542$ ,  $p=0,000$ . Среди больных АГ без ФП также превалировал С аллель: 59,7% и 40,3% соответственно,  $\chi^2=12,375$ ,  $p=0,000$ . При этом соотношение СС:СТ:ТТ - генотипов было следующим: 38,6% : 42,1% : 19,3%,  $\chi^2=12,375$ ,  $p=0,000$ . На основании мультипликативной модели наследования продемонстрировано значительное накопление С аллеля среди 142 больных АГ с ФП 71,8% ( $\chi^2=7.30$   $P=0.007$ ; OR=1.72, 95% CI 1.16-2.56), при этом Т аллель встречался реже в 28,2% случаях. Общая модель наследования продемонстрировала также ассоциацию СС генотипа с риском развития ФП у больных АГ, так СС генотип встречался чаще в 50,7% ( $\chi^2=8.69$ ;  $P=0.01$ ; OR=1.63, 95% CI 0.95-2.81), при этом СТ генотип встречался в 42,3% случаях и ТТ генотип в – 7,0% случаях. Тогда как в группе больных без ФП было иное распределение генотипов СС:СТ:ТТ: в 38,6 % : 42,0% : 19,3%, соответственно. Важно заметить, что у больных АГ с ФП - носителей СС генотипа rs6817105 полиморфизма гена PITX2 показатель ИОЛП значительно был выше в сравнении с носителями СТ и ТТ генотипов:  $46,8 \pm 14,9$  мл/м<sup>2</sup> против  $40,4 \pm 13,0$  мл/м<sup>2</sup> и  $36,5 \pm 11,6$  мл/м<sup>2</sup>, соответственно ( $p=0,020$ ).

Таким образом, была показана ассоциация СС генотипа и С аллеля rs6817105 полиморфизма гена PITX2 с риском развития ФП у больных АГ узбекской популяции. Отмечено, что у носителей СС генотипа rs6817105 полиморфизма гена PITX2 показатель ИОЛП был значительно выше в сравнении с носителями СТ и ТТ генотипов. С учётом формы ФП СС генотип

и С аллель в несколько большей степени преобладают среди больных с пароксизмальной формой ФП.

### **Калькулятор генетического риска фибрилляции предсердий у больных АГ узбекской популяции**

На основании полученных результатов в рамках научно-исследовательского проекта нами был разработан программный продукт, который стал основой для создания калькулятора генетического риска развития фибрилляции предсердий у больных АГ узбекской популяции: «КАРДИОГЕН ФП» (рис.3). Для определения риска развития ФП у больных АГ проводился молекулярно-генетический анализ на шесть особо значимых полиморфизмов: rs6817105 полиморфизм гена PITX2, межгенный rs11264280 полиморфизм, rs11773845 полиморфизм гена CAV1, rs13376333 полиморфизм гена KCNN3, rs3807990 полиморфизм гена CAV1, rs588837 полиморфизм гена LOC105371610. Расчет относительного риска проведен на основании полученных результатов с использованием логистического регрессионного анализа с использованием средств языка программирования R и пакета SNPAssoc, а также с учетом литературных данных. Результат выдается в виде пяти вариантов:

1. Высокий генетический риск развития фибрилляции предсердий у больных артериальной гипертензией.
2. Выше среднего генетический риск развития фибрилляции предсердий у больных артериальной гипертензией.
3. Средний генетический риск развития фибрилляции предсердий у больных артериальной гипертензией
4. Умеренный (ниже среднего) генетический риск развития фибрилляции предсердий у больных артериальной гипертензией.
5. Низкий генетический риск развития фибрилляции предсердий у больных артериальной гипертензией.

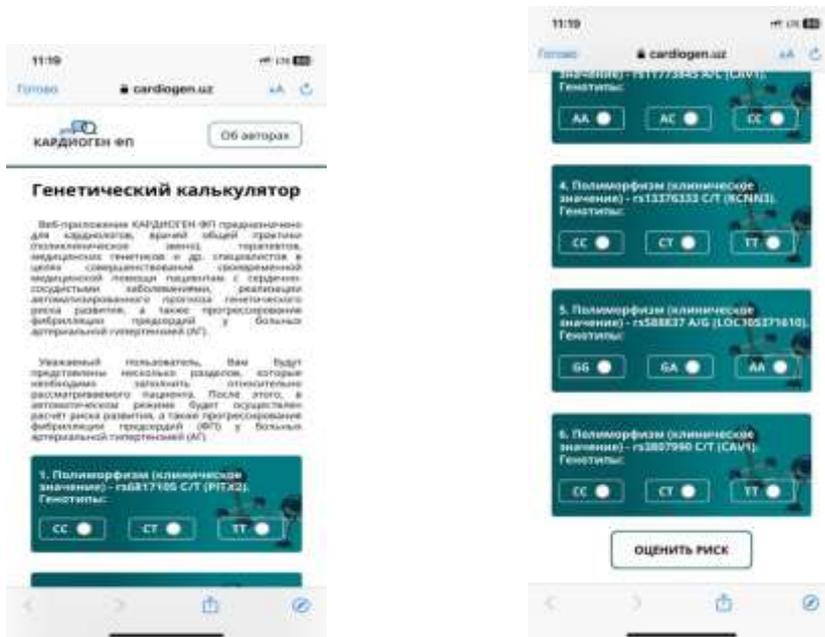


Рис.3 Калькулятор генетического риска фибрилляции предсердий у больных АГ узбекской популяции «КАРДИОГЕН ФП»

Важно заметить, что представленный калькулятор позволяет сэкономить много времени, требующегося для выдачи заключения больному по результатам генетического тестирования. Представленная уникальная разработка подобно «искусственному интеллекту» может заменить работу врача-генетика.

### §3.4.3. Генетические аспекты синдрома Бругада

Первое описание синдрома Бругада поддерживало гипотезу о потенциально наследственном заболевании. Позднее отчёты также выявили синдром Бругада у родственников из разных семей. Этот наследственный фактор был окончательно продемонстрирован в 1998 году, когда была идентифицирована первая генетическая мутация в гене SCN5A [224]. В настоящее время более 500 потенциально патогенных вариантов в более чем 20 различных генах ассоциированы с синдромом Бругада (см. Таблицу 2), что подтверждает аутосомно-доминантный тип наследования [225]. Однако эта доля может быть завышена, поскольку многие ранее классифицированные как патогенные варианты могут иметь неоднозначное значение в соответствии с современными руководствами Американского колледжа медицинской генетики и геномики (ACMG) [226,227]. Комплексный генетический анализ выявил генетическую причину примерно в 35% всех случаев [228]. Таким образом, у почти 70% семей остаётся неидентифицированный генетический вариант [229]. Ген SCN5A является основным геном, ответственным за 25% случаев. Этот ген кодирует альфа-субъединицу кардиального натриевого канала Nav1.5.

**Таблица 2: Гены, связанные с синдромом Бругада**

	Локус	Ген	Белок	%
<b>Натрий</b>	3p21-p24	SCN5A	Nav1.5	<30
	3p22.3	GPD1-L	Глицерол-3-ФДГ-1	<1
	19q13.1	SCN1B	Navβ1	<1
	11q24.1	SCN3B	Navβ3	<1
	11q23.3	SCN2B	Navβ2	<1
	3p22.2	SCN10A	Nav1.8	<2
	6q21	HEY2	Связанный с Hes транскрипционный фактор VHLH	<1
	17p13.1	RANGRF	Фактор освобождения RAN (MOG1)	<1
	3p14.3	SLMAP	Сарколеммальный ассоциированный белок	<1
	3q28	FGF12	Фактор роста фибробластов 12	<1
	12p11.21	PKP2	Плакоглобин-2	<1
	12q15	LRRRC10	Белок, содержащий	<1

			лейцин-обогащённые повторяющиеся домены 10	
<b>Калий</b>	12p12.1	ABCC9	Чувствительный к АТФ аденозинтрифосфатный канал	<1
	11q13-q14	KCNE3	MiRP2	<1
	12p12.1	KCNJ8	Kv6.1 или Kir6.1	<1
	15q24.1	HCN4	Циклический нуклеотид-зависимый канал 4	<1
	7q31.31	KCND2	Kv4.2	<1
7q36.1	KCNH2	HERG или Kv11.1	<1	
1p13.2	KCNC3	Kv4.3 или Kir4.3	<1	
7h12.1	SEMA3A	Семафорин 3A	<1	
	Xq22.3	KCNE5	Подсемейство калиевых каналов с задержанной ректрификацией	<1
<b>Кальций</b>	2p13.3	CACNA1C	Cav1.2	<5
	10p12.33	CACNB2B	Вольтаж-зависимый $\beta 2$	<2
	7q21-q22	CACNA2D1	Вольтаж-зависимый $\alpha 2/\delta 1$	<1
	19q13.33	TRPM4	Рецептор потенциала M4	<1

Этот натриевый канал (Nav1.5) отвечает за фазу 0 потенциала действия в сердечной проводящей системе. В последние годы были выявлены патогенные варианты в нескольких других генах, включая SCN1B, SCN2B, SCN3B, HEY2, NPPA, FGF12, GPD1-L, SLMAP, PKP2 и TRPM4. Кроме того, были предложены другие гены в качестве возможных или вероятных причин развития синдрома Бругада. Эти гены включают HCN4, KCND2, KCND3, KCNE3, KCNE5, KCNH2, KCNJ8, LRRC10 и SEMA3A, несмотря на то, что до настоящего времени их связь с синдромом Бругада окончательно не подтверждена. Учитывая все имеющиеся данные, современные руководства рекомендуют осторожность в интерпретации результатов генетического скрининга. В настоящее время выявление мутации в SCN5A или другом гене, связанном с синдромом Бругада, не оказывает влияния на прогноз или тактику лечения, а лишь документирует наличие генетического варианта.

Несмотря на это, недавние достижения в области генетики открывают новые перспективы для изучения регуляции экспрессии гена SCN5A, что может пролить новый свет на механизмы развития синдрома Бругада [230].

С целью подтверждения диагноза синдрома Бругада современные руководства рекомендуют только генетическое тестирование гена SCN5A. Однако технология секвенирования нового поколения (NGS) позволяет проводить генетический анализ несколькими способами. Технология NGS генерирует обширные генетические данные, и основной вызов заключается в их интерпретации и переводе в клиническую практику. Генетическое тестирование членов семьи помогает уточнить патогенную роль редких вариантов, выявленных с помощью NGS, а также обнаружить родственников, несущих потенциально опасные генетические варианты, которые могут быть асимптомными, но находиться в группе риска внезапной сердечной смерти. Из-за споров вокруг патогенной роли выявленных вариантов Американский колледж медицинской генетики и геномики (ACMG) недавно опубликовал рекомендации по классификации генетических вариантов, чтобы уточнить их значение. Однако, несмотря на эти рекомендации, большинство генетических вариантов, связанных с синдромом Бругада, остаются неизвестными или имеют неоднозначное клиническое значение, поэтому их использование в клинической практике требует осторожности [231]. Доля патогенных вариантов, связанных с синдромом Бругада, должна быть дополнительно проанализирована, чтобы уточнить реальный процент случаев с этой патологией, генетически ассоциированных. Разделение пациентов по семейным линиям и глубокий анализ связи генотипа и фенотипа помогают интерпретировать генетические вариации при синдроме Бругада. Однако неполная пенетрантность и переменная экспрессия, усиленные неизученными патофизиологическими механизмами, вызванными каждым конкретным генетическим вариантом, затрудняют определение их точной роли. Таким образом, основная роль гена SCN5A как причины патологии была поставлена под сомнение [232]. В частности, неполная пенетрантность заболевания, а также переменная экспрессия поставили под сомнение роль дополнительных генетических факторов в формировании конечного фенотипа. Полиморфизм SCN5A p.H558R присутствует почти у 20% популяции. Этот полиморфизм, как было показано, частично восстанавливает натриевый ток, нарушенный другими патогенными вариантами гена SCN5A, связанными с синдромом Бругада [233].

Таким образом, этот распространенный вариант в популяции является генетическим фактором риска синдрома Бругада у носителей патогенного варианта SCN5A: наличие менее распространенного аллеля приводит к менее выраженному фенотипу синдрома Бругада [234]. Генетические варианты в промоторе SCN5A также могут играть патофизиологическую роль при этом

индроме. К примеру, был идентифицирован один гаплотип, содержащий шесть полиморфизмов в промоторе SCN5A, который функционально связан со сниженной экспрессией натриевого тока в японской популяции [235]. Ген SCN10A (нейрональный натриевый канал NaV1.8) был выявлен как модулятор экспрессии SCN5A и электрической функции сердца [236]. В исследовании также был обнаружен транскрипционный фактор HEY2, связанный с синдромом Бругада [237]. Другие исследования также подтверждают роль этих генетических модификаторов.

#### **§3.4.4. Генетические аспекты синдрома удлиненного QT интервала**

Синдром удлиненного интервала QT (LQTS) предрасполагает к жизнеугрожающим желудочковым аритмиям и внезапной смерти. Это наследственный синдром аритмии, приводящий к удлинению фазы реполяризации потенциала действия сердца. Он может проявляться как удлинение скорректированного по частоте сердечных сокращений интервала QT (QTc) на электрокардиограмме (ЭКГ). LQTS впервые был описан как аутосомно-рецессивная форма с сенсоневральной тугоухостью – синдром Йервелла и Ланге-Нильсена, а также в виде аутосомно-доминантной формы – синдрома Романо-Уорда [238-240]. Только в 1990-х годах молекулярная основа этого состояния начала раскрываться благодаря исследованиям сцепления генов, что привело к идентификации мутаций в определенных генах, кодирующих ионные каналы сердца [241-245].

Достижения в молекулярной генетике за последние 20 лет привели к обнаружению мутаций в общей сложности в 15 генах, вызывающих синдром LQTS, и позволили лучше понять его молекулярные механизмы. Мутации выявляются в 80–85% подтвержденных случаев LQTS, однако 15–20% случаев остаются генетически неуловимыми (патогенный вариант не определяется даже при стандартном клиническом генетическом тестировании).

LQT1, LQT2 и LQT3, вызванные мутациями в KCNQ1, KCNH2 и SCN5A соответственно, составляют более 90% генетически подтвержденных случаев синдрома LQTS. Гены, кодирующие  $\beta$ -субъединицы, мембранные опорные белки или белки, взаимодействующие с ионными каналами сердца, также вовлечены в некоторые редкие типы LQTS, но они были выявлены лишь у нескольких семей или отдельных пациентов [246-247]. Более 70% случаев LQTS вызваны миссенс-мутациями, в то время как остальные включают сдвиг рамки считывания (10%), мутации в сайтах сплайсинга, а также инсерции и делеции в кодирующей последовательности [248-249]. Большинство зарегистрированных мутаций являются экзонными (локализованы в кодирующих участках генов), но также описаны некодирующие мутации, которые влияют на экспрессию аллеля, а также крупные геномные перестройки [250].

Типичный фенотип LQTS может варьировать в зависимости от генотипа. Пациенты с LQT1 имеют высокий риск развития желудочковых аритмий при физической нагрузке (особенно при плавании или дайвинге) или эмоциональном стрессе. IKs-ток обычно активируется адренергическим стрессом, способствуя укорочению фазы реполяризации желудочков при высоких частотах сердечных сокращений. Снижение IKs у пациентов с LQT1 приводит к аномальному ответу на адренергическую стимуляцию, что выражается в недостаточном укорочении потенциала действия при высоких частотах сердцебиения. Это проявляется прогрессирующим удлинением QTc во время физической нагрузки и раннего периода восстановления [251,252]. Повышенный риск аритмий при плавании и дайвинге может быть связан с увеличенным парасимпатическим тонусом сердца и вызванным симпатически управляемой периферической вазоконстрикцией, известной как “рефлекс погружения” [253]. Аритмические события при LQT2 особенно связаны со слуховыми стимулами, особенно с внезапными громкими звуками, такими как звон будильника. IKr-ток модулируется  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренергической стимуляцией, что приводит к увеличению частоты аритмий при внезапном стрессе или слуховых раздражителях [254]. При LQT3 увеличение позднего входящего натриевого тока (late I<sub>Na</sub>) во время плато фазы потенциала действия вызывает удлинение реполяризации, что особенно выражено при низких частотах сердцебиения. Наибольший риск аритмий у пациентов с LQT3 наблюдается во время сна, а их скорректированные интервалы QTc обычно укорачиваются при физической нагрузке. Предполагается, что персистенция позднего натриевого тока (I<sub>Na</sub>) при LQT3 приводит к накоплению Na<sup>+</sup> в кардиомиоцитах при более высоких частотах сердечных сокращений, что снижает натриевый градиент и, следовательно, I<sub>Na</sub>. Этот эффект наиболее выражен на плато-фазе потенциала действия, что приводит к укорочению продолжительности потенциала действия (APD) при более высоких частотах сердечных сокращений [255]. Кроме того, нормальная активность I<sub>Ks</sub> у пациентов с LQT2 и LQT3 может обеспечивать защиту от желудочковых аритмий при физических нагрузках [256,257].

#### **§3.4.5. Генетические аспекты синдрома короткого QT интервала**

**Синдром короткого интервала QT (SQTS)** — это генетически гетерогенное заболевание, сходное с его физиологическим аналогом, врождённым синдромом удлинённого интервала QT (LQTS). SQTS классифицируется как заболевание, связанное с дисфункцией ионных каналов («ионопатия»), имеющее генетическое перекрытие с LQTS. В настоящее время известно более семи различных генов, вовлечённых в развитие SQTS, что указывает не только на умеренную степень генетической гетерогенности, но и на множество нерешённых вопросов, касающихся его этиологии. Генетический, функциональный и семейный анализ показывает, что большинство генов, ассоциированных с SQTS, имеют патогенетическое значение, в частности генов KCNH2, KCNQ1, KCNJ2, SLC4A3 и CACNB2.

Для остальных генов требуется дополнительное подтверждение их патогенности с помощью генетических и лабораторных исследований. На сегодняшний день частота неполной пенетрантности (т.е. наличие мутации без изменений на ЭКГ и клинических проявлений) при SQTs остаётся неизвестной.

**Ген KCNH2 и его роль в развитии SQT1.** Первым геном, который был идентифицирован как причина синдрома короткого QT (SQT1), стал KCNH2. Была обнаружена мутация усиления функции, приводящая к увеличению быстрой составляющей задержанного выпрямляющего калиевого тока ( $I_{Kf}$ ) [258]. Два различных нуклеотидных варианта были обнаружены в позиции 1764 в гене HERG (KCNH2), приводя к одинаковой замене аминокислоты в кодоне 588: аспарагин был заменён на положительно заряженный лизин (р.Asp588Lys или N588K). Этот остаток локализуется в S5-P петле HERG на внешнем устье канала и вызывает утрату нормальной ректификации тока на плато напряжений. В результате наблюдается значительное увеличение тока  $I_{Kf}$  во 2-й и 3-й фазах потенциала действия, что ведёт к укорочению потенциала действия и снижению рефрактерности как предсердий, так и желудочков.

Belloccq et al. сообщили о мутации в одном спорадическом случае у 70-летнего пациента с SQTs (QTc 302 мс) и внезапной остановкой сердца. Они выявили мутацию усиления функции (р.Val307Leu) в гене KCNQ1, который кодирует медленный компонент задержанного выпрямляющего калиевого канала ( $I_{Ks}$ ). Эта мутация вызвала сдвиг порогового потенциала активации на -20 мВ, что привело к ускорению кинетики активации и более эффективной активации мутантных каналов при более отрицательных мембранных потенциалах. Это привело к усилению функции  $I_{Ks}$  и укорочению потенциала действия. Дополнительно была обнаружена миссенс-мутация в этом же гене (р.Val141Met) у ребёнка с брадикардией и фибрилляцией предсердий в утробе матери [259]. Электрокардиограмма (ЭКГ) выявила укорочение интервала QT и эпизоды фибрилляции предсердий.

**Ген KCNJ2 и SQT3.** Priori et al. обнаружили у двух родственников без внезапной остановки сердца мутацию усиления функции в KCNJ2 (SQT3), кодирующем внутренний выпрямляющий калиевый канал ( $I_{K1}$ ). Это привело к укорочению интервала QT и асимметричным зубцам T с резким нисходящим сегментом [260]. Deo и соавт. описали аналогичную мутацию в KCNJ2 (р.Ala896Thr) (SQT3), которая значительно усиливала наружный калиевый ток  $I_{K1}$ , что приводило к крайне укороченному интервалу QT и фибрилляции предсердий [261].

**Мутации в кальциевых каналах и их связь с SQTs.** Позднее группа совместно с Antzelevitch et al. выявила новые мутации в генах L-типа

кальциевых каналов, которые отвечают за укорочение интервала QT в семьях с такими клиническими проявлениями, как внезапная сердечная смерть, фибрилляция предсердий и ЭКГ-паттерн типа 1 синдрома Бругада [262]. Эти пациенты демонстрировали смешанный, перекрывающийся фенотип. Функциональный анализ выявил миссенс-мутации с потерей функции в *CACNA1C* (p.Ala39Val и p.Gly490Arg) и *CACNB2b* (p.Ser481Leu), кодирующих  $\alpha 1$ - и  $\beta 2b$ -субъединицы кардиального L-типа кальциевого канала. Снижение суммарного кальциевого тока через каналы L-типа укоротило фазу плато потенциала действия и привело к укорочению интервала QT. Недавно Akdis et al. также сообщили о мутации в гене кальциевого канала L-типа, обнаруженной у одной семьи. В их исследовании была выявлена несинонимичная мутация в *CACNA2D1*, приводящая к потере функции [263].

**Дефицит L-карнитина и синдром короткого QT.** Отчёт французской исследовательской группы описывает семью с наследственным дефицитом L-карнитина, у всех членов которой наблюдался укороченный интервал QT. После введения карнитина интервал QT значительно удлинился и приблизился к нормальному диапазону. Чтобы подтвердить роль карнитина в укорочении интервала QT, авторы использовали модель на мышах. В ходе эксперимента было показано, что дефицит карнитина индуцировал укорочение интервала QT и предрасположенность к индуцируемой фибрилляции желудочков [264].

**Мутации в транспортере хлорид-бикарбоната AE3 и SQTs.** Недавно Thorsen et al. описали мутацию с потерей функции в транспортере хлорид-бикарбоната AE3, обнаруженную с помощью полноэкзомного секвенирования. Было выявлено, что несинонимичная мутация (Arg370His) снижала экспрессию AE3 на мембране и уменьшала мембранный транспорт карбонатов. Фенотип, связанный с этой мутацией, соответствует типичному SQTs. В одном крупном и одном маленьком семействе все носители мутации имели QTc-интервал менее 370 мс ( $340 \pm 18$  мс), тогда как у неносителей интервал превышал 370 мс ( $402 \pm 24$  мс). Проявление этой мутации было протестировано на модели с использованием рыбок данио (zebrafish). Эксперимент показал, что снижение концентрации хлоридов и повышение pH приводили к укорочению потенциала действия [265].

На данный момент генетическое тестирование на синдром короткого QT отнесено к классу ПВ по показаниям, но оно также должно проводиться в рамках научных изысканий. Обычно для диагностики используется мультигенная панель. Во всех случаях родственники пациентов должны проходить клиническую оценку на предмет укороченного интервала QT, а при подтверждении диагноза у индексационного пациента следует проводить генетическое тестирование у доступных родственников (класс I показания, гетерозиготное тестирование).

### Список использованной литературы

1. Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet*. 2014;383:999–1008.
2. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwidetrends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19·1 million participants. *Lancet*. 2017;389:37–55.
3. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365:217–23.
4. Verdecchia P, Reboldi G, Angeli F. The 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines - key messages and clinical considerations. *Eur J Intern Med*. 2020;82:1–6.
5. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE, Jr, Collins KJ, Himmelfarb CD, et al. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertens*. 2018;71:1269–324.
6. Cowley AW. The genetic dissection of essential hypertension. *Nat Rev Genet*. 2006;7:829–40.
7. Косьянкова Т.В., Пузырев К.В., Степанов В.А., Павлюкова Е.Н., Карпов Р.С., Салюков В.Б. Взаимосвязь полиморфизма T174M гена ангиотензиногена с клиническими проявлениями эссенциальной гипертензии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1999. № S1. С. 98-100.
8. Елисеева М.Р., Хамидуллаева Г.А., Срождинова Н.З., Абдуллаева Г.Ж., Курбанова Д.Р., Каримова Б.Ш., Кеворков А.Г., Нагай А.В., Абдуллаев А.А. Молекулярно-генетические аспекты эссенциальной гипертензии// *Монография*. – «Шарк». – Ташкент, 2009. – 272с
9. Page IH. Pathogenesis of arterial hypertension. *JAMA J Am Med Assoc*. 1949;140:451.
10. Page IH. The mosaic theory 32 years later. *Hypertens*. 1982;4:177.
11. Havlik RJ, Garrison RJ, Feinleib M, Kannel WB, Castelli WP, Mcnamara PM. Blood pressure aggregation in families. *Am J Epidemiol*. 1979;110:304–12.
12. Feinleib M, Garrison RJ, Fabsitz R, Christian JC, Hrubec Z, Borhani NO, et al. The NHLBI twin study of cardiovascular disease risk factors: methodology and summary of results. *Am J Epidemiol*. 1977;106:284–95.
13. Fagard R, Brguljan J, Staessen J, Thijs L, Derom C, Thomis M, et al. Heritability of conventional and ambulatory blood pressures: a study in twins. *Hypertens*. 1995;26:919–24.

14. Raina R, Krishnappa V, Das A, Amin H, Radhakrishnan Y, Nair NR, et al. Overview of monogenic or mendelian forms of hypertension. *Front Pediatr*. 2019;7:263.
15. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*. 2001;104:545–56.
16. Brown MJ. Platt versus Pickering: what molecular insight to primary hyperaldosteronism tells us about hypertension. *JRSM Cardiovasc Dis*. 2012;1:cvd.2012.012020.
17. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*. 2004;431:931–45.
18. Niu T, Xu X, Rogus J, Zhou Y, Chen C, Yang J, et al. Angiotensinogen gene and hypertension in Chinese. *J Clin Invest*. 1998;101:188–94.
19. Atwood LD, Kammerer CM, Samollow PB, Hixson JE, Shade RE, MacCluer JW. Linkage of essential hypertension to the angiotensinogen locus in Mexican Americans. *Hypertens*. 1997;30:326–30.
20. Caulfield M, Lavender P, Newell-Price J, Farrall M, Kamdar S, Daniel H, et al. Linkage of the angiotensinogen gene locus to human essential hypertension in African Caribbeans. *J Clin Invest*. 1995;96:687–92.
21. Caulfield M, Lavender P, Farrall M, Munroe P, Lawson M, Turner P, et al. Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. *N Engl J Med*. 1994;330:1629–33.
22. Brand E, Chatelain N, Keavney B, Caulfield M, Citterio L, Connell J, et al. Evaluation of the angiotensinogen locus in human essential hypertension: a European Study. *Hypertension*. 1998;31:725–9.
23. Hata A, Namikawa C, Sasaki M, Sato K, Nakamura T, Tamura K, et al. Angiotensinogen as a risk factor for essential hypertension in Japan. *J Clin Invest*. 1994;93:1285–7.
24. Agarwal A, Williams GH, Fisher ND. Genetics of human hypertension. *Trends Endocrinol Metab*. 2005;16:127–33.
25. Gurdasani D, Barroso I, Zeggini E, Sandhu MS. Genomics of disease risk in globally diverse populations. *Nat Rev Genet*. 2019;20:520–35.
26. Levy D, Destefano AL, Larson MG, O'donnell CJ, Lifton RP, Gavras H, et al. Evidence for a gene influencing blood pressure on chromosome 17: genome scan linkage results for longitudinal blood pressure phenotypes in subjects from the Framingham Heart Study. *Hypertens*. 2000;36:477–83.
27. Thiel BA, Chakravarti A, Cooper RS, Luke A, Lewis S, Lynn A, et al. A genome-wide linkage analysis investigating the determinants of blood pressure in whites and African Americans. *Am J Hypertens*. 2003;16:151–3.
28. Krushkal J, Ferrell R, Mockrin SC, Turner ST, Sing CF, Boerwinkle E. Genome-wide linkage analyses of systolic blood pressure using highly discordant siblings. *Circulation*. 1999;99:1407–10.
29. Caulfield M, Munroe P, Pembroke J, Samani N, Dominiczak A, Brown M, et al. Genome-wide mapping of human loci for essential hypertension. *Lancet*. 2003;361:2118–23.

30. Ehret GB, O'Connor AA, Weder A, Cooper RS, Chakravarti A. Follow-up of a major linkage peak on chromosome 1 reveals suggestive QTLs associated with essential hypertension: GenNet study. *Eur J Hum Genet.* 2009;17:1650–7.
31. Munroe PB, Wallace C, Xue M-Z, Marzano ACB, Dobson RJ, Onipinla AK, et al. Increased support for linkage of a novel locus on chromosome 5q13 for essential hypertension in the British Genetics of Hypertension Study. *Hypertension.* 2006;48:105–11.
32. Chang Y-PC, Liu X, Kim JDO, Ikeda MA, Layton MR, Weder AB, et al. Multiple genes for essential-hypertension susceptibility on chromosome 1q. *Am J Hum Genet.* 2007;80:253–64.
33. Lifton RP, Jeunemaitre X. Finding genes that cause human hypertension. *J Hypertens.* 1993;11:231–6.
34. Lerman LO, Kurtz TW, Touyz RM, Ellison DH, Chade AR, Crowley SD, et al. Animal models of hypertension: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertens.* 2019;73:e87–120.
35. Stoll M, Jacob HJ. Genetic rat models of hypertension: relationship to human hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2001;3:157–64.
36. Rapp JP. Genetic analysis of inherited hypertension in the rat. *Physiol Rev.* 2000;80:135–72.
37. Dahl LK, Heine M, Tassinari L. Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion. *Nature.* 1962;194:480–2.
38. Ben-Ishay D, Saliternik R, Welner A. Separation of two strains of rats with inbred dissimilar sensitivity to Doca-salt hypertension. *Experientia.* 1972;28:1321–2.
39. Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J.* 1963;27:282–93.
40. Gibbs RA, Weinstock GM, Metzker ML, Muzny DM, Sodergren EJ, Scherer S, et al. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature.* 2004;428:493–521.
41. Padmanabhan S, Joe B. Towards precision medicine for hypertension: a review of genomic, epigenomic, and microbiome effects on blood pressure in experimental rat models and humans. *Physiol Rev.* 2017;97:1469–528.
42. Marques FZ, Campain AE, Yang YHJ, Morris BJ. Meta-analysis of genome-wide gene expression differences in onset and maintenance phases of genetic hypertension. *Hypertens.* 2010;56:319–24.
43. Giri A, Hellwege JN, Keaton JM, Park J, Qiu C, Warren HR, et al. Trans-ethnic association study of blood pressure determinants in over 750,000 individuals. *Nat Genet.* 2019;51:51–62.
44. Newton-Cheh C, Larson MG, Vasan RS, Levy D, Bloch KD, Surti A, et al. Association of common variants in NPPA and NPPB with circulating natriuretic peptides and blood pressure. *Nat Genet.* 2009;41:348–53.

45. Snieder H, Harshfield GA, Treiber FA. Heritability of blood pressure and hemodynamics in African- and European-American youth. *Hypertension*. 2003 Jun; 41(6): 1196-201.
46. Joffres M, Falaschetti E, Gillespie C, Robitaille C, Loustalot F, Poulter N, et al. Hypertension prevalence, awareness, treatment and control in national surveys from England, the USA and Canada, and correlation with stroke and ischaemic heart disease mortality: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2013;3(8):e003423.
47. Kokh NV, Slepukhina AA, Lifshits GI. Cough and angioedema from angiotensin-converting enzyme inhibitors: genetic markers. *Pharmacogenetics and Pharmacogenomics*. 2015;(2):4-8. (In Russ.)
48. Кох Н.В., Слепухина А.А., Лифшиц Г.И. Артериальная гипертензия: молекулярно-генетические и фармакогенетические подходы. *Фармакогенетика и Фармакогеномика*. 2015;(2):4-8
49. Ehret, G.B.; Munroe, P.B.; Rice, K.M.; Bochud, M.; Johnson, A.D.; Chasman, D.I.; Smith, A.M.; Tobin, M.D.; Verwoert, G.C.; Hwang, S.J.; et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature* 2011, 478, 103–109
50. Carey RM, Calhoun DA, Bakris GL, Brook RD, Daugherty SL, Dennison-Himmelfarb CR, et al. Resistant hypertension: detection, evaluation, and management: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension* 2018;72:e53–e90.
51. Franceschini, N., Reiner, A. P. & Heiss, G. Recent findings in the genetics of blood pressure and hypertension traits. *Am. J. Hypertens.* 24, 392–400 (2011).
52. Evangelou, E. et al. Genetic analysis of over 1 million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits. *Nat. Genet.* 50, 1412–1425 (2018).
53. Giri, A. et al. Trans-ethnic association study of blood pressure determinants in over 750,000 individuals. *Nat. Genet.* 51, 51–62 (2019).
54. Surendran, P. et al. Discovery of rare variants associated with blood pressure regulation through meta-analysis of 1.3 million individuals. *Nat. Genet.* 52, 1314–1332 (2020).
55. Cruz-Gonzalez, I. et al. An association between resistant hypertension and the null GSTM1 genotype. *J. Hum. Hypertens.* 23, 556–558 (2009).
56. Cruz-Gonzalez, I. et al. Association between -T786C NOS3 polymorphism and resistant hypertension: a prospective cohort study. *BMC Cardiovasc. Disord.* 9, 35 (2009).
57. Fontana, V. et al. Modulation of aldosterone levels by -344 C/T CYP11B2 polymorphism and spironolactone use in resistant hypertension. *J. Am. Soc. Hypertens.* 8, 146–151 (2014).
58. Hannila-Handelberg T, Kontula K, Tikkanen I, Tikkanen T, Fyhrquist F, Helin K, Fodstad H, Piipo K, Miettinen HE, Virtamo J, Krusius T, Sarna S, Gautschi I, Schild L, Hiltunen TP. Common variants of the beta and gamma subunits of the epithelial sodium channel and their relation to the plasma renin

- and aldosterone levels in essential hypertension. *BMC Medical Genetics*. 2005;6:4 doi:10.1186/1471-2350-6-4.
59. Givens RC, Lin YS, Dowling ALS, Thummel KE, Lamba JK, Schuetz EG, Stewart PW, Watkins PB. CYP3A5 genotype predicts renal CYP3A activity and blood pressure in healthy adults. *J Appl Physiol*. 2003;95: 1297-1300.]
  60. Ho H, Pinto A, Hall SD, Flockhart DA, Li L, Skaar TC, Cadman P, O'Connor DT, Wagner U, Fineberg NS, Weinberger MH. Association between CYP3A5 genotype and blood pressure. *Hypertension*. 2005;45:294-298
  61. Абдуллаева Г.Ж. Клинические и фармакогенетические аспекты солечувствительной артериальной гипертензии с учетом, генов регулирующих водно-солевой обмен. Докторская диссертация. Ташкент. 2018
  62. Fontana, V. et al. Large-scale gene-centric analysis identifies polymorphisms for resistant hypertension. *J. Am. Heart Assoc.* 3, e001398 (2014).
  63. Dumitrescu, L. et al. Genome-wide study of resistant hypertension identified from electronic health records. *PLoS ONE* 12, e0171745 (2017).
  64. Gong, Y. et al. PTPRD gene associated with blood pressure response to atenolol and resistant hypertension. *J. Hypertens.* 33, 2278-2285 (2015).
  65. El Rouby, N. et al. Genome-wide association analysis of common genetic variants of resistant hypertension. *Pharmacogenom. J.* 19, 295-304 (2018).
  66. Takahashi Y, Yamazaki K, Kamatani Y, Kubo M, Matsuda K, Asai S. A genome-wide association study identifies a novel candidate locus at the DLGAP1 gene with susceptibility to resistant hypertension in the Japanese population. *Sci Rep.* 2021 Sep 30;11(1):19497. doi: 10.1038/s41598-021-98144-z. PMID: 34593835; PMCID: PMC8484335.
  67. Freitas et al., 2007
  68. Gene variation in resistant hypertension: multilocus analysis of the angiotensin 1-converting enzyme, angiotensinogen, and endothelial nitric oxide synthase genes. Yugar-Toledo JC, Martin JF, Krieger JE, Pereira AC, Demacq C, Coelho OR, Pimenta E, Calhoun DA, Júnior HM. *DNA Cell Biol.* 2011 Aug;30(8):555-64. doi: 10.1089/dna.2010.1156. Epub 2011 Mar 27
  69. Meneton P, Jeunemaitre X, de Wardener HE, MacGregor GA. Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases// *Physiol Rev.*- 2005.- №85.-P. 679-715
  70. Hollenberg NK, Martinez G, McCullough M et al. Aging, acculturation, salt intake and hypertension in the Kuna of Panama// *Hypertens.*-1997.-№29 (1Pt2).-P. 171-6
  71. Cusi D, Barlassina C, Azzani T et al. Polymorphisms of adducin and salt-sensitivity in patients with essential hypertension// *Lancet.*-1997.-№349.-P. 1338-9
  72. Hunt SC, Cook NR, Oberman A, Cutler JA, Hennekens CH, Allender PS, et al. Angiotensinogen genotype, sodium reduction, weight loss, and prevention of hypertension: trials of hypertension prevention, phase II// *Hypertension.*-1998.- №32.-P. 393-401

73. Marlin DN, Andreu EP, Ramirez Lorca R et al. G-protein beta-3 subunit gene C825 T polymorphism: influence on plasma sodium and potassium concentrations in essential hypertensive patients// *Life Sci.*- 2005.-№77.-P. 2879-86
74. Lifton R.P., Gharavi A.G., Geller D.S. Molecular mechanisms of human hypertension// *Cell.*-2001.-104.-P. 545-556
75. Bianchi G, Fox U, DiFrancesco GF, Bardi U, Radice M. Hypertensive role of the kidney in spontaneously hypertensive rats// *Clin Sci Mol Med.*-1973.-№45(suppl 1).-P. 135-139;
76. Bianchi G, Tripodi G, Casari G, Salardi S, Barber BR, Garcia R, Leoni P, Torielli L, Cusi D, Ferrandi M, Pinna LA, Baralle FE, Ferrari P. Two point mutations within the adducin genes are involved in blood pressure variation// *Proc Natl Acad Sci U S A.*-1994.-№91.-P. 3999-4003;
77. Casari G, Barlassina C, Cusi D, Zagato L, Muirhead R, Righetti M, Nembri P, Amar K, Gatti M, Macchiardi F, Binelli G, Bianchi G. Association of the adducin locus with essential hypertension// *Hypertension.*-1995.-№25.-P. 320-326;
78. Cusi D, Barlassina C, Azzani T, Casari G, Citterio L, Devoto M, Glorioso N, Lanzani C, Manunta P, Righetti M, Rivera R, Stella P, Troffa C, Zagato L, Bianchi G. Polymorphisms of alpha-adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension// *Lancet.*- 1997.-№349.-P. 1353-1357
79. Grant F.D., Romero JR., Jeunmaite X., Hunt SC. et al. Low-renin hypertension, altered sodium homeostasis, and alpha-adducin polymorphism// *Hypertension.*- 2002.-39.- P. 191-196;
80. Clark CS., Davies E., Anderson NH. et al. Alpha-adducin and angiotensin converting enzyme polymorphisms in essential hypertension. *Hypertension.* - 2000. - V36. - P. 990-994
81. Величенко Е.В., Автандилов А.Г., Рябов Г.С., Бобков А.Ф. Роль полиморфизма гена бета 3-субъединицы G-протеина в формировании диастолической дисфункции левого желудочка у пациентов с артериальной гипертензией// *Российские медицинские вести: Науч.-практ. Журн. для клиницистов.*- 2005.- №10(1).- С. 47-52
82. Kato N., Sugiyama T., Nabika T. et al. Lack of Association Between the alpha-Adducin Locus and Essential Hypertension in the Japanese Population// *Hypertension.*-1998.-№31.-P. 730-733
83. Strazzullo P., Galletti F., Barba G. Altered renal handling of sodium in human hypertension// *Hypertension.*-2003.-№41.-P. 1000-1005
84. Zhao X., Pollock D.M., Zeldin D.C., Imig J.D. Salt-sensitive hypertension after exposure to angiotensin is associated with inability to upregulate renal epoxide hydrolases// *Hypertension.*-2003.-№42.-P. 775-780
85. Nakagawa K., Holla V.R., Wei Y. et al. Salt-sensitive hypertension is associated with dysfunctional Cyp4A10 gene and kidney epithelial sodium channel// *J Clin invest.*-2006.-№116.-P. 1696-702
86. Hunt SC, Cook NR, Oberman A, Cutler JA, Hennekens CH, Allender PS, et al. Angiotensinogen genotype, sodium reduction, weight loss, and prevention

- of hypertension: trials of hypertension prevention, phase II// *Hypertension*.- 1998.- №32.-P. 393–401
87. Fernandez-Llama P, Poch E, Oriola J, Botey A, Rivera F, Revert L. Angiotensinogen gene M235T and T174M polymorphisms in essential hypertension: relation with target organ damage// *Am J Hypertens*. - 1998. - № 11.- P. 439–444
  88. Brand E., Chatelain N., Mulatero P., Fery I., Curnow K. et al. Structural analysis and evaluation of the aldosterone synthase gene in hypertension// *Hypertension*. - 1998. - №32. - P. 198-204
  89. Langae TY, Gong Y, Yarandi HN, Katz DA, Cooper-DeHoff RM, Pepine CJ, Johnson JA. Association of CYP3A5 polymorphisms with hypertension and antihypertensive response to verapamil// *Clinical Pharm Therap*.- 2007.- №81.- P. 386-391
  90. Barlassina C., Dal Fiume Ch., Lanzani Ch., Manunta P. Common genetic variants and haplotypes in renal CLCNKA gene are associated to salt-sensitive hypertension // *Human Molecular Genetics*. - 2007.- Vol. 16.- No.13.- P. 1630–1638
  91. Manunta P., Lavery G., Lanzani Ch. et al. Physiological Interaction Between  $\alpha$ -Adducin and WNK1-NEDD4L Pathways on Sodium-Related Blood Pressure Regulation// *Hypertension*. -2008.-№52.-P. 366-372
  92. Lynch A.I., Boerwinkle E., Davis B.R. Pharmacogenetic association of the NPPA T2238C genetic variant with cardiovascular disease outcomes in patients with hypertension// *JAMA*.-2009.-№302(10).-P. 1057-8
  93. Liu K., Liu J., Huang Y. et al. Alpha-Adducin Gly460Trp Polymorphism and Hypertension Risk: A Meta-Analysis of 22 Studies Including 14303 Cases and 15961 Controls// *PLoS ONE*.-2010.- №5(9): e13057. doi:10.1371
  94. Martinez E., Puras A., Escribano J., et al. Threonines at position 174 and 235 of the angiotensinogen polypeptide chain are related to familial history of hypertension in a Spanish-Mediterranean population// *Br J Biomed Sci*. – 2002. - №59 (2). - P. 95-100
  95. Турсунова Н.Б. Кардиопротективная эффективность эналаприла и эпросартана у больных эссенциальной гипертензией в связи с M235T полиморфизмом гена ангиотензиногена. Кандидатская диссертация. Ташкент. 2008
  96. Buikema H., Pinto Y.M., Rooks G. et al. The insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is related to phenotypic differences in human arteries// *Eur Heart J*. – 1996. - №7. - P. 787-794
  97. Jacobi J., Schlaich M.P., Delles C., Schobel H.P., Schmieder R.E. Angiotensin II stimulates left ventricular hypertrophy in hypertensive patients independently of blood pressure// *Am. J. Hypertens*. – 1999. - №12 (4). - P. 418-422
  98. Vasan RS, Evans JC, Benjamin EJ, Levy D, Larson MG, Sundstrom J, Murabito JM, Sam F, Colucci WS, Wilson PW. Relations of serum aldosterone to cardiac structure: gender-related differences in the Framingham Heart Study// *Hypertension*. – 2004. - №43 (5). - P. 957-962

99. Davies E., Holloway C.D., Ingram M.C., Inglis G.C., Friel E.C. et al. Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene CYP11B2// *Hypertension*. – 1999. - №33. – P. 703-707
100. Kumar N.N., Benjafield A.V., Lin R.C., Wang W.Y. Haplotype analysis of aldosterone synthase gene (CYP11B2) polymorphisms shows association with essential hypertension// *J. Hypertens.* – 2003. -№ 21 (7). - P. 1331-1337
101. Markku Kupari M., Hautanen A., Lankinen L. et al. Associations Between Human Aldosterone Synthase (CYP11B2) Gene Polymorphisms and Left Ventricular Size, Mass, and Function// *Circulation*. -1998.-№97.-P. 569-575
102. Benjafield A.V., Jeyasingam C.L., Nyholt D.R. et al. G-protein  $\beta 3$  subunit gene (GNB3) variant in causation of essential hypertension// *Hypertension*. – 1998. -№32. – P. 1094-1097
103. Khamidulaeva G.A., Eliseyeva M.R., Nagay AV., Abdulaeva G.D. C825T polymorphism of the G-protein  $\beta 3$ -Subunit and association with Essential Hypertension in Uzbek population // *Turk Kardiyol Dern Ars.* – 2011. – № 39 (3). – P. 198-204
104. El Rouby N, Mcdonough CW, Gong Y, McClure LA, MitchellBD, Horenstein RB, et al. Genome-wide association analysis of common genetic variants of resistant hypertension. *Pharmacogenomics J.* 2019;19:295–304.
105. Irvin MR, Sitlani CM, Floyd JS, Psaty BM, Bis JC, WigginsKL, et al. Genome-wide association study of apparent treatment-resistant hypertension in the CHARGE consortium: the CHARGE pharmacogenetics working group. *Am J Hypertens.* 2019;32:1146–53.
106. Waterland RA, Jirtle RL. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition.* 2004;20:63–8.
107. Evangelou E, Warren HR, Mosen-Ansorena D, Mifsud B, Pazoki R, Gao H, et al. Genetic analysis of over 1 million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits. *Nat Genet.* 2018;50:1412–25.
108. Waterland RA, Jirtle RL. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition.* 2004;20:63–8.
109. Cowley AW, Nadeau JH, Baccarelli A, Berecek K, Fornage M, Gibbons GH, et al. Report of the national heart, lung, and blood institute working group on epigenetics and hypertension. *Hypertens.* 2012;59:899–905.
110. Richard MA, Huan T, Lighthart S, Gondalia R, Jhun MA, Brody JA, et al. DNA methylation analysis identifies loci for blood pressure regulation. *Am J Hum Genet.* 2017;101:888–902.
111. Kazmi N, Elliott HR, Burrows K, Tillin T, Hughes AD, Chaturvedi N, et al. Associations between high blood pressure and DNA methylation. *PLoS One.* 2020;15:e0227728.87 Fan S, Huang K, Ai R, Wang M, Wang W.

- Predicting CpG methylation levels by integrating Infinium Human-Methylation450 BeadChip array data. *Genomics*. 2016;107:132–7.
112. Lai F, Shiekhattar R. Where long noncoding RNAs meet DNAmethylation. *Cell Res*. 2014;24:263–4.
  113. Fu L, Zhang M, Hu Y-Q, Zhao X, Cheng H, Hou D, et al. Gene-gene interactions and associations of six hypertension-related single nucleotide polymorphisms with obesity risk in a Chinese children population. *Gene*. 2018;679:320–7.
  114. Zhang H, Jin L, Mu T, Fan Y, Zhang H, Zhu Y, et al. Associations of CYP4A11 gene-gene and gene-smoking interactions with essential hypertension in the male eastern Chinese Han population. *Clin Exp Hypertens*. 2017;39:448–53.
  115. Meng Y, Groth S, Quinn JR, Bisognano J, Wu TT. An exploration of gene-gene interactions and their effects on hypertension. *Int J Genomics*. 2017;2017:7208318.
  116. Rao DC, Sung YJ, Winkler TW, Schwander K, Borecki I, Cupples LA, et al. Multi-ancestry study of gene-lifestyle interactions for cardiovascular traits in 610 475 individuals from 124 cohorts: design and rationale. *Circ Cardiovasc Genet*. 2017;10:e001649.
  117. Sung YJ, De Las Fuentes L, Winkler TW, Chasman DI, Bentley AR, Kraja AT, et al. A multi-ancestry genome-wide study incorporating gene-smoking interactions identifies multiple new loci for pulse pressure and mean arterial pressure. *Hum Mol Genet*. 2019;28:2615–33.
  118. Simino J, Sung YJ, Kume R, Schwander K, Rao DC. Gene-allele interactions identify several novel blood pressure loci including a promising locus near SLC16A9. *Front Genet*. 2013;4:277.
  119. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007;447:661–78.
  120. Newton-Cheh C, Johnson T, Gateva V, Tobin MD, Bochud M, Coin L, et al. Genome-wide association study identifies eight loci associated with blood pressure. *Nat Genet*. 2009;41:666–76.
  121. Levy D, Ehret GB, Rice K, Verwoert GC, Launer LJ, Dehghan A, et al. Genome-wide association study of blood pressure and hypertension. *Nat Genet*. 2009;41:677–87.
  122. Johnson AD, Newton-Cheh C, Chasman DI, Ehret GB, Johnson T, Rose L, et al. Association of hypertension drug target genes with blood pressure and hypertension in 86 588 individuals. *Hypertension*. 2011;57:903–10.
  123. Wain LV, Verwoert GC, O'reilly PF, Shi G, Johnson T, Johnson AD, et al. Genome-wide association study identifies six new loci influencing pulse pressure and mean arterial pressure. *Nat Genet*. 2011;43:1005–11.
  124. Levy D, Larson MG, Benjamin EJ, Newton-Cheh C, Wang TJ, Hwang S-J, et al. Framingham Heart Study 100K Project: genome-wide associations for blood pressure and arterial stiffness. *BMC Med Genet*. 2007;8(Suppl 1):S3.

125. Visscher PM, Wray NR, Zhang Q, Sklar P, McCarthy MI, Brown MA, et al. 10 years of GWAS discovery: biology, function, and translation. *Am J Hum Genet.* 2017;101:5–22.
126. Kohara K, Tabara Y, Nakura J, Imai Y, Ohkubo T, Hata A, et al. Identification of hypertension-susceptibility genes and pathways by a systemic multiple candidate gene approach: the millennium genome project for hypertension. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens.* 2008;31:203–12.
127. Cho YS, Go MJ, Kim YJ, Heo JY, Oh JH, Ban H-J, et al. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nat Genet.* 2009;41:527–34.
128. Magavern EF, Warren HR, Ng FL, Cabrera CP, Munroe PB, Caulfield MJ. An academic clinician's road map to hypertension genomics: recent advances and future directions MMXX. *Hypertens.* 2021;77:284–95.
129. 1000 Genomes Project Consortium, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature.* 2015;526:68–74.
130. McCarthy S, Das S, Kretzschmar W, Delaneau O, Wood AR, Teumer A, et al. A reference panel of 64,976 haplotypes for genotype imputation. *Nat Genet.* 2016;48:1279–83.
131. Bycroft C, Freeman C, Petkova D, Band G, Elliott LT, Sharp K, et al. The UK Biobank resource with deep phenotyping and genomic data. *Nature.* 2018;562:203–9.
132. Surendran P, Feofanova EV, Lahrouchi N, Ntalla I, Karthikeyan S, Cook J, et al. Discovery of rare variants associated with blood pressure regulation through meta-analysis of 1.3 million individuals. *Nat Genet.* 2020;52:1314–32.
133. Liu C, Kraja AT, Smith JA, Brody JA, Franceschini N, Bis JC, et al. Meta-analysis identifies common and rare variants influencing blood pressure and overlapping with metabolic trait loci. *Nat Genet.* 2016;48:1162–70.
134. Evangelou E, Warren HR, Mosen-Ansorena D, Mifsud B, Pazoki R, Gao H, et al. Genetic analysis of over 1 million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits. *Nat Genet.* 2018;50:1412–25.
135. Guo Y, He J, Zhao S, Wu H, Zhong X, Sheng Q, et al. Illumina human exome genotyping array clustering and quality control. *Nat Protoc.* 2014;9:2643–62.
136. Mills MC, Rahal C. The GWAS diversity monitor tracks diversity by disease in real time. *Nat Genet.* 2020;52:242–3.
137. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart disease and stroke statistics—2019 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2019;139:e56–528.
138. Manrai AK, Funke BH, Rehm HL, Olesen MS, Maron BA, Szolovits P, et al. Genetic misdiagnoses and the potential for health disparities. *N Engl J Med.* 2016;375:655–65.
139. Liang J, Le TH, Edwards DRV, Tayo BO, Gaulton KJ, Smith JA, et al. Single-trait and multi-trait genome-wide association analyses identify novel

- loci for blood pressure in African-ancestry populations. *PLoS Genet.* 2017;13:e1006728.
140. Martin AR, Kanai M, Kamatani Y, Okada Y, Neale BM, Daly MJ. Clinical use of current polygenic risk scores may exacerbate health disparities. *Nat Genet.* 2019;51:584–91.
  141. Gurdasani D, Carstensen T, Fatumo S, Chen G, Franklin CS, Prado-Martinez J, et al. Uganda genome resource enables insights into population history and genomic discovery in Africa. *Cell.* 2019;179:984–1002.e36.
  142. Ishigaki K, Akiyama M, Kanai M, Takahashi A, Kawakami E, Sugishita H, et al. Large-scale genome-wide association study in a Japanese population identifies novel susceptibility loci across different diseases. *Nat Genet.* 2020;52:669–79.
  143. Torkamani A, Wineinger NE, Topol EJ. The personal and clinical utility of polygenic risk scores. *Nat Rev Genet.* 2018;19:581–90.
  144. S6nez Tdhtisalo H, Ruotsalainen S, Mars N, Porthan K, Oikarinen L, Virolainen J, et al. Human essential hypertension: no significant association of polygenic risk scores with antihypertensive drug responses. *Sci Rep.* 2020;10: 11940.
  145. Duncan L, Shen H, Gelaye B, Meijssen J, Ressler K, Feldman M, et al. Analysis of polygenic risk score usage and performance in diverse human populations. *Nat Commun.* 2019;10:3328.
  146. Burgess S, Scott RA, Timpson NJ, Davey Smith G, Thompson SG, EPIC- InterAct Consortium. Using published data in Mendelian randomization: a blueprint for efficient identification of causal risk factors. *Eur J Epidemiol.* 2015;30:543–52.
  147. Walker VM, Kehoe PG, Martin RM, Davies NM. Repurposing antihypertensive drugs for the prevention of Alzheimer’s disease: a Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol.* 2020;49:1132–40.
  148. Richardson TG, Hemani G, Gaunt TR, Relton CL, Davey Smith G. A transcriptome-wide Mendelian randomization study to uncover tissue-dependent regulatory mechanisms across the human phenome. *Nat Commun.* 2020;11:185.
  149. International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies, Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, Bochud M, Johnson AD, et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature.* 2011;478:103–9.
  150. Bai X, Lenhart KC, Bird KE, Suen AA, Rojas M, Kakoki M, et al. The smooth muscle-selective RhoGAP GRAF3 is a critical regulator of vascular tone and hypertension. *Nat Commun.* 2013;4:2910.
  151. Dee RA, Bai X, Mack CP, Taylor JM. Molecular regulation of the RhoGAP GRAF3 and its capacity to limit blood pressure in vivo. *Cells.* 2020;9:1042.
  152. Takeuchi F, Isono M, Katsuya T, Yamamoto K, Yokota M, Sugiyama T, et al. Blood pressure and hypertension are associated with 7 loci in the Japanese population. *Circulation.* 2010;121:2302–9.

153. Kato N, Takeuchi F, Tabara Y, Kelly TN, Go MJ, Sim X, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies common variants associated with blood pressure variation in east Asians. *Nat Genet.* 2011;43:531–8.
154. Yokota K, Shibata H, Kurihara I, Kobayashi S, Murai-Takeda A, Itoh H. CASZ1b is a novel transcriptional corepressor of mineralocorticoid receptor. *Hypertens Res Off Jpn Soc Hypertens.* 2021;44:407–16.
155. Burnier M, Forni V. Endothelin receptor antagonists: a place in the management of essential hypertension? *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27:865–8.
156. Абдуллаева Г.Ж. Клинические и фармакогенетические аспекты солечувствительной артериальной гипертензии с учетом генов, регулирующих водно-солевой обмен. Автореферат докторской диссертации. 2018
157. Kh. Kh. Ataniyazov, G. A. Khamidullaeva, G. Zh. Abdullaeva, A.G. Kevorkov, D. Zakirova. Clinical and Genetic Features of Uncontrolled, Complicated Arterial Hypertension in Hypertensive Patients of the Aral Sea Region. *International Journal of Biomedicine* 2022; 12(3): 360-366
158. Masharipov ShM, Abdullaeva GJ, Khamidullaeva GA, Zakirova DV, Abdullaev AA. Association of AGT (T704C) and NOS (G894T) Gene Polymorphisms with Treatment-Resistant Hypertension in the Uzbek Population. *International Journal of Biomedicine.* 2023;13(2):210-216. doi:10.21103/Article13(2)\_OA1
159. Lu et al.(2014)
160. Singh et al (2018)
161. Abifadel M<sup>1</sup>, Rabès JP, Devillers M, Munnich A, Erlich D, Junien C, Varret M, Boileau C. Mutations and polymorphisms in the proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) gene in cholesterol metabolism and disease. *Hum Mutat.* 2009 Apr;30(4):520-9. doi: 10.1002/humu.20882.
162. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, Cruaud C, Benjannet S, Wickham L, Erlich D, Derre A, Villeger L, Farnier M, Beucler I, Bruckert E, Chambaz J, Chanu B, Lecerf JM, Luc G, Moulin P, Weissenbach J, Prat A, Krempf M, Junien C, Seidah NG, Boileau C. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. 2003 *Nat Genet* 34:154-156
163. Lakoski SG, Lagace TA, Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Genetic and metabolic determinants of plasma PCSK9 levels. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2009. - № 94 (July (7)). – P. 2537–43.
164. Pott J, Schlegel V, Teren A, Horn K, Kirsten H, Bluecher C, Kratzsch J, Loeffler M, Thiery J, Burkhardt R, Scholz M. Genetic Regulation of PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9) Plasma Levels and Its Impact on Atherosclerotic Vascular Disease Phenotypes. *Circ Genom Precis Med.* 2018; 11: e001992. DOI: 10.1161/CIRCGEN.117.001992
165. Zhao Z, Tuakli-Wosornu Y, Lagace TA, Kinch L, Grishin NV, Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Molecular characterization of loss-of-function

- mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote. *Am J Hum Genet* 2006 79:514-523
166. Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH. 2005 Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat Genet* 37:161–165
  167. Kotowski IK, Pertsemlidis A, Luke A, Cooper RS, Vega GL, Cohen JC, Hobbs HH 2006 A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low density lipoprotein cholesterol. *Am J Hum Genet* 78:410–422.
  168. Chen SN, Ballantyne CM, Gotto AM, Tan Y, Willerson JT, Marian AJ: A common PCSK9 haplotype, encompassing the E670G coding single nucleotide polymorphism, is a novel genetic marker for plasma low-density lipoprotein cholesterol levels and the severity of coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2005, 45:1611-1619.
  169. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, Wiklund O, Hegele RA, Raal FJ, Defesche JC, et al., European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease; consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J* 2013; 34:3478–3490
  170. Versmissen J, Oosterveer DM, Yazdanpanah M, Defesche JC, Basart DC, Liem AH, et al. Efficacy of statins in familial hypercholesterolaemia: a long term cohort study. *BMJ*. 2008;337:a2423.
  171. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2008;29:270-6.
  172. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2006;113:1807-16.
  173. Sen Chowdry S, Syrris P, McKenna WJ. Role of genetic analysis in the management of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1813–1821.
  174. Sen Chowdry S, Syrris P, Ward D, et al. Clinical and genetic characterization of families with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy provides novel insights into patterns of disease expression. *Circulation* 2007;115:1710–1720
  175. Курбанов Н.А. Идиопатическая дилатационная кардиомиопатия: клинико-функциональные особенности отдельных вариантов, иммуно-генетическая картина и прогноз жизни больных. Докторская диссертация. 2018 г.

176. Andalib A., Brugada R., Nattel S. Atrial fibrillation: evidence for genetically determined disease. *Curr. Opin. Cardiol.* 2008;23:176-83
177. Olesen M.S., Holst A.G., Jabbari J. et al. Genetic loci on chromosomes 4q25, 7p31, and 12p12 are associated with onset of lone atrial fibrillation before the age of 40 years. *Can. J. Cardiol.* 2012; 28: 191-195;
178. Shoemaker B.M., Muhammad R., Parvez B. et al. Common atrial fibrillation risk alleles at 4q25 predict recurrence after catheter-based atrial fibrillation ablation. *Heart Rhythm.* 2013;10:394-400
179. Roselli C., Rienstra M., Ellinor P. Genetics of Atrial Fibrillation in 2020. GWAS, Genome Sequencing, Polygenic Risk, and Beyond. *Circulation Research.* 2020; 127:21–33. doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.316575
180. Chen YH, Xu SJ, Bendahhou S, Wang XL, Wang Y, Xu WY, Jin HW, Sun H, Su XY, Zhuang QN, Yang YQ, Li YB, Liu Y, Xu HJ, Li XF, Ma N, Mou CP, Chen Z, Barhanin J, Huang W. KCNQ1 gain-of-function mutation in familial atrial fibrillation. *Science.* 2003 Jan 10;299(5604):251-4. doi: 10.1126/science.1077771. PMID: 12522251.
181. Darbar D, Herron KJ, Ballew JD, Jahangir A, Gersh BJ, Shen WK, Hammill SC, Packer DL, Olson TM. Familial atrial fibrillation is a genetically heterogeneous disorder. *J Am Coll Cardiol.* 2003 Jun 18;41(12):2185-92. doi: 10.1016/s0735-1097(03)00465-0. PMID: 12821245.
182. Wang Q, Curran ME, Splawski I, Burn TC, Millholland JM, VanRaay TJ, Shen J, Timothy KW, Vincent GM, de Jager T, Schwartz PJ, Toubin JA, Moss AJ, Atkinson DL, Landes GM, Connors TD, Keating MT. Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias. *Nat Genet.* 1996 Jan;12(1):17-23. doi: 10.1038/ng0196-17. PMID: 8528244.
183. Giustetto C, Di Monte F, Wolpert C, Borggreffe M, Schimpf R, Sbragia P, Leone G, Maury P, Anttonen O, Haissaguerre M, Gaita F. Short QT syndrome: clinical findings and diagnostic-therapeutic implications. *Eur Heart J.* 2006 Oct;27(20):2440-7. doi: 10.1093/eurheartj/ehl185. Epub 2006 Aug 22. PMID: 16926178.
184. Gollob MH, Redpath CJ, Roberts JD. The short QT syndrome: proposed diagnostic criteria. *J Am Coll Cardiol.* 2011 Feb 15;57(7):802-12. doi: 10.1016/j.jacc.2010.09.048. PMID: 21310316.
185. Lundby A, Ravn LS, Svendsen JH, Olesen S-P, Schmitt N. KCNQ1 mutation Q147R is associated with atrial fibrillation and prolonged QT interval. *Heart Rhythm.* 2007;4:1532–41.
186. Yang Y, Xia M, Jin Q, Bendahhou S, Shi J, Chen Y, Liang B, Lin J, Liu Y, Liu B, Zhou Q, Zhang D, Wang R, Ma N, Su X, Niu K, Pei Y, Xu W, Chen Z, Wan H, Cui J, Barhanin J, Chen Y. Identification of a KCNE2 gain-of-function mutation in patients with familial atrial fibrillation. *Am J Hum Genet.* 2004;75:899–905

187. Tinel N, Diochot S, Borsotto M, Lazdunski M, Barhanin J. KCNE2 confers background current characteristics to the cardiac KCNQ1 potassium channel. *EMBO J.* 2000;19:6326–30.
188. Roberts JD, Krahn AD, Ackerman MJ, Rohatgi RK, Moss AJ, Nazer B, Tadros R, Gerull B, Sanatani S, Wijeyeratne YD, Baruteau A-E, Muir AR, Pang B, Cadrin-Tourigny J, Talajic M, Rivard L, Tester DJ, Liu T, Whitman IR, Wojciak J, Conacher S, Gula LJ, Leong-Sit P, Manlucu J, Green MS, Hamilton R, Healey JS, Lopes CM, Behr ER, Wilde AA, Gollob MH, Scheinman MM. Loss-of-function KCNE2 variants: true monogenic culprits of long-QT syndrome or proarrhythmic variants requiring secondary provocation? *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2017;10:e005282. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.117.005282>.
189. Xia M, Jin Q, Bendahhou S, He Y, Larroque M-M, Chen Y, Zhou Q, Yang Y, Liu Y, Liu B, Zhu Q, Zhou Y, Lin J, Liang B, Li L, Dong X, Pan Z, Wang R, Wan H, Qiu W, Xu W, Eurlings P, Barhanin J, Chen Y. A Kir2.1 gain-of-function mutation underlies familial atrial fibrillation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;332:1012–9.
190. Plaster NM, Tawil R, Tristani-Firouzi M, Canún S, Bendahhou S, Tsunoda A, Donaldson MR, Iannaccone ST, Brunt E, Barohn R, Clark J, Deymeer F, George AL, Fish FA, Hahn A, Nitu A, Ozdemir C, Serdaroglu P, Subramony SH, Wolfe G, Fu YH, Ptáček LJ. Mutations in Kir2.1 cause the developmental and episodic electrical phenotypes of Andersen's syndrome. *Cell.* 2001;105:511
191. Lee K.T., Yeh H.Y., Tung C.P. et al. Association of RS2200733 but not RS10033464 on 4q25 with atrial fibrillation based on the recessive model in a Taiwanese population. *Cardiology.* 2010; 116: 151-156
192. Ferran A., Alegret J.M., Subirana I. et al. Association Between rs2200733 and rs7193343 Genetic Variants and Atrial Fibrillation in Spanish Population, and Meta-analysis of Previous Studies. *Rev. Esp. Cardiol.* 2014;67(10):822-829
193. Tum, T. et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature* 456, 980–984, <https://doi.org/10.1038/nature07511> (2008)
194. Gudbjartsson D.F., Arnar D.O., Helgadottir A. et al. Variants conferring risk of atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Nature* 2007;448(7151):353-7;
195. Käb S., Darbar D., Van Noord C. et al. Large scale replication and meta-analysis of variants on chromosome 4q25 associated with atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2009;30(7):813-19
196. Gaita F, Giustetto C, Bianchi F, Wolpert C, Schimpf R, Riccardi R, Grossi S, Richiardi E, Borggrefe M. Short QT syndrome a familial cause of sudden death. *Circulation.* 2003;108:965–70.
197. Hong K, Bjerregaard P, Gussak I, Brugada R. Short QT syndrome and atrial fibrillation caused by mutation in KCNH2. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2005;16:394–6.

198. Brugada R, Hong K, Dumaine R, Cordeiro J, Gaita F, Borggrefe M, Menendez TM, Brugada J, Pollevick GD, Wolpert C, Burashnikov E, Matsuo K, Wu YS, Guerchicoff A, Bianchi F, Giustetto C, Schimpf R, Brugada P, Antzelevitch C. Sudden death associated with short-QT syndrome linked to mutations in HERG. *Circulation*. 2004;109:30–5.
199. Bellocq C, van Ginneken ACG, Bezzina CR, Alders M, Escande D, Mannens MMAM, Baró I, Wilde AAM. Mutation in the KCNQ1 gene leading to the short QT-interval syndrome. *Circulation*. 2004;109:2394–7.
200. Priori SG, Pandit SV, Rivolta I, Berenfeld O, Ronchetti E, Dhamoon A, Napolitano C, Anumonwo J, di Barletta MR, Gudapakkam S, Bosi G, Stramba-Badiale M, Jalife J. A novel form of short QT syndrome (SQT3) is caused by a mutation in the KCNJ2 gene. *Circ Res*. 2005;96:800–7.
201. Antzelevitch C, Pollevick GD, Cordeiro JM, Casis O, Sanguinetti MC, Aizawa Y, Guerchicoff A, Pfeiffer R, et al. Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death. *Circulation*. 2007;115:442–9.
202. Templin C, Ghadri J-R, Rougier J-S, Baumer A, Kaplan V, Albasa M, Sticht H, Rauch A, Puleo C, Hu D, Barajas-Martinez H, Antzelevitch C, Lüscher TF, Abriel H, Duru F. Identification of a novel loss-of-function calcium channel gene mutation in short QT syndrome (SQTS6). *Eur Heart J*. 2011;32:1077–88.
203. Deo M, Ruan Y, Pandit SV, Shah K, Berenfeld O, Blaufox A, Cerrone M, Noujaim SF, Denegri M, Jalife J, Priori SG. KCNJ2 mutation in short QT syndrome 3 results in atrial fibrillation and ventricular proarrhythmia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110:4291–6.
204. Gudbjartsson DF, Arnar DO, Helgadóttir A, Gretarsdóttir S, Holm H, Sigurdsson A, Jonasdóttir A, Baker A, et al. Thorsteinsdóttir U, Stefansson K. Variants conferring risk of atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Nature*. 2007;448:353–7.
205. Benjamin EJ, Rice KM, Arking DE, Pfeufer A, van Noord C, Smith AV, Schnabel RB, Bis JC, Boerwinkle E, Sinner MF, Dehghan A, Lubitz SA, D’Agostino RB, Lumley T, et al. Variants in ZFHX3 are associated with atrial fibrillation in individuals of European ancestry. *Nat Genet*. 2009;41:879–81.
206. Gudbjartsson DF, Holm H, Gretarsdóttir S, Thorleifsson G, Walters GB, Thorgeirsson G, Gulcher J, Mathiesen EB, et al. A sequence variant in ZFHX3 on 16q22 associates with atrial fibrillation and ischemic stroke. *Nat Genet*. 2009;41:876–8.
207. Burgner D, Davila S, Breunis WB, Ng SB, Li Y, Bonnard C, Ling L, Wright VJ, Thalamuthu A, Odam M, Shimizu C, Burns JC, Levin M, Kuijpers TW, Hibberd ML. International Kawasaki Disease Genetics Consortium. A genome-wide association study identifies novel and functionally related susceptibility Loci for Kawasaki disease. *PLoS Genet*. 2009;5:e1000319.

208. Ellinor PT, Lunetta KL, Glazer NL, Pfeufer A, Alonso A, Chung MK, Sinner MF, et al. Common variants in *KCNN3* are associated with lone atrial fibrillation. *Nat Genet.* 2010;42:240–4.
209. Ellinor PT, Lunetta KL, Albert CM, Glazer NL, Ritchie MD, Smith AV, Arking DE, Müller-Nurasyid M, et al. Meta-analysis identifies six new susceptibility loci for atrial fibrillation. *Nat Genet.* 2012;44:670–5.
210. Sinner MF, Tucker NR, Lunetta KL, Ozaki K, Smith JG, Trompet S, Bis JC, Lin H, et al. Integrating genetic, transcriptional, and functional analyses to identify 5 novel genes for atrial fibrillation. *Circulation.* 2014;130:1225–35.
211. Low S-K, Takahashi A, Ebana Y, Ozaki K, Christophersen IE, Ellinor PT, AFGen Consortium, Ogishima S, Yamamoto M, Satoh M, Sasaki M, Yamaji T, Iwasaki M, Tsugane S, Tanaka K, Naito M, Wakai K, Tanaka H, Furukawa T, Kubo M, Ito K, Kamatani Y, Tanaka T. Identification of six new genetic loci associated with atrial fibrillation in the Japanese population. *Nat Genet.* 2017 [cited 2017 May 18];advance online publication. Available from: [http://www.nature.com/ng/journal/vaop/ncurrent/full/ng.3842.html?WT.feed\\_name=subjects\\_biological-sciences](http://www.nature.com/ng/journal/vaop/ncurrent/full/ng.3842.html?WT.feed_name=subjects_biological-sciences)
212. Christophersen IE, Rienstra M, Roselli C, Yin X, Geelhoed B, Barnard J, Lin H, Arking DE, Smith AV, Albert CM, Chaffin M, Tucker NR, Li M, Klarin D, Bihlmeyer NA, Low S-K, Weeke PE, Müller-Nurasyid M, Smith JG, Brody JA, et al. Large-scale analyses of common and rare variants identify 12 new loci associated with atrial fibrillation. *Nat Genet.* 2017;49:946–52.
213. Roselli C, Chaffin MD, Weng L-C, Aeschbacher S, Ahlberg G, Albert CM, Almgren P, Alonso A, et al. Multi-ethnic genome-wide association study for atrial fibrillation. *Nat Genet.* 2018;50:1225–33.
214. Nielsen JB, Thorolfsdottir RB, Fritsche LG, Zhou W, Skov MW, Graham SE, Herron TJ, Mc Carthy S, Schmidt EM, Sveinbjornsson G, Surakka I, Mathis MR, et al. Biobank-driven genomic discovery yields new insight into atrial fibrillation biology. *Nat Genet.* 2018;50:1234–9
215. Ye J, Tucker NR, Weng L-C, Clauss S, Lubitz SA, Ellinor PT. A functional variant associated with atrial fibrillation regulates *PITX2c* expression through *TFAP2a*. *Am J Hum Genet.* 2016;99:1281–91.
216. Hsu J, Gore-Panter S, Tchou G, Castel L, Lovano B, Moravec CS, Pettersson GB, Roselli EE, Gillinov AM, McCurry KR, Smedira NG, Barnard J, Van Wagoner DR, Chung MK, Smith JD. Genetic control of left atrial gene expression yields insights into the genetic susceptibility for atrial fibrillation. *Circ Genomic Precis Med.* 2018;11:e002107.
217. Roberts JD. Noncoding genetic variation and gene expression: deciphering the molecular drivers of genome-wide association study signals in atrial fibrillation. *Circ Genomic Precis Med.* 2018;11:e002109.
218. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, Calkins H, Camm AJ, Ellinor PT, Gollob M, Hamilton R, Hershberger RE, Judge DP, Le Marec H, McKenna WJ, Schulze-Bahr E, Semsarian C, Towbin JA, Watkins H, Wilde A, Wolpert C, Zipes DP. HRS/EHRA expert consensus statement

- on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart Rhythm*. 2011;8:1308–39.
219. Roberts JD, Gollob MH. Impact of genetic discoveries on the classification of lone atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:705–12.
  220. Peng W, Li M, Li H, Tang K, Zhuang J, Zhang J, Xiao J, Jiang H, Li D, Yu Y, Sham PC, Nattel S, Xu Y. Dysfunction of myosin light-chain 4 (MYL4) leads to heritable atrial cardiomyopathy with electrical, contractile, and structural components: evidence from genetically-engineered rats. *J Am Heart Assoc*. 2017;6:007030.
  221. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, Berul C, Brugada R, Calkins H, Camm AJ, Ellinor PT, Gollob M, Hamilton R, Hershberger RE, Judge DP, Le Marec H, McKenna WJ, Schulze-Bahr E, Semsarian C, Towbin JA, Watkins H, Wilde A, Wolpert C, Zipes DP. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart Rhythm*. 2011;8:1308–39.
  222. Abdullaeva G.J., Abdullaev A.A., Kevorkov A.G., Abduvalieva G.A., Zakirov N.U., Kurbanov R.D. INTERRELATION BETWEEN rs2200733 POLYMORPHISM OF ATFB5 GENE AND ATRIAL FIBRILLATION IN UZBEK PATIENTS. *Turk Kardiyol Dem Ars* 2021;49(5):404-409 doi: 10.5543/tkda.2021.08434
  223. G. M. Radzhabova, G. Zh. Abdullaeva, D. V. Zakirova, M. T. Pulatova, N. Kh. Sherbadalova, M. N. Khatamova, Z. T. Mashkurova, N. N. Ibrokhimov, A. A. Abdullaev, M. A. Sadulloeva. The 4q25/PITX2 SNP rs6817105 and Atrial Fibrillation in Uzbek Patients with Arterial Hypertension *International Journal of Biomedicine*. 2023;13(3):72-78. DOI: 0.21103/Article13(3)\_OA3Originally published September 5, 2023
  224. Chen Q, Kirsch GE, Zhang D, Brugada R, Brugada J, Brugada P, et al. Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature*. 1998;392(6673):293–6.
  225. Sarquella-Brugada G, Campuzano O, Arbelo E, Brugada J, Brugada R. Brugada syndrome: clinical and genetic findings. *Genet Med*. 2016;18(1):3–12
  226. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405–24.
  227. Amendola LM, Jarvik GP, Leo MC, McLaughlin HM, Akkari Y, Amaral MD, et al. Performance of ACMG-AMP variant-interpretation

- guidelines among nine Laboratories in the Clinical Sequencing Exploratory Research Consortium. *Am J Hum Genet.* 2016;98(6):1067–76.
228. Selga E, Campuzano O, Pinsach-Abuin ML, Perez-Serra A, Mademont-Soler I, Riuro H, et al. Comprehensive genetic characterization of a Spanish Brugada syndrome cohort. *PLoS One.* 2015;10(7):e0132888.
229. Kapplinger JD, Tester DJ, Alders M, Benito B, Berthet M, Brugada J, et al. An international compendium of mutations in the SCN5A-encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing. *Heart Rhythm.* 2010;7(1):33–46.
230. Tarradas A, Pinsach-Abuin ML, Mackintosh C, Llorca-Batlle O, Perez-Serra A, Batlle M, et al. Transcriptional regulation of the sodium channel gene (SCN5A) by GATA4 in human heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2017;102:74–82.
231. Starita LM, Ahituv N, Dunham MJ, Kitzman JO, Roth FP, Seelig G, et al. Variant interpretation: functional assays to the rescue. *Am J Hum Genet.* 2017;101(3):315–25.
232. Probst V, Wilde AA, Barc J, Sacher F, Babuty D, Mabo P, et al. SCN5A mutations and the role of genetic background in the pathophysiology of Brugada syndrome. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009;2(6):552–7.
233. Poelzing S, Forleo C, Samodell M, Dudash L, Sorrentino S, Anaclerio M, et al. SCN5A polymorphism restores trafficking of a Brugada syndrome mutation on a separate gene. *Circulation.* 2006;114(5):368–76.
234. Lizotte E, Junttila MJ, Dube MP, Hong K, Benito B, M DEZ, et al. genetic modulation of brugada syndrome by a common polymorphism. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2009;20(10):1137–41.
235. Bezzina CR, Shimizu W, Yang P, Koopmann TT, Tanck MW, Miyamoto Y, et al. Common sodium channel promoter haplotype in Asian subjects underlies variability in cardiac conduction. *Circulation.* 2006;113(3):338–44.
236. Hu D, Barajas-Martinez H, Pfeiffer R, Dezi F, Pfeiffer J, Buch T, et al. Mutations in SCN10A are responsible for a large fraction of cases of Brugada syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(1):66–79.
237. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, Remme CA, Gourraud JB, Simonet F, et al. Common variants at SCN5A-SCN10A and HEY2 are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nat Genet.* 2013;45(9):1044–9.
238. ervell A, Lange-Nielsen F. Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the Q-T interval and sudden death. *Am Heart J.* 1957;54(1):59–68.
239. Romano C, Gemme G, Pongiglione R. Rare cardiac arrhythmias of the pediatric age. II. Syncopal attacks due to paroxysmal ventricular fibrillation (presentation of 1st case in Italian pediatric literature). *Clin Pediatr (Bologna).* 1963;45:656–83.
240. Ward OC. A new familial cardiac syndrome in children. *J Irish Med Assoc.* 1964;54:103–6.

241. Keating M, Atkinson D, Dunn C, Timothy K, Vincent GM, Leppert M. Linkage of a cardiac arrhythmia, the long QT syndrome, and the Harvey ras-1 gene. *Science*. 1991;252(5006):704–6.
242. Jiang C, Atkinson D, Towbin JA, et al. Two long QT syndrome loci map to chromosomes 3 and 7 with evidence for further heterogeneity. *Nat Genet*. 1994;8(2):141–7.
243. Curran ME, Splawski I, Timothy KW, Vincent GM, Green ED, Keating MT. A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell*. 1995;80(5):795–803.
244. Wang Q, Shen J, Splawski I, et al. SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell*. 1995;80(5):805–11.
245. Wang Q, Curran ME, Splawski I, et al. Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias. *Nat Genet*. 1996;12(1):17–23.
246. Wilde AAM, Behr ER. Genetic testing for inherited cardiac disease. *Nat Rev Cardiol*. 2013;10(10):571–83.
247. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European heart rhythm association (EHRA). *Heart Rhythm*. 2011;8(8):1308–39.
248. Splawski I, Shen J, Timothy KW, et al. Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2. *Circulation*. 2000;102(10):1178–85.
249. Moss AJ, Shimizu W, Wilde AAM, et al. Clinical aspects of type-1 long-QT syndrome by location, coding type, and biophysical function of mutations involving the KCNQ1 gene. *Circulation*. 2007;115(19):2481–9.
250. Tester DJ, Benton AJ, Train L, Deal B, Baudhuin LM, Ackerman MJ. Prevalence and spectrum of large deletions or duplications in the major long QT syndrome-susceptibility genes and implications for long QT syndrome genetic testing. *Am J Cardiol*. 2010;106(8):1124–8. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2010.06.022>.
251. Tan HL, Bardai A, Shimizu W, et al. Genotype-specific onset of arrhythmias in congenital long-QT syndrome: possible therapy implications. *Circulation*. 2006;114(20):2096–103. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.642694>.
252. Burashnikov A, Antzelevitch C. Acceleration-induced action potential prolongation and early afterdepolarizations. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1998;9(9):934–48.
253. Batra AS, Silka MJ. Mechanism of sudden cardiac arrest while swimming in a child with the prolonged QT syndrome. *J Pediatr*. 2002;141(2):283–4. <https://doi.org/10.1067/mpd.2002.126924>.
254. Thomas D, Kiehn J, Katus HA, Karle CA. Adrenergic regulation of the rapid component of the cardiac delayed rectifier potassium current, I(Kr), and

- the underlying hERG ion channel. *Basic Res Cardiol*. 2004;99(4):279–87. <https://doi.org/10.1007/s00395-004-0474-7>.
255. Schwartz PJ, Priori SG, Locati EH, et al. Long QT syndrome patients with mutations of the SCN5A and HERG genes have differential responses to Na<sup>+</sup> channel blockade and to increases in heart rate. Implications for gene-specific therapy. *Circulation*. 1995;92(12):3381–6.
256. Priori SG, Barhanin J, Hauer RN, et al. Genetic and molecular basis of cardiac arrhythmias; impact on clinical management. Study group on molecular basis of arrhythmias of the working group on arrhythmias of the european society of cardiology. *Eur Heart J*. 1999;20(3):174–95.
257. Schwartz PJ, Priori SG, Spazzolini C, et al. Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias. *Circulation*. 2001;103(1):89–95.
258. Brugada R, Hong K, Dumaine R, Cordeiro J, Gaita F, Borggrefe M, et al. Sudden death associated with short-QT syndrome linked to mutations in HERG. *Circulation*. 2004;109:30–5.6
259. Hong K, Piper DR, Diaz-Valdecantos A, Brugada J, Oliva A, Burashnikov E, et al. De novo KCNQ1 mutation responsible for atrial fibrillation and short QT syndrome in utero. *Cardiovasc Res*. 2005;68:433–40.
260. Priori SG, Pandit SV, Rivolta I, Berenfeld O, Ronchetti E, Dharmoon A, et al. A novel form of short QT syndrome (SQT3) is caused by a mutation in the KCNJ2 gene. *Circ Res*. 2005;96:800–7.
261. Deo M, Ruan Y, Pandit SV, Shah K, Berenfeld O, Blaufox A, Cerrone M, et al. KCNJ2 mutation in short QT syndrome 3 results in atrial fibrillation and ventricular proarrhythmia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110:4291–6.
262. Antzelevitch C, Pollevick GD, Cordeiro JM, Casis O, Sanguinetti MC, Aizawa Y, et al. Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death. *Circulation*. 2007;115:442–9.
263. Akdis D, Saguner AM, Medeiros-Domingo A, Schaller A, Balmer C, Steffel J, et al. Multiple clinical profiles of families with the short QT syndrom. *Europace*. 2018;20:f113–21.
264. Roussel J, Labarthe F, Thireau J, Ferro F, Farah C, Roy J, et al. Carnitine deficiency induces a short QT syndrome. *Heart Rhythm*. 2016;13:165–74.
265. Thorsen K, Dam VS, Kjaer-Sorensen K, Pedersen LN, Skeberdis VA, Jurevicius J. Loss-of-activity-mutation in the cardiac chloride-bicarbonate exchanger AE3 causes short QT syndrome. *Nat Commun*. 2017;1:1696

#### Глава 4. Фармакогенетические исследования и сердечно-сосудистые заболевания

Фармакогенетическое исследование направлено на изучение воздействия генетической variability на ответную реакцию и токсичность на лекарственные препараты. За последние 20 лет был достигнут существенный прогресс в улучшении нашего понимания влияния генетических детерминант на реакцию организма на часто назначаемые в кардиологической практике препараты, такие как варфарин, клопидогрель и симvastатин. Как известно, метаболизм этих препаратов очень зависит от системы цитохромов P450. Эти достижения дали надежду на развитие «персонализированной медицины», которая включает в себя адаптацию диагностических и лечебных стратегий в зависимости от потребностей и характеристик каждого пациента, включая геномные вариации, а также и другие особенности, такие как, индивидуальные предпочтения и доступ к медицинской помощи, направленные на улучшение ответной реакции на лекарственный препарат и снижение риска развития побочных эффектов.

##### §4.1. Фармакогенетические особенности применения клопидогреля

*с участием Юлдашова Б.А.*

Проблема резистентности к антитромбоцитарной терапии, в частности, клопидогрелю остается и по сей день актуальной. Известно, что в основе резистентности к антиагрегантной терапии несомненна роль генетических факторов.

Клопидогрель является производным тиенопиридина 2 поколения, действие которого основано на блокаде P2Y<sub>12</sub> рецепторов. Клопидогрель является пролекарством, который становится активным метаболитом SR 26334 при участии различных ферментных систем, в том числе при помощи печёночного цитохрома P450 (CYP3A4) [1]. Как и клопидогрель, прасугрель является пролекарством, и для его биоактивации необходимы кишечная эстераза и ферменты CYP3A4 и CYP2B6, а также в меньшей степени CYP2C19 и CYP2C9. Отличия прасугреля и клопидогреля заключаются в том, что благодаря структурным особенностям прасугреля его активный метаболит образуется с более высокой скоростью и в больших количествах, чем метаболиты других тиенопиридинов [2]. В настоящее время стало очевидным, что системам транспортеров и биотрансформации большинства лекарственных средств (в том числе клопидогреля) присущ генетический полиморфизм, характеризующийся наличием изоформ ферментов с высокой и низкой активностью [3].

Ген CYP2C19 обладает выраженным полиморфизмом, что может приводить к изменению или полной потере ферментативной активности. Показано, что наличие аллелей, связанных со снижением активности гена, фенотипически проявляется недостаточной активностью фермента [4]. Аллель CYP2C19\*1 соответствует полностью функциональному ферменту, тогда как аллели CYP2C19\*2 и CYP2C19\*3 соответствуют ослабленному метаболизму.

Аллели CYP2C19\*2 и CYP2C19\*3 составляют 85% аллелей снижающих функцию фермента у белых и у 99 % азиатов. Другие аллели, ассоциируемые с ослабленным метаболизмом, включают CYP2C19\*4, \*5, \*6, \*7 и \*8, но они встречаются чрезвычайно редко [5]. Аллель \*17 связан с повышенной транскрипцией гена, и гомозиготы по этому аллелю относятся к высокоактивным метаболизерам. Наличие аллеля \*17 увеличивает риск развития нежелательных лекарственных реакций при приеме стандартных доз пролекарств, которые активируются через CYP2C19, что может потребовать снижение дозы [6,7]. Одной из первых работ, посвященных изучению влияния генетических полиморфизмов CYP 450 на эффективность клопидогрела, было небольшое исследование Hulot et al. [8], опубликованное в 2006 году. У 28 здоровых добровольцев было проведено генотипирование по наиболее часто встречающимся аллельным вариантам генов, кодирующих ферменты CYP2C19, CYP3A5, CYP2B6 и CYP1A2. Из всех изученных вариантов генов CYP ассоциация с недостаточным ингибированием функции тромбоцитов в ответ на прием клопидогрела была установлена только для полиморфизма CYP2C19\*2, кодирующего образование фермента со сниженной функцией. В исследовании Mega et al. [9] было показано, что носители, по крайней мере, одного аллеля, уменьшающего функцию CYP2C19 (таких было 34% в обследованной группе), характеризовались меньшим ингибированием агрегации тромбоцитов в ответ на препарат и достоверно более низкой концентрацией в плазме его активного метаболита по сравнению с носителями нормального генотипа - CYP2C19\*1.

Значимость полиморфизма, способствующего снижению функции CYP2C19, в отношении развития осложнений после процедур коронарного стентирования была установлена в таких крупных исследованиях, как TRITON-TIMI 38, EXCELSIOR и RE-CLOSE [9,10,11].

В недавно проведенном исследовании [12] у больных с острым коронарным синдромом, получавшим двойную дезагрегантную терапию аспирином и клопидогрелом, было показано, что А аллель G681A полиморфизма гена CYP2C19 и С аллель С-806Т полиморфизма гена CYP2C19 ассоциированы с низкой эффективностью клопидогреля.

Ген ABCB1 (MDR1) кодирует ATP-binding cassette, sub-family B, являющийся белком-транспортёром и участвующий в выведении из клетки лекарственных препаратов и других ксенобиотиков. Участвует во всасывании многих лекарственных средств в кишечнике, в т.ч. клопидогреля. Замена в позиции 3435 С>Т является синонимичной и не изменяет аминокислотную последовательность белка, (Ple1145Ile), однако показано изменение функции гена, ассоциированное с данным полиморфизмом. По-видимому, фенотипический эффект обусловлен другими полиморфными локусами, находящимися в неравновесном сцеплении и приводящими к изменению субстратной специфичности белка [13]. Носители аллеля 3435Т гена ABCB1 (MDR1) имеют повышенный риск неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (кардиальная смерть, инфаркт миокарда) при лечении острого коронарного синдрома или инфаркта клопидогрелом [14].

Что же говорят нам клинические рекомендации по применению фармакогенетического тестирования при назначении дезагрегантной терапии? Не смотря на то, что Рабочая группа АСС/АНА не рекомендует рутинное тестирование CYP2C9 [15] Ф). Консорциум по внедрению в клиническую практику фармакогенетики позиционируется вопросом: если имеется генотип, ассоциированный с резистентностью к клопидогрелю, какие действия следует предпринимать [16]. И в этом контексте Консорциум по внедрению в клиническую практику фармакогенетики рекомендует пациентам с ОКС или ЧКВ, которые являются носителями одной или двух копий утратившего функцию аллеля должны принимать альтернативные дезагрегатные препараты (например, прасугрел или тикагрелор) для предотвращения риска кардиоваскулярных событий, поскольку они не подвергаются биоактивации CYP2C9 ферментом. Исследователи Университета Вандербилт уже описали программу превентивного генотипирования CYP2C9 у пациентов принимающих клопидогрель [17].

В научно-исследовательской лаборатории «Острого инфаркта миокарда» РСНПМЦК изучались фармакогенетические особенности клопидогреля и прасугреля с учетом полиморфизма генов (С3435Т полиморфизм гена ABCB1, G681A полиморфизм гена CYP2C19, G636A полиморфизм гена CYP2C19, С806Т полиморфизм гена CYP2C19), участвующих в метаболизме лекарственных средств. На основании полученных результатов было показано, что в основе резистентности к клопидогрелю и прасугрелю лежит носительство А аллеля G681A полиморфизма гена CYP2C19 и С аллеля С-806Т полиморфизма гена CYP2C19 у больных ИБС с многососудистым стентированием на фоне сахарного диабета. При этом носителям G аллеля G681A полиморфизма гена CYP2C19 и Т аллеля С-806Т полиморфизма гена CYP2C19 предпочтительнее назначение в качестве дезагрегантной терапии прасугреля [18].

В отделении Рентгенэндоваскулярной хирургии РСНПМЦК за 2024 г. всего было проведено 174 чрежкожных коронарных вмешательств, включая генетическое тестирование с использованием набора реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с метаболизмом клопидогреля (Фармако Генетика Клопидогрель): С3435Т полиморфизм гена ABCB1, G681A полиморфизм гена CYP2C19, G636A полиморфизм гена CYP2C19, С806Т полиморфизм гена CYP2C19. Из 174 прогенотипированных пациентов у 19 (10,9%) - резистентность к клопидогрелю не была выявлена, у 61 (35,1%) была выявлена низкая резистентность, у 63 (36,2%) – средняя резистентность и у 31 (17,8%) пациентов была выявлена высокая резистентность к клопидогрелю. Всем пациентам, у которых была отмечена высокая резистентность к клопидогрелю назначалась двойная антиагрегантная терапия в виде ацетилсалициловой кислоты и тикагрелора или прасугреля. Важно отметить, что такой «персонифицированный подход» к назначению антиагрегантной терапии привел к отсутствию такого грозного осложнения, как тромбоз стента в представленной выборке пациентов.

На самом деле эта панель очень актуальна для пациентов, с ОКС, инфарктом миокарда, а также для пациентов перенесших ЧКВ со стентированием, так как известно, что существует значительная межиндивидуальная вариабельность фармакодинамического ответа при использовании клопидогреля. Больные с недостаточной тромбоцитарной реакцией на прием клопидогреля могут иметь повышенный риск ишемических событий. 8-10% больных ОКС при использовании современного лечения переносят повторные сердечные события в течение первого года. Кроме того, у 1-3% больных, подвергнутых ЧКВ, развивается острый или подострый тромбоз стента, что может иметь катастрофические последствия, включая смерть. Основной причиной недостаточной эффективности терапии является резистентность к клопидогрелю, которая отмечается у значительной доли (до 25%) больных острым ИМ. При этом ни один из функциональных тестов для выявления резистентности до сих пор не рекомендован к применению в рутинной клинической практике. В то же время установление фармакогенетических особенностей пациента позволяет врачу индивидуально подходить к выбору как самих лекарственных препаратов, так и их доз у конкретного пациента, обеспечивая тем самым максимально эффективное и безопасное лечение.

#### **§4.2. Фармакогенетические особенности применения варфарина**

*с участием Ирисова Дж.Б.*

Как известно, антагонисты витамина К (варфарин и др.) эффективные и широко используемые для лечения и профилактики венозных и артериальных тромбоэмболических событий. На фоне варфарина достигается антикоагуляция крови путем ингибирования витамина К мультипротеинового эпоксид редуктазного комплекса субъединицы 1 (VKORC1) [19], что ингибирует активацию витамин К зависимых факторов свертывания крови II, VIII, IX и X [20]. Однако, широкий диапазон индивидуального дозирования и узкий терапевтический индекс требует частого мониторинга для контроля рисков сверх антикоагуляции и кровотечения это усложняет использование варфарина [21,22]. Варфарин-индуцированные кровотечения одни из самых частых причин обращения за неотложной помощью [23]. Переменные, влияющие на дозу варфарина включают такие факторы как возраст, вес, диета и взаимодействие с другими лекарственными препаратами (например, амиодароном) и генетические факторы. Ранее было показано, что полиморфизм в трех локусах был ассоциирован с дозой варфарина: CYP2C9, VKORC1 и CYP4F2.

CYP2C9 преобладающий фермент ответственный за метаболизм (инактивацию метаболитов) мощного S-энантиомера варфарина [19]. Общие полиморфизмы CYP2C9\*2 (rs1799853) и CYP2C9\*3(rs1057910) описаны как самые частые локусы ассоциированные со сниженной ферментативной активностью (30-40%; и 80-90% соответственно) [24]. В сравнении с носителями, гетерозиготные носители аллелей пониженной функции CYP2C9\*2 или CYP2C9\*3 требуют в 19% и 33% снижения дозы,

соответственно, гомозиготные носители требуют еще большего снижения (36% и 75% соответственно) [25]. Носители аллелей пониженной функции CYP2C9\*2 или CYP2C9\*3 также были описаны как повышающие риск геморрагических осложнений в процессе терапии варфарином [26,27].

VKORC1 действует путем превращения окисленного, инaktivированного витамина К в активную форму и представляет собой фармакологическую мишень для варфарина. Множество частых промоутерных полиморфизмов воздействуют на экспрессию гена VKORC1 и дозопотребность включает -1173T<C(rs9934438), -3730G>A(rs7294), -1639G>A(rs9923231) [28]. Вариант -1639G>A предотвращает экспрессию протеина [29], который в результате приводит к снижению дозоустойчивости варфарина в сравнении с не носителями. Множество редких не синонимичных вариантов в VKORC1 приводят к резистентности и потребности высоких доз варфарина [30].

GWAS исследования обнаружили варианты в гене CYP4F2, при которых окись витамина К ассоциирована со сниженной способностью метаболизировать витамин К1 и потребностью высокой дозы варфарина [31], однако результаты были противоречивыми [32].

Следует отметить, что в научно-исследовательской лаборатории Аритмий сердца РСНПМЦК проводились исследования по изучению фармако-генетических особенностей применения варфарина у больных с фибрилляцией предсердий [33,34]. Проведенные исследования показали, что суточные и недельные дозы варфарина, обеспечивающие должные уровни МНО, в группе больных с носительством \*2-аллеля были достоверно ниже, чем в группе с носительством \*1-аллеля полиморфизма CYP2C9\*2 гена CYP2C9. У больных с фибрилляцией предсердий узбекской национальности с носительством AA генотипа полиморфного маркера G(-1639)A гена VKORC1 случаи чрезмерной гипокоагуляции встречались значительно чаще, а поддерживающая доза варфарина была наименьшей, чем в группах сравнения AG и GG. При носительстве комбинации «диких» генотипов полиморфизмов генов CYP2C9 и VKORC1 требовалась наибольшая доза варфарина, а при носительстве дефектных гомозиготных генотипов наименьшая стартовая/поддерживающая дозы варфарина. Наибольшие значения TTR (Ср 60%) обеспечивающие максимальную защиту от тромбозомболических осложнений были выявлены в группе больных с носительством сочетаний (комбинаций) диких генотипов полиморфизмов генов CYP2C9 и VKORC1. По мере увеличения вариантных форм полиморфизмов G(-1639)A и CYP2C9\*2/\*3 генов VKORC1 и CYP2C9 учащались случаи развития чрезмерных гипокоагуляций и малых кровотечений на фоне антикоагулянтной терапии.

#### **§4.3. Фармакогенетические особенности применения статинов**

*с участием Алиевой Р.Б.*

В больших клинических исследованиях было показано, статины - ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА редуктазы (ГМГКР) снижают риск сердечно-сосудистых событий и могут быть рекомендованы в качестве

первой линии в терапии вместе с изменением образа жизни для профилактики ССЗ. Статины снижают уровень ЛПНП, за счет снижения выработки эндогенного холестерина, который является ранним продуктом в выработке холестерина; они способствуют экспрессии рецепторов ЛПНП в печени и повышают клиренс ЛПНП. Однако, существует широкая индивидуальная вариабельность в снижении ЛПНП статинами, что связано с экологическими и генетическими факторами, которая приводит к тому, что некоторые пациенты подвержены сердечно-сосудистому риску, несмотря на многократное титрование дозы [35]. В добавок, сопутствующая лекарственная терапия и генетическая гетерогенность ассоциирована со статин-индуцированной миопатией.

Н7 гаплотип ГМГКР (определяется тремя интронами SNP: rs17244841, rs3846662, rs17238540), был ассоциирован с нарушением снижения ЛПНП (5-20%) при терапии правастатином [36] или симвастатином [37]. Ослабленный ответ ЛПНП связан с минорным гаплотип Н7 и был отнесен к альтернативному сплайсированному транскрипту HMGCR, менее чувствительному к ингибированию симвастатина [38]. Однако, эти открытия не были предназначены для всех статинов [39]. Гаплотип Н2 (определен интронным SNP rs3846662) и гаплотип LDLRL5 (определен шестью SNP с не трансформированной частью LDLR3) так же был ассоциирован со слабым ответом ЛПНП у пациентов, которые следовали статинотерапии, включая чернокожих лиц [37].

Генетические варианты аполипопротеина Е (АПОЕ) (2 варианта: rs429358 и rs7412 определённые гаплотипами  $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3 и  $\epsilon$ 4) ранее были ассоциированы с вариабельностью уровня холестерина внутри многих популяций [40], включая первый ответ статинов исследований GWAS [39]. Носители  $\epsilon$ 2 гаплотипа имеют наиболее ослабленный ответ, в отличие от носителей  $\epsilon$ 3 и  $\epsilon$ 4 гаплотипов [41]. Однако, соответствие этих данных осталось под вопросом, в виду отсутствия этих данных в недавних крупных мета-анализах [42].

Кинезин-подобный пептид 6 (KIF6) вовлечен во внутриклеточный транспорт ключевых молекул включая мРНК. Носители миссенс-мутации SNP (Trp719Arg rs20455) в KIF6 были ассоциированы с высоким риском коронарных событий [43]. Интересно, как показывают исследования, что носители аллеля-риска также имеют большую пользу от статинотерапии в сравнении с не-носителями независимо от уровня ЛПНП, триглицеридов и С-реактивного белка [44,45]. Однако, связь между KIF6 и ССЗ не была подтверждена в последующих мета-анализах [46], что соответствует предыдущим исследованиям, которые не могут связать KIF6 с дифференцированным ответом на статины [47].

Насосный белок Р-гликопротеин снижает биодоступность, способствуя выведению лекарственных веществ из гепатоцитов и энтероцитов. Триаллельный вариант G2677T/A в гене ABCB1 (кодирующем этот транспортер) был связан с нарушенным снижением уровня LDL-

холестерина (LDLc) [48], хотя другие исследования сообщают об улучшенном снижении LDLc [49].

Функция и локализация АТФ-связывающего кассетного транспортера, подсемейства G, члена 2 (ABCG2) аналогичны таковым у ABCB1. Обычный вариант (rs2231142) снижает его транспортную способность, и у носителей аллеля A, получавших розувастатин, наблюдается на 5–7 % большее снижение уровня LDL-холестерина (LDLc) по сравнению с носителями [50], хотя данные по этому вопросу остаются противоречивыми.

Как известно, прием статинов может сопровождаться развитием нежелательных явлений. Генетическая изменчивость переносчика лекарственного средства в печени (полипептидный переносчик органических анионов P1B (OATP1B1)), кодируемый геном SLCO1B1, участвует в захвате статинов, что было связано с риском побочных реакций на прием лекарства. Преобладающие нежелательные реакции, связанные со статинотерапией — миопатия и рабдомиолиз (11,0 и 3,4 на 100 000 человеко-лет соответственно), с последующим уровнем смертности 10 % [51].

Фармакокинетические свойства статинов изменяются посредством двух распространенных вариантов в SLCO1B1 (rs4149056 и rs2306283), участвующих в транспортной функции [52] и локализацией транспортера в гепатоцитах, что приводит к более высоким уровням статинов в плазме [53]. В исследованиях GWAS выявлена сильная связь между общим вариантом rs4363657 (rs4149056 и rs4363657) и статин-индуцированной миопатией у пациентов на высоких дозах симвастатина [54]. Примечательно то, что гетерозиготные носители аллельного риска имеют OR 4,7 для развития миопатии на каждый аллель в сравнении с не-носителями; OR был 17,4 у гомозигот. 15% популяции были носителями аллеля риска rs4149056 и 60% пациентов с развившейся миопатией были носителями аллеля риска rs4363657 [54]. Эти выводы были неоднократно подтверждены исследованиями [55].

Согласно клиническим рекомендациям использование генетической информации для определения необходимой дозы с целью адекватного снижения ЛПНП в настоящее время не представляется возможным по нескольким причинам. Во-первых, разумное прогнозирование ожидаемого снижения ЛПНП обычно не является проблемой, используя только негенетическую информацию о пациенте. А также, меньшее снижение ЛПНП от ожидаемого не является острой проблемой и часто поддается корректировке. Во-вторых, выявленный генетический эффект маркеров эффективности статинов пока что мал. В-третьих, вариабельность исследований и конечных точек делает интерпретацию результатов сложной. Недавние подходы к моделированию ожидаемого максимального эффекта статинов на основе ответа ЛПНП на повышение дозы может оказаться клинически более полезной.

В лаборатории ишемической болезни сердца и атеросклероза РСНПМЦК проводился ряд исследований по изучению фармакогенетических особенностей терапии статинами. В частности, в работе Алиевой Р.Б. и соавт. было показано, что накопление аллелей и генотипов: rs776746 CYP3A5,

rs4149056 SLCO1B1\*5 и rs4693075 COQ2 увеличивает риск статин-ассоциированных мышечных симптомов у больных ишемической болезнью сердца в узбекской популяции [56].

В другом исследовании комбинированная терапия розувастатином и фенофибратом оказывала более выраженное влияние на липидный спектр и не приводила к достоверному повышению уровня PCSK9 при 3 месячном лечении, что позволяет рассматривать её как средство выбора у больных ИБС с резистентной к лечению атерогенной гиперхолестеринемией. Однако, при выборе комбинированного лечения у больных с атерогенной дислипидемией необходимо контролировать возникновение ассоциированных с гиполипидемической терапией мышечных симптомов, которые наблюдались примерно у 25 % обследованных [57].

#### **§4.4. Фармакогенетические особенности применения бета-блокаторов**

Бета-адренергические антагонисты (бета-блокаторы) являются важной группой фармакологических средств с уникальным механизмом действия, который и обуславливает их широкий спектр клинического применения. Они используются для лечения сердечных аритмий, стенокардии, инфаркта миокарда и гипертонии. Бета-блокаторы конкурируют с эндогенными катехоламинами на бета-1-адренорецепторе, кодируемом геном ADBR1, и улучшают выживаемость, ремоделирование и фракцию выброса левого желудочка после инфаркта миокарда. Однако межличностная изменчивость в ответе на лечение бета-блокаторами вызывает вопросы о влиянии генетических факторов на эффективность назначенных препаратов. К генам, связанным с межличностным ответом на бета-блокаторы, относятся CYP2D6 (влияет на фармакокинетику для некоторых препаратов), ADBR1, ADBR2 и GRK5 (влияют на фармакодинамику) [58]. Два распространенных варианта гена ADBR: Ser49Gly (rs1801252) и Arg389Gly (rs1801253), ранее были связаны с нарушением регуляции (down-regulation), повышенной передачей сигнала и измененной биологической функцией *in vitro*[59]. Исследования показали, что гомозиготные носители гаплотипа Arg389 лучше отвечают на лечение бета-блокаторами, что приводит к улучшению фракции выброса левого желудочка по сравнению с носителями риск-аллеля Gly389, хотя такие результаты не всегда бывают отмеченными. Точно так же данные о более эффективном ответе на бета-блокаторы в отношении артериального давления и частоты сердечных сокращений также были неоднозначными. Два распространенных варианта в бета-2-адренергическом рецепторе (ADBR2), приводящих к образованию Arg16Gly (rs1042713) и Gln27Glu (rs1042714), были связаны со стимуляцией активности аденилатциклазы, что приводит к усиленному агонист-промотированному down-regulation ADBR2. Исследования не выявили связи между указанными вариантами и улучшением клинических исходов, таких как повышение фракции выброса левого желудочка, хотя в одном небольшом исследовании были зарегистрированы положительные ассоциации для Gln27Glu.

Многие бета-блокаторы, включая пропранолол, тимолол и метопролол, метаболизируются через CYP2D6, и потери функции (из которых существует несколько десятков вариантов) являются очень распространенными. У медленных метаболизаторов, 5-10% среди европеоидной и африканской популяции, есть два аллеля с потерей функции, что приводит к аномально высоким концентрациям метопролола в плазме с выраженным эффектом на снижение артериального давления и частоту сердечных сокращений, что может привести к побочным эффектам. Несмотря на то что лишь несколько исследований предоставляют доказательства фармакогеномного взаимодействия, дозировка должна корректироваться у пациентов, склонных к осложнениям, что также было признано FDA. Карведилол также является препаратом, метаболизирующимся через CYP2D6, но эта особенность плохого метаболизатора не приводит к изменению клинических эффектов. Другие бета-блокаторы, такие как атенолол и надолол, не требуют прохождения метаболизма через CYP2D6. Полиморфизм с усиленной функцией (Glu41Leu, rs17098707) в гликозилированной протеинкиназе G (GRK5) был связан с фенотипом, похожим на эффект бета-блокаторов, и, как оказалось, защищает от катехоламин-индуцированной кардиомиопатии у мышей. Этот вариант более распространен среди людей африканского происхождения, и исследования метопрололовых пациентов с полиморфизмом Glu41Leu показали улучшение выживаемости, схожее с выживаемостью у носителей этого варианта (Leu41). Варианты в  $\alpha_2$ -адренергическом рецепторе (ADRA2C) были связаны с изменчивостью ответа на бета-блокаторы. Распространенная делеция из четырех аминокислот (Del322-325) показала снижение активности ADRA2C в трансфицированных клетках и была ассоциирована с неблагоприятными исходами у пациентов с сердечной недостаточностью, хотя в исследовании Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial (BEST) среди пациентов, принимающих буциндазол, не было выявлено такого эффекта.

Важно заметить, что результаты исследований полиморфизмов с потерей функции в CYP2D6 и связанный с ними ответ на лечение бета-блокаторами остаются неопределенными и подчеркиваются добавлением предупреждения FDA. Поэтому следует проявлять осторожность при лечении уязвимых пациентов с сердечной недостаточностью, имеющих потерю функции, чтобы избежать побочных эффектов. Кроме того, существует некоторое доказательство фармакогеномного взаимодействия между бета-блокаторами и полиморфизмом Arg389Gly в ADBR1, хотя генетические результаты исследований делают клиническую интерпретацию сложной. В таких случаях анализ комбинированного носительства нескольких риск-аллелей может дать больше информации.

#### **§4.5. Фармакогенетические особенности применения ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента**

Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (ИАПФ) в основном используются для лечения гипертензии и связаны с улучшением сердечно-сосудистых исходов. Распространенный полиморфизм вставки/делеции (I/D) в гене ACE (rs4646994) по данным литературы влияет на концентрацию ACE в плазме [60]. В ряде наблюдательных исследований было показано, что носители гомозиготного DD-генотипа имеют более высокий риск 10-летней смертности по сравнению с носителями II-генотипа [61]. Однако эти результаты не были воспроизведены в проспективных испытаниях или в крупном мета-анализе, исследующем влияние варианта на исходы при применении ИАПФ. Таким образом, предполагаемое фармакогеномное взаимодействие между полиморфизмом I/D в гене ACE и ИАПФ, по всей видимости, не имеет под собой убедительной доказательной базы. Также были изучены и другие точки приложения в ренин-ангиотензин-альдостероновой системе, включая ангиотензиноген (AGT) и рецепторы ангиотензина-II типов I и II (AGTR1 и AGTR2), однако явных фармакогеномных ассоциаций не было выявлено.

Исследование генетической ассоциации с эффективностью периндоприла (PERGENE) пыталось предсказать пользу от лечения ИАПФ и оптимизировать терапию ИАПФ на основе генетического профиля 8907 пациентов с ИБС с использованием 52 полиморфизмов, маркирующих гаплотипы, в 12 генах. Два полиморфизма в гене AGTR1 и один в гене рецептора брадикинина типа 1 были значительно связаны с улучшением эффекта лечения в течение 4,2 лет наблюдения (основной комбинированный показатель — снижение сердечно-сосудистой смертности и нефатального инфаркта миокарда) [62]. Более того, комбинирование этих трех полиморфизмов в фармакогенетический балл продемонстрировало поэтапное снижение пользы от лечения периндоприлом с увеличением баллов, что было воспроизведено с использованием групп пациентов из исследования Perindopril Protection Against Recurrent Stroke Study (PROGRESS) [63].

Если говорить о попытках найти связь между D аллелем гена АПФ и антигипертензивным эффектом иАПФ, то большинство исследователей в этом плане получили отрицательный результат, как при коротких курсах терапии, так и при длительном применении [64-67]. В то же время ряд других эффектов блокады РААС, по-видимому, может зависеть от полиморфизма данного гена, в частности такие эффекты, как воздействие на ГЛЖ, ДФ ЛЖ, протеинурию [67-69].

Оценивая динамику АД и уровень протеинурии у больных с гломерулонефритом исследователи [70] не отметили существенного их снижения при носительстве DD-генотипа даже при использовании высоких доз эналаприла.

Однако, эти показатели значительно снижались у пациентов в подгруппах с ID- и II-генотипами гена АПФ после 10-ти недельной и 6-ти месячной терапии эналаприлом [70]. Скорее всего, это связано с тем, что влияние иАПФ на плазменный уровень самого фермента действительно

зависит от наличия у больного аллеля D [66]. Зависимость органопротективных эффектов иАПФ от I/D-полиморфизма гена АПФ прослеживалась в ряде исследований [67-69].

Фармакогенетические особенности применения ИАПФ у больных АГ были изучены в ранее проведенных нами исследованиях. Нами была изучена эффективность ингибитора АПФ эналаприла в зависимости от I/D полиморфизма гена АПФ и от +9/-9 полиморфного маркера гена B<sub>2</sub>BKR у больных ЭГ.

Результаты проведенных нами исследований также свидетельствовали о высокой антигипертензивной эффективности 12-недельной монотерапии эналаприлом независимо от I/D-полиморфизма гена АПФ. Однако целевые уровни САД в большей степени достигались у носителей I-аллеля. Так, у больных с II-, ID-, DD-генотипом эти показатели составили 84,6% : 72,4% : 37,5% соответственно ( $p < 0,05$ ).

При анализе динамики маркеров ГЛЖ и ДД ЛЖ на фоне 12-недельной терапии нами были выявлены преимущества эналаприла у носителей II-генотипа гена АПФ. В частности, отмечена существенная регрессия ММЛЖ, обусловленная уменьшением толщины МЖП и ЗСЛЖ, при этом ИММЛЖ снизился на  $8,3 \pm 4\%$  по сравнению с  $4,6 \pm 3\%$  в группе DD-гомозигот ( $p < 0,01$ ). Регрессия ММЛЖ у II-гомозигот сопровождалась уменьшением степени концентрического характера ГЛЖ, в частности нарастанием индекса КДО/ММЛЖ от  $0,42 \pm 0,06$  мл/г до  $0,45 \pm 0,06$  мл/г ( $p < 0,02$ ), чего не наблюдалось у DD-гомозигот. Положительная динамика ММЛЖ при II-генотипе позитивными изменениями со стороны диастолической дисфункции ЛЖ. Так, ФИР, имевшая удлинение до  $0,14 \pm 0,04$  сек до лечения, полностью нормализовалась, составив  $0,11 \pm 0,02$  сек к концу обследования, что сопровождалось нормализацией диастолического наполнения ЛЖ.

Носительство I-аллеля гена АПФ определило выраженность эндотелийпротекции при терапии эналаприлом. Только у больных с II-генотипом удалось достичь полной нормализации средних значений ЭЗВД, что ассоциировалось с выраженной положительной динамикой КИМ.

Анализ динамики гуморальных маркеров ДЭ свидетельствовал о достоверном снижении альдостерона у больных с ID-генотипом гена АПФ, полной нормализации МАУ у больных с I-аллелем.

В исследовании SILVHIA (Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation), где изучалась ассоциация +9/-9 полиморфизм гена B<sub>2</sub>BKR с изменением массы миокарда левого желудочка в ответ на антигипертензивную терапию антагонистом рецепторов ангиотензиногена I типа - ирбесартаном и бета-блокатором атенололом, было показано, что полиморфизм гена B<sub>2</sub>BKR влияет на регрессию ММЛЖ на фоне антигипертензивной терапии. У пациентов с +9/+9 генотипом гена B<sub>2</sub>BKR была отмечена более низкая регрессия ГЛЖ на фоне проводимой терапии, чем у пациентов с +9/-9 и -9/-9 генотипами. Так, ИММЛЖ снизился на  $10,0 \pm 4,6$  г/м<sup>2</sup> против  $21,6 \pm 2,2$  г/м<sup>2</sup>,  $p = 0,03$  [70]. Результаты исследования SILVHIA

созвучны с результатами шведского исследования: у пациентов с -9/-9 генотипом была отмечена более высокая регрессия ГЛЖ, чем у носителей +9 аллеля.

В исследованиях показано, что кинины, а также ингибиторы АПФ, которые их активизируют, могут оказывать превентивное влияние на тромбоз коронарных артерий. Исходя из того, что брадикинин из множества медиаторов является самым мощным медиатором, вызывающим синтез и высвобождение NO, эффективность терапии ингибиторами АПФ может зависеть от того или иного полиморфизма гена B<sub>2</sub>R (+9/-9) брадикинина. У белых американцев носителей +9/+9 генотипа в отличие от носителей +9/-9 и -9/-9 генотипов в ответ на терапию эналаприлом значительно снижается ЭЗВД и повышается сосудистая сопротивляемость [71]. При этом отмечалась тенденция к снижению брадикинина у носителей +9/+9 генотипа, причем анализ проводился отдельно по полу. Было показано, что полиморфизм гена B2VKR ассоциируется с высвобождением брадикинина под влиянием ИАПФ у мужчин, но не у женщин. Таким образом, полиморфизм гена B2VKR опосредует вазодилатацию под влиянием ингибиторов АПФ.

В наше исследование было включено 56 больных I-II ст ЭГ (ВОЗ, МОАГ 1999) в среднем возрасте 49,5±8,8 лет, среднесуточная доза эналаприла составила 12,1±6,99 мг, длительность терапии 12 недель. Больные в зависимости от носительства того или иного генотипа были разделены на 3 группы: 1-я группа +9/+9 гомозиготы n=6, 2-я группа +9/-9 гетерозиготы n=29, 3-я группа -9/-9 гомозиготы n=21. Группы больных достоверно не отличались по исходным цифрам АД, показателям ГЛЖ и вазорегуляторной ДЭ. На фоне терапии эналаприлом отмечено достоверное снижение САД и ДАД во всех исследуемых группах, при этом степень снижения САД в группе больных +9/+9 гомозигот оказалась достоверно ниже по сравнению с гетерозиготами. При оценке достижения целевых уровней САД и ДАД в группах гетерозигот +9/-9 и -9/-9 гомозигот отмечено достижение целевых значений САД и ДАД в 66% случаев, тогда как в группе +9/+9 гомозигот этот показатель достиг 33%.

Появление сухого кашля на прием ингибиторов АПФ является общеизвестным побочным эффектом этой группы препаратов. В исследованиях показано, что кашель при приеме ингибиторов АПФ является генетически детерминированным. Некоторые полиморфизмы гена рецепторов человеческого брадикинина могут быть вовлечены в развитие сухого кашля, провоцируемого ингибиторами АПФ. Так, при изучении 58Т/С полиморфизма гена B2VKR у японцев было выявлено, что среди пациентов, у которых развился сухой кашель на ингибиторы АПФ значительно превалировал ТТ-генотип и Т- аллель [72]. В патогенезе кашля лежит активация ингибиторами АПФ кининовой системы, в частности предотвращение деградации брадикинина и его накопление. В группе больных, пролеченных эналаприлом, в 6-ти случаях отмечалось появление сухого кашля, при этом больным уменьшалась доза препарата или они переводились на прием другого антигипертензивного препарата. Для изучения генетической детерминированности сухого кашля, больные были генотипированы на +9/-9

полиморфный маркер гена  $B_2VKR$ . Как показали результаты генотипирования, у больных с сухим кашлем на прием ингибитора АПФ эналаприла отмечалось достоверное накопление +9 аллеля гена  $B_2R$  брадикинина, по сравнению с больными без кашля.

Таким образом, результаты нашего исследования показали генетическую детерминированность сухого кашля в ответ на лечение ингибитором АПФ эналаприлом, ассоциирующуюся с носительством +9/+9 генотипа гена  $B_2VKR$ . Показана генетическая детерминированность гипотензивного ответа на прием ингибитора АПФ эналаприла в связи с носительством +9/-9 полиморфного маркера гена  $B_2VKR$ , в частности, отмечена лимитирующая эффективность по достижению целевых значений АД у больных ЭГ с +9/+9 гомозиготным генотипом данного полиморфизма.

К сожалению, на данный момент не выявлены определенные фармакогеномные мишени для ответа на ИАПФ, которые оправдали бы проведение рутинного генетического тестирования. Однако результаты, полученные в исследовании PERGENE, могут представлять собой реальную мишень, если они будут дополнительно подтверждены.

#### **§4.6. Фармакогенетические особенности применения антиаритмических препаратов**

Антиаритмические препараты, блокирующие реполяризирующий калиевый ток  $I_{Kr}$ , являются одними из наиболее частых причин удлиненного интервала QT и связаны с повышенным риском развития злокачественной аритмии Torsades de Pointes. Это особый тип полиморфной желудочковой тахикардии, которая может перерасти в фибрилляцию желудочков (ФЖ), что приводит к внезапной сердечной смерти, если ее не лечить своевременно. Аритмия связана с удлинением интервала QT на ЭКГ, что предрасполагает сердце к аномальной электрической активности. Важно отметить, что способность вызывать удлинение интервала QT не ограничивается только кардиоваскулярными препаратами. Множество полиморфизмов в известных генах могут быть задействованы в формировании длительного интервала QT. На данный момент наибольшие доказательства причинной связи существуют для несинонимичного полиморфизма D85N (rs1805128) в гене KCNE1, кодирующем калиевый канал. В исследовании 176 пациентов с Torsades de Pointes именно этот вариант обеспечивал отношение шансов 9,0 для риска развития Torsades de Pointes .

В работе Курбанова Р.Д. и соавт. изучалась ассоциация полиморфизма rs2200733 с антиаритмической терапией и прогрессированием фибрилляции предсердий в узбекской популяции [73]. Полученные результаты показали преобладание CC-генотипа и C-аллеля rs2200733 полиморфизма у пациентов-узбеков, страдающих ФП. Аналогичный анализ, проведенный в группе лиц контроля (без ФП), продемонстрировал также значительное превалирование C-

аллеля и СС-генотипа rs2200733 полиморфизма. Была выявлена ассоциация ТТ генотипа rs2200733 полиморфизма с риском развития ФП, поскольку ФП чаще встречалась среди носителей ТТ генотипа по сравнению с носителями СТ и СС генотипов (90% против 67%,  $p < 0,001$ ), что позволяет рассматривать ТТ генотип rs2200733 полиморфизма как маркер предполагаемого риска развития ФП у лиц узбекской национальности. Наиболее неблагоприятным прогнозом по прогрессированию ФП обладали носители ТТ генотипа rs2200733 полиморфизма, на что указывает лимитирующий эффект ТТ носительства на антиаритмическую эффективность эталонного препарата - амиодарона у пациентов с ФП. Этим пациентам необходимо рекомендовать процедуру по радикальному устранению аритмогенного субстрата с помощью радиочастотной абляции, либо избрать стратегию контроля ЧСС. Дифференцированное назначение ААП с учетом rs2200733 полиморфизма гена ATFB5 при рецидивирующих формах ФП, позволит избежать неэффективной антиаритмической терапии амиодароном.

#### **§4.7. Состояние и перспективы развития фармакогенетики и персонализированной медицины в лечении сердечной недостаточности**

Сердечная недостаточность (СН) - современная эпидемия, ассоциированная со значительной заболеваемостью и смертностью. Как известно, патофизиология СН основана на повышенной активности симпатoadреналовой (САС) и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем (РААС). Снижение активности этих систем оказывает прогностическое преимущество, делая бета-блокаторы, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ)/антагонисты рецепторов ангиотензина II и антагонисты альдостерона ключевыми препаратами в терапии СН [74-79]. Несмотря на относительное богатство доказательной базы по ведению СН, смертность при этом заболевании остается высокой. Не все пациенты получают одинаковую пользу, как показывают результаты клинических исследований [80]. Несколько факторов могут объяснять это: этническая принадлежность, генетические особенности, индекс массы тела, состояние функции почек и сама этиология СН [81-83]. Было также показано, что эти факторы могут влиять на реакцию в ответ на терапию СН. СН не является единым заболеванием, а представляет собой общий синдром, вызванный широким спектром патологий, включая гипертонию, клапанную болезнь сердца, токсичность лекарств и врожденные пороки сердца. Многочисленные исследования предоставили доказательства того, что вариации в специфических генетических локусах могут влиять на фармакологический ответ на терапию при СН [84-87]. Основное внимание уделяется генам, кодирующим белки, участвующие в соответствующих нейрогормональных путях: кандидатным генам.

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что вариации белков в системах САС и РААС влияют на реакцию в ответ на прием лекарственных препаратов [88-91], о чем мы подробно расскажем ниже. На сегодняшний день не было проведено исследований, которые оценивали бы, насколько вариации в ответе на терапию связаны исключительно с генетическими факторами. Однако фармакогенетические вариации могут частично объяснять терапевтические неудачи, что способствует сохраняющемуся высокому уровню смертности при СН. Это делает фармакогенетику важной областью для дальнейших исследований по проблеме терапии СН. Определение взаимодействий между лекарственными средствами и генами в конечном итоге может позволить врачам адаптировать лечение для каждого пациента индивидуально, максимизируя пользу и минимизируя риски. Выявление новых генетических вариантов, влияющих на реакцию в ответ на лечение, может помочь раскрыть ранее неизвестные пути и потенциальные терапевтические мишени. Исследования ассоциаций по всему геному (GWAS) предоставляют механизм для выявления соответствующих генетических локусов и определения взаимодействий между лекарствами и генами при лечении других сердечно-сосудистых заболеваний [92]. Хотя на данный момент практически не проводились исследования GWAS, направленные на изучение генов, связанных с реакцией в ответ на терапию при СН, эти исследования уже помогли выявить локусы, участвующие в развитии СН и прогнозе пациентов с этим заболеванием [93-95]. GWAS могут стать полезным методом для идентификации однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), влияющих на реакцию в ответ на терапию, в ближайшем будущем. В этом разделе мы рассмотрим текущее состояние исследований по идентификации SNP, влияющих на реакцию в ответ на лекарственную терапию при СН.

**Адренергическая система.** Сниженный сердечный выброс при СН приводит к увеличению симпатической активности. Альфа-опосредованная вазоконстрикция увеличивает общее периферическое сопротивление, а активация бета-адренергических рецепторов увеличивает хронотропию и инотропию. Это приводит к увеличению напряжения стенок, некрозу миоцитов, повышению потребления кислорода [96], а также аритмогенным эффектам. К настоящему моменту имеются убедительные доказательства того, что метопролол, бисопролол и карведилол оказывают положительный эффект при лечении СН.

**Бета-1 адренергический рецепторы.** Генетические варианты гена бета-1 адренергического рецептора (B1AR) могут влиять на реакцию в ответ на прием бета-блокаторов. Одним из наиболее изученных полиморфизмов является Arg 389 Gly. Вариант Arg 389 связан с более сильным связыванием с G-белком, являясь активным агонистом, что повышает активность рецептора [97]. Это было изучено при исследовании ответа на добутамин у 10 здоровых

носителей гомозиготы Arg 389 и восьми носителей гомозиготы Gly389. У носителей Arg389 наблюдались усиление хронотропии и сократимости, а биспролол более эффективно снижал симпатическую активность. Уровень ренина в плазме был относительно повышен при введении добутамина у носителей Gly389, что указывает на важность взаимодействия между нейрогормональными системами [98]. Структурные изменения, по-видимому, также оказывают влияние.

Вариант Ser49Gly в гене B1AR также имеет важное значение. Он был изучен в желудочковых миоцитах, так как участвует во вторичном посредничестве сигнальной трансдукции, стимулируемой бета-1. Этот вариант использовался в качестве маркера для сравнения клеток с Gly49 и Ser 49. Базальные и стимулированные агонистами уровни цАМФ были выше в клетках с Gly49, что свидетельствует о большей десенсibilизации и даун-регуляции рецепторов с насыщением уровней катехоламинов [99]. Повышенная агонист-опосредованная даун-регуляция может объяснять ухудшение прогноза при СН у пациентов с Gly49 [99,100]. Доказательства, что это приводит к различиям в реакции на терапию, неоднозначны.

Далее по сигнальному пути киназы G-белка (GRKs) фосфорилируют B1AR и B2AR, снижая реакцию рецепторов на агонисты и способствуя десенсibilизации. Основными сердечными GRKs являются GRK2 и GRK5. Несмотря на обширные исследования, направленные на выявление значимых генетических вариантов гена GRK2, было выявлено только четыре варианта в GRK5 [101]. GRK5 способствует десенсibilизации передачи сигнала рецептора [102]. Наиболее изученный вариант в гене GRK5 — это однонуклеотидный полиморфизм (SNP) Leu 41, представленный в регуляторной области GRK5. Вариант Leu 41 редко встречается у представителей кавказской расы, но наблюдается примерно у 40% афроамериканцев. СН развивается независимо от наличия варианта Leu 41, но может влиять на выживаемость у пациентов с установленной СН [103]. Вариант Leu 41 чаще встречается у пациентов с кардиомиопатией Такоцубо [103], что указывает на возможную связь с внезапными выбросами адреналина. Потенциальные взаимодействия между лекарствами и генами обсуждаются ниже.

**Бета-2 адренергический рецепторы.** Варианты гена бета-2 адренергического рецептора (B2AR) также могут быть значимыми. Было найдено 3 потенциально функционально значимых SNP, включая: Arg16Gly, Gln27Glu и Thr164 Ile. Полиморфизмы Arg16Gly и Gln27Glu, представленные во внеклеточном аминоконце, находятся в дисбалансе сцепления. В исследованиях на животных было установлено, что вариант Gly 16 ассоциируется со снижением индуцированной агонистами даун-регуляции, в то время как вариант Glu27 был связан с полной устойчивостью к даун-

регуляции [104]. Полиморфизм Thr64Ile находится в предполагаемом кармане связывания лиганд [105]. Он существует исключительно в гетерозиготном состоянии и находится в дисбалансе сцепления с Gly16 и Gln27 [106]. Клетки, экспрессирующие Ile164 *in vitro*, демонстрировали более низкую способность связывания с адреналином, что свидетельствует о сниженной *in vivo* реакции [105].

Ile164 может быть связан со сниженной реакцией на опосредованную B2AR вазодилатацию, что потенциально объясняет, почему носители этого варианта имели более низкий уровень выживаемости при сердечной недостаточности. Более высокие дозы изопроterenолола были необходимы для достижения 50% дилатации в дорсальной вене руки у носителей Ile164 [107], тогда как для носителей Thr164 требовались более высокие дозы фенилэфрина для достижения аналогичного эффекта. Дальнейшие исследования показали, что опосредованная B2AR вазодилатация зависит от сложного взаимодействия между вышеуказанными тремя однонуклеотидными полиморфизмами (SNPs) [108].

**Альфа-адренергические рецепторы.** Альфа-адренергические рецепторы (A2ARs) влияют на кровяное давление через периферические и центральные механизмы. Вариативность в реакции на агонисты альфа-адренорецепторов может иметь генетический компонент [109]. Исследования показали, что полиморфизм в базовых парах 301–303 в гене A2AR не предсказывает вариативность в A2AR-опосредованной вазоконстрикции [110]. Десенсибилизирующие адренергические рецепторы могут снижать хроническое повышенное сосудистое напряжение, вызванное повышенной симпатической активностью при СН [111].

#### **Влияние генетических вариантов адренергической системы на терапевтический ответ и исходы**

Могут ли эти генетические варианты влиять на терапевтическую пользу при сердечной недостаточности? Ранние исследования показали, что полиморфизмы Arg389Gly и Ser49Gly в генах B1AR и Glu27Gly в гене B2AR влияют на реакцию на бета-блокаторы у пациентов с сердечной недостаточностью. Было обнаружено, что гомозиготные носители Arg 389, Ser 49 и Glu 27 показали большее улучшение эхокардиографических параметров при приеме бета-блокаторов по сравнению с носителями Gly 389, Ser 49 и Glu 27 [112-114]. Другие исследования показали, что пациенты с сердечной недостаточностью, являющиеся гомозиготами Gly16 и Glu27, демонстрировали меньшую чувствительность к карведилолу по сравнению с носителями Glu27 [84,85]. Предполагается, что B2AR-рецепторы, экспрессирующие Glu 27, могут быть *in vivo* десенсибилизированы хронической эндогенной экспозицией. Это может объяснить, почему вариант Gly27 становится более десенсибилизированным *in vitro* [104,115,116].

Однако другие исследования не смогли продемонстрировать взаимодействие между лекарством и геном. Например, в исследовании MERIT HF полиморфизм Thr164Ile в гене B2AR не повлиял на исход ни при приеме плацебо, ни метопролола [117]. Тем не менее, когда участников сравнивали по генотипу, носители Gly389 получали больше пользы от лечения метопрололом, чем Arg 389 гомозиготы. De Groote и et al. [118] также не нашли разницы в реакции на бета-блокаторы, связанной с любыми из вышеуказанных генетических вариантов в B1AR и B2AR, оценивая изменение частоты сердечных сокращений и фракции выброса у пациентов с сердечной недостаточностью.

Учитывая эти противоречивые результаты, неудивительно, что генотипирование все еще не используется для руководства по назначению бета-блокаторов. Различные причины объясняют это несоответствие. Большинство из вышеуказанных исследований рассматривали относительно небольшие размеры выборок, которые могут не давать статистически значимых результатов, учитывая редкость некоторых из изученных вариантов.

Комбинации генетических вариантов адренергических рецепторов могут быть более значимыми, чем отдельные полиморфизмы. Одно исследование решило эту проблему, разделив пациентов с СН на две группы: одна включала носителей Arg 389 гомозигот с хотя бы одной копией варианта Gly27 и вторая группа включала все другие генотипы. Первая группа имела более короткую выживаемость при лечении карведилолом по сравнению со второй группой, хотя различий в лечении метопрололом не было [119].

Также имеются доказательства того, что генетические вариации в гене GRK влияют на ответ на бета-блокаторы. У афроамериканцев с СН, не принимающих бета-блокаторы, вариант Leu41 обеспечивал выживаемость, при соответствующей бета-блокаде [111]. Поскольку гомозиготы Leu41 получают мало пользы от бета-блокаторов, генотипирование в данном случае может помочь избежать ненужных побочных эффектов и затрат на прием лекарства, которое, вероятно, не принесет пользы. Однако лишь немногие исследования рассматривали взаимодействие лекарства и гена. Необходимы дополнительные исследования, прежде чем изменения в клинической практике будут внедрены (см. сводку в Таблице 1).

Несмотря на вышеуказанные исследования, относительно немногие клиницисты осведомлены о генетических вариациях, влияющих на ответ на бета-блокаторы. Случай клинической значимости фармакогенетики при сердечной недостаточности остается неопределенным, поскольку нет консенсуса относительно того, предсказывают ли эти варианты реакцию на прием препаратов.

#### **Ренин–Ангиотензин–Альдостероновая система**

Повышенная активность РААС увеличивает постнагрузку и нагрузку на сердце, что приводит к неблагоприятному ремоделированию и прогрессирующей СН, делая блокаду РААС ключевым элементом терапии СН. Ингибиторы АПФ (ангиотензин-превращающего фермента), блокаторы рецепторов ангиотензина II и антагонисты альдостерона снижают смертность и способствуют обратному ремоделированию сердца. Ингибиторы АПФ являются эффективными антигипертензивными средствами и могут улучшать эндотелиальную функцию и снижать ремоделирование коронарных артерий [120,121].

**Таблица 1. Частоты минорных аллелей наиболее изученных фармакогенетически значимых вариантов при сердечной недостаточности, (данные взяты из базы данных однонуклеотидных полиморфизмов (dbSNP)).**

Рецептор	Вариант	RsID	Частота минорного аллеля
B1AR	Arg 389 Gly	rs1801253	0.304
B1AR	Ser 49 Gly	rs1801252	0.173
B1AR GRK5	Gln 41 Leu	rs17098707	0.087
B2AR	Gln 27 Glu	rs1042714	0.234
B2AR	Arg 16 Gly	rs1042713	0.474
B2AR	Thr 164 Ile	rs1800888	0.005
NOS 3	Asp 298 Glu	rs1799983	0.196

Примечание: B1AR – бета-1 адренорецепторы; GRK – киназа рецептора G-белка; NOS – синтаза оксида азота. Бетесда (Мэриленд): Национальный центр биотехнологической информации, Национальная медицинская библиотека (идентификатор dbSNP Build ID) [88].

Вариант «I/D» в гене АПФ (ангиотензин-превращающего фермента), который относится к наличию или отсутствию вставки на 287-й паре оснований, вызвал наибольший интерес в рамках РААС. Считается, что он находится в связи с пока не выявленным функциональным вариантом. D-аллель ассоциируется с повышенной концентрацией АПФ. Cicioga et al. [91] обнаружили, что гомозиготы по D-аллелю были в три раза более склонны к повышенному уровню плазменного альдостерона, несмотря на длительное лечение ингибиторами АПФ. Большинство исследований фармакогенетики РААС проводилось у пациентов с гипертонзией.

В рамках исследования «Генетическая оценка сердечно-сосудистых событий» было обследовано 479 пациентов с систолической дисфункцией и было установлено, что вариант D ассоциировался с худшей выживаемостью без необходимости трансплантации через 1 год (89% у гомозигот II, 80% у гетерозигот ID, 74% у гомозигот DD). Негативное влияние аллеля D было наиболее выражено у пациентов, принимающих низкие дозы ингибиторов АПФ или не принимавших их вовсе, и нивелировалось при высоких дозах ингибиторов АПФ [87]. Это дало убедительные доказательства взаимодействия между SNP I/D и дозой ингибитора АПФ в отношении выживаемости. Авторы предположили, что комбинированная терапия ингибиторами АПФ и блокаторами рецепторов ангиотензина II может быть полезна для гомозигот DD, что демонстрирует потенциал индивидуализации терапии СН в зависимости от генотипа. Однако последующие исследования в этой области не проводились, что делает маловероятным внедрение генотипирования в клиническую практику в ближайшее время.

Примечательно, что негативный эффект D аллеля был более выражен у пациентов, носителей аллеля Arg389, которые демонстрировали более выраженный симпатический ответ и относительно повышенный уровень плазменного ренина. Очевидно, что нейро-гормональные взаимодействия играют важную роль, и учет генотипов в обеих этих системах может способствовать более эффективной персонализации терапии СН.

Хотя доказательства взаимодействия лекарства и гена в данном случае менее убедительны, чем в адренергической системе, генотипирование по I/D в настоящее время не используется для назначения ингибиторов АПФ. Многие клиницисты либо не осведомлены, либо не убеждены в том, что генетические вариации могут повлиять на ответ на прием ингибиторов АПФ. Связь «от лаборатории к практике» пока не реализована. Возможные методы установления такой связи будут рассмотрены позже. Однако пациенты, чей генотип предполагает хорошую реакцию на высокие дозы ингибиторов АПФ, могут не переносить высокие дозы из-за почечной недостаточности. Это подчеркивает, что фармакогенетика может быть полезна в индивидуализации лечения СН только как часть более широкой стратегии.

#### **Транспорт натрия в почках и ответ на петлевые диуретики**

Назначение диуретиков является распространенной практикой при СН, однако участие фармакогенетики в этом процессе до сих пор мало изучено. Причины, по которым у двух клинически схожих пациентов потребности в диуретиках могут значительно различаться, до сих пор остаются неясными [122]. Одно исследование изучало генетические вариации в натриевых транспортерах почек. Выделение натрия, калия, хлорида и объем мочи измерялись у 97 здоровых добровольцев, принимавших буметанид, торасемид и фуросемид, с целью выявления различий, связанных с генотипом.

Полиморфизм Ala 264 в гене натрий-хлорного котранспортера SLC12A3 был связан с увеличенным выделением ионов натрия, калия и хлорида при приеме всех петлевых диуретиков.

#### **Оксид азота**

Оксид азота регулирует ремоделирование миокарда, сосудистую реактивность и процессы тромбообразования [123]. Комбинация гидралазина/изосорбида динитрата высвобождает оксид азота, снижая сосудистый тонус. Интерес к генетическим вариациям в синтазе оксида азота (NOS) возник из исследования VHeFT, которое показало, что ингибиторы АПФ лучше улучшали выживаемость у пациентов европеоидной расы по сравнению с комбинацией гидралазина/изосорбида динитрата, тогда как у пациентов афроамериканского происхождения результаты были лучше при приеме комбинации гидралазина/изосорбида динитрата [124]. Это привело к проведению исследования ANeFT: двойному слепому исследованию с участием 1050 афроамериканцев с СН (NYHA класс III–IV), которые были рандомизированы для приема комбинации гидралазина/изосорбида динитрата или плацебо. Смертность была значительно выше в группе плацебо [123].

Определенные полиморфизмы могут объяснять расовые различия в ответе на лекарственные препараты. Одно исследование изучало генетические вариации в гене NOS3, так как вариант Glu 298 чаще встречается у пациентов афроамериканского происхождения. Было отмечено значительное улучшение качества жизни у пациентов, принимавших комбинацию гидралазина/изосорбида динитрата и имеющих вариант Glu298, а также у этих же пациентов наблюдалась тенденция к обратному ремоделированию левого желудочка. У других генотипов такой тенденции не наблюдалось [125].

Комбинация гидралазина/изосорбида динитрата была лицензирована для использования у пациентов афроамериканского происхождения с СН, однако возникли споры относительно расово-ориентированного подхода к назначению лекарств, что привело к ограниченному производству препарата его производителями [126]. Можно утверждать, что это была терапия, основанная на расовой принадлежности, а не на персонализированной медицине [127]. Назначение терапии на основе расы, а не генотипа, является более быстрым и дешевым подходом. В данном случае стоимость и удобство перевесили биологическую точность, что привело к неутешительным результатам.

#### **Новые позиционные кандидаты (обнаруженные с помощью GWAS)**

Исследование ассоциаций на всем геноме (GWAS) выявило однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), имеющие отношение к лечению других сердечно-сосудистых заболеваний [128]. Однако исследования генов-кандидатов имеют внутренние ограничения. При использовании GWAS (исследования ассоциаций на уровне всего генома), любой из 2,5 миллионов

изучаемых SNP может быть значимым. Новые патологические пути могут быть выявлены, потенциально указывая на новые терапевтические мишени. По имеющимся данным, было опубликовано всего два исследования GWAS, направленных на поиск генетических вариантов, связанных с СН [129,130]. Norton et al. [129] провели секвенирование экзома членов большой семьи с дилатационной кардиомиопатией и выявили, что мутация в гене BAG3 ассоциируется с сердечной недостаточностью. Cappola et al. [130] провели популяционное GWAS, сравнивая пациентов с сердечной недостаточностью с контрольной группой, и обнаружили новые участки предрасположенности в генах HSPB7 и FRMD4B. Другое недавнее исследование GWAS выявило локус, предсказывающий смертность у пациентов с СН [131].

В одном единственном исследовании GWAS, изучающем фармакогеномику при СН на экспериментальных моделях животных, исследователи стремились выявить SNP, предсказывающие ответ на бета-блокаторы. Три SNP достигли значимости на уровне всего генома, один из них был расположен в гене MRPS10, который кодирует малую субъединицу митохондриальных рибосом [132]. Вариации в этом гене могут логически влиять на энергетический метаболизм миокарда. Это исследование стало первым шагом к использованию GWAS для выявления факторов, влияющих на реакцию на лекарственные препараты при сердечной недостаточности. Будущие исследования на людях станут следующим этапом, за которым последует независимая валидация. Использование GWAS для идентификации новых локусов в фармакогеномике СН имеет огромные перспективы, но эта область во многом остается неизведанной. Это может быть связано с определенными ограничениями GWAS, включая высокий уровень ложных находок и необходимость подтверждения любых полученных данных в крупном клиническом исследовании [133]. Кроме того, хотя GWAS может выявить определенный локус, он не всегда идентифицирует конкретный вариант или комбинацию вариантов, оказывающих биологическое воздействие [134].

#### **Другие факторы, влияющие на персонализацию лекарственной терапии**

Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что генетика объясняет часть вариабельности ответа на лекарственные препараты у клинически схожих пациентов. Как мы уже упоминали ранее, этнические различия в терапии СН вряд ли являются исключительно генетическими.

Blöcher провел всесторонний анализ исследований VHeFT и AHeFT, который подчеркнул важность психосоциальных, экологических, культурных и экономических факторов, которые могут оказывать влияние на терапию при СН [135]. Одно исследование показало, что социальная изоляция была связана с более высокой сосудистой резистентностью в ответ на воспринимаемые

стрессоры и нарушенными механизмами восстановления, такими как заживление ран [136].

К сожалению, пока не удастся выявить исследования, оценивающие долю варибельности ответа на лекарственную терапию, которая может быть связана с генетическими или экологическими факторами у клинически схожих пациентов. Однако социально-экономические факторы остаются важным аспектом в данной области. Следует также учитывать различия в фармакокинетике и фармакодинамике. Как отмечают Roden et al. [134], любые физиологические переменные, влияющие на взаимодействие с лекарственным средством или его рецептором, могут модулировать действие препарата, например, уровни катехоламинов, влияющие на взаимодействие лекарства с адренергическими рецепторами.

Персонализированное назначение лекарств на основе уровней биомаркеров может быть еще одним развивающимся методом индивидуализации терапии сердечной недостаточности [137]. Существует значительное количество данных, подтверждающих связь между уровнями мозгового натрийуретического пептида (BNP) и худшим прогнозом у пациентов с СН [138]. Недавний мета-анализ рассмотрел шесть клинических испытаний, в которых пациенты с СН были рандомизированы для титрования медикаментозной терапии на основе циркулирующих уровней BNP или в параллельной контрольной группе (всего  $n = 1\ 627$ ). Все шесть исследований показали снижение смертности в группе терапии, основанной на BNP, по сравнению с контрольной группой, и ни одно исследование не выявило увеличения частоты побочных эффектов в этой группе [139]. В конечном итоге может стать возможным использовать комбинацию фармакогенетики и уровней биомаркеров для более индивидуализированной программы лечения СН.

Исследование протеомики сердечной недостаточности также может выявить вариации, которые могут быть использованы для руководства терапией, сочетая биомаркеры и фармакогеномику. Однако исследования в области протеомики СН пока находятся на стадии испытаний на животных моделях, поэтому мало надежды на их клиническое применение в ближайшем будущем [140].

Фармакогенетика направляет терапию в других областях медицины, таких как использование биологических агентов в онкологии [141,142]. Основным препятствием для клинического внедрения фармакогенетических открытий в области сердечной недостаточности является отсутствие воспроизводимости результатов. Требуются более убедительные доказательства для конкретных взаимодействий между лекарственными средствами и генами. Исследования GWAS (геномные исследования ассоциаций) применялись более чем для 250 человеческих признаков, включая

восприимчивость к заболеваниям, физические характеристики и сывороточные биомаркеры [143]. Опыт показывает, что для получения достоверных результатов необходимо глобальное сотрудничество и использование достаточных объемов выборок.

Изучение фармакогенетических основ ответа на лекарственные средства при сердечной недостаточности требует как ретроспективного анализа рандомизированных испытаний, где была собрана ДНК, так и обсервационных исследований, в которых генетическая информация связывается с медицинскими записями в крупных популяциях. Это позволит получить надежные оценки генетической характеристики ответа на лекарственные препараты. В настоящее время уже проводится одно крупное обсервационное исследование [144]. Любой генетический алгоритм, предложенный для прогнозирования ответа на лекарственные препараты, должен доказать свою эффективность в рандомизированных проспективных исследованиях. Flynn предлагает подтверждающие планы клинических испытаний для фармакогенетических исследований включая целевой и страфицированный дизайн. В целевом подходе пациенты генотируются во время скрининга, и те, чей генотип соответствует исследуемому варианту, включаются и рандомизируются в одну из групп лечения, что ограничивает результаты одним генотипом. Влияние различных генотипов на разные виды терапии можно изучить с помощью стратификационного подхода. Пациенты распределяются по группам на основе генотипа, а затем рандомизируются для получения лечения. Flynn отмечает, что оба подхода требуют значительного предварительного знания генетического маркера [145]. Хотя здоровые добровольцы могут использоваться для выявления генетических вариантов, влияющих на реакцию на препараты, для пациентов с сердечной недостаточностью необходимо определить, являются ли конкретные варианты защитными или вредными при приеме лекарств.

Разрабатывается несколько генетически управляемых клинических испытаний препаратов для лечения сердечной недостаточности. В 2010 году компания ARCA Biopharma (Блумфилд, США) и Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) договорились о проведении исследования безопасности и эффективности буденолола по сравнению с метопрололом CR/XL у 3200 пациентов-гомозигот по аллелю Arg389 [146]. Исследование, оценивающее влияние генетических вариаций на реакцию на кандесартан примерно у 300 пациентов с сердечной недостаточностью, находящихся на терапии ингибитором АПФ, завершено, и результаты ожидаются [147].

Изучение пациентов с СН с целью определения, является ли конкретный генетический вариант защитным или вредным для пациентов, принимающих лекарства, сопровождается сложностями. Пациенты с СН, включенные в такие

исследования, обычно имеют меньшую ожидаемую продолжительность жизни, что может вызывать предвзятость при оценке выживших [148].

Возможно, можно будет снизить риск такой предвзятости, сохраняя генетическую информацию в электронных медицинских записях и делая эти данные доступными в точках оказания медицинской помощи. Такой подход, называемый «автоматизированной поддержкой принятия решений», представляется реалистичным предложением для установления связи «от лаборатории к практике». Превентивный фармакогенетический подход может использоваться для учета различных комбинаций генотипов при выборе терапии. Однако необходимо провести дополнительные исследования, чтобы изучить сложное взаимодействие между всеми терапевтическими агентами, используемыми при сердечной недостаточности, и различными комбинациями генотипов. Целевые и стратификационные исследования предоставляют методы внедрения фармакогенетических знаний в процесс назначения лекарств, однако они не учитывают эти взаимодействия, что затрудняет интерпретацию полученных данных. В этом отношении недавнее исследование показало, что точечное тестирование на CYP2C19 может помочь в выборе между антиагрегантами клопидогрелем и прасугрелем [149].

Хотя функциональные тесты могут помочь в назначении специфических лекарственных препаратов [150], в настоящее время не существует функциональных тестов, доступных для руководства и мониторинга эффективности терапии сердечной недостаточности. Дешевое полногеномное секвенирование пациентов на этапе диагностики заболевания может оказаться более полезным. Хранение данных полного генома с момента диагностики позволит систематически аннотировать медицинские записи пациента с соответствующей фармакогеномной информацией. Если бы эта информация была доступна на этапе назначения лекарств, она могла бы использоваться для управления применением нескольких лекарственных препаратов при различных заболеваниях. Врачи не должны были бы знать о конкретном тесте, заказывать его или ждать результатов перед принятием решения о назначении. Однако для снижения стоимости секвенирования и создания инфраструктуры, поддерживающей этот процесс принятия решений, предстоит пройти определенный путь. В будущем этот подход станет наиболее эффективным по времени и затратам. В настоящее время, несмотря на множество исследований, изучающих влияние генетических вариантов на терапию сердечной недостаточности, клиническое применение пока отсутствует. Не ожидается, что это изменится в ближайшем будущем, но предложенный здесь подход может стать первым шагом в этом направлении.

Важно отметить, что сердечная недостаточность – это гетерогенный признак, и на реакцию в ответ на лечение влияют многие факторы, помимо генетической изменчивости, как описано выше.

Сопутствующие заболевания и этиология сердечной недостаточности особенно важны при индивидуализации терапии. Респираторные и почечные коморбидные состояния играют ключевую роль в сердечной недостаточности, так как они могут ограничивать дозу бета-блокаторов и ингибиторов АПФ, которые могут быть использованы, независимо от того, предполагает ли генотип пациента более высокие дозы [151-153].

Таким образом, накопленные доказательства свидетельствуют о том, что взаимодействие лекарств и генов влияет на лечение всеми препаратами, используемыми при терапии сердечной недостаточности. Подход GWAS может выявить дополнительные варианты генов. Если существующие доказательства будут расширены с использованием вышеупомянутых методов, результаты в конечном итоге позволят персонализировать терапию сердечной недостаточности в зависимости от генетического и клинического профиля пациента, что поможет минимизировать побочные эффекты и повысить рентабельность лечения. К сожалению, в ближайшее время не предвидится широкого внедрения генетически ориентированной терапии сердечной недостаточности. С учетом текущих тенденций случаи сердечной недостаточности, вероятно, продолжат расти в ближайшие годы, что делает эту область важнее, чем когда-либо.

### **Заключение**

В то время как лаборатории, сертифицированные по стандартам Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA), предоставляют фармакогеномное тестирование, не всегда ясно, какие тесты следует заказывать клиницистам, как интерпретировать результаты или являются ли эти результаты клинически значимыми, особенно если тесты заказываются при назначении препарата. Учитывая быстрый спад стоимости генотипирования, CPIC подходит к этим вопросам с другой точки зрения, предполагая, что данные уже доступны от предыдущего "преэмптивного" генотипирования. CPIC предоставляет трехуровневую систему (A, B и C) для оценки уровня доказательности, связанного с взаимодействием лекарства и гена. Уровень "A" является наиболее сильным и присваивается фармакогенетическим сигналам, где "доказательства включают последовательные результаты хорошо спланированных и хорошо проведенных исследований". К фармакогенетическим сигналам, присвоенным уровню доказательности "A", относятся: CYP2C19, CYP2C1917, VKORC1: -1639G>A, CYP2C9, CYP2C93 и SLCO1B1: rs4149056. Уровень "B" присваивается, когда доказательства достаточно сильны, чтобы определить эффекты, но сила доказательств ограничена числом, качеством или последовательностью отдельных исследований, невозможностью обобщить данные для повседневной практики или косвенным характером доказательств. Уровень "C" присваивается, когда доказательства недостаточны для оценки эффектов на здоровье, и они не имеют клинической значимости.

Поддерживаемое успехами фармакогеномных исследований, обещание подбора диагностических и лечебных стратегий в соответствии с потребностями конкретного пациента может стать реальностью. На этом захватывающем этапе быстрого открытия можно выделить разработку клинических рекомендаций, которые включают генетическую информацию для ведения терапии варфарином, клопидогрелем и статинами для снижения риска токсичности. Внедрение этих стратегий на индивидуальной основе является трудоемким и дорогостоящим процессом. С учетом резкого падения стоимости многоплексного генотипирования, идея предварительного внесения данных о вариантах ДНК в медицинские записи пациентов, которые будут использованы при назначении целевого препарата, начинает исследоваться. Оценка механизмов и медицинских исходов таких систем, а также текущие клинические испытания в области фармакогеномики и продолжение открытия ассоциаций генотип-фенотип, определяют, как можно будет внедрить этот персонализированный подход.

Если 30-50 лет назад молекулярно-генетические исследования проводились только в рамках научных изысканий, на сегодняшний день генетические методы успешно внедряются в реальную клиническую практику, приближая нас к известному принципу медицины, сформулированному более 200 лет назад М.Я. Мудровым, - «Мы будем лечить самого больного, а не болезнь».

### Использованная литература

1. Амбросимов А.В. Тромбозы стентов с антипролиферативным покрытием в отделенном периоде: дис. канд. медицинских наук: 14.00.06. -Москва, 2010. - 134 с., Coukell, A. Clopidogrel / Coukell A., Markham A., // Drugs. - 1997. - Vol. 54, №5.-P. 745-750.
2. Мазуров А.В. Физиология и патология тромбоцитов. «Литтерра» 2011, 480 стр. Kei AA, Florentin M et. al. Antiplatelet Drugs: What comes next? Clinical and Applied Thrombosis. Hemostasis, 2011, 17(1): 9-26.
3. Grosdidier C, Quilici J, Loosveld M, et al. Effect of CYP2C19\*2 and \*17 genetic variants on platelet response to clopidogrel and prasugrel maintenance dose and relation to bleeding complications. Am J Cardiol 2013;111:985-90.
4. Кляритская, И. Л. Полиморфизм гена цитохрома CYP2C19 и клиническое значение его определения / И. Л. Кляритская, Ю. С. Работягова // Крымский терапевтический журнал. – 2013 – №1. – С. 19–26.
5. Collet JP, Hulot JS, Pena A, Villard E, Esteve JB, Silvain J, Payot L, Brugier D, Cayla G, Beygui F, Bensimon G, Funck-Brentano C, Montalescot G. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. Lancet. 2009 Jan 24; 373 (9660): 309–17.

6. Li, Y., Tang, H.L., Hu, Y.F., Xie, H.G. The gain-of-function variant allele CYP2C19\*17: a double-edged sword between thrombosis and bleeding in clopidogrel-treated patients. *J. Thromb. Haemost.* 2012; 10 (2): 199–206.
7. Sim, S.C., Risinger, C., Dahl, M.L., Aklillu, E., Christensen, M., Bertilsson, L., IngelmanSundberg, M. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2006; 79 (1): 103–13.
8. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. / Hulot JS, Bura A, Villard E, Azizi M, Remones V, Goyenvalle C, Aiach M, Lechat P, Gaussem P. // *Blood*. 2006. Vol. 108, № 7. P. 2244–2247.
9. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E, Sabatine MS. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med.* 2009 Jan 22; 360(4): 354–62.
10. Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, Chialda LE, Pahl A, Valina CM, Stratz C, Schmiebusch P, Bestehorn HP, Büttner HJ, Neumann FJ. Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol.* 2008 May 20; 51(20): 1925–34.
11. Giusti B, Gori AM, Marcucci R, Saracini C, Sestini I, Paniccchia R, Buonamici P, Antonucci D, Abbate R, Gensini GF. Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis. *Am J Cardiol.* 2009 Mar 15; 103(6): 806–11.
12. Galeazzi R., Olivieri F., Spazzafumo L. et al. Clustering of ABCB1 and CYP2C19 Genetic Variants Predicts Risk of Major Bleeding and Trombotic Events in Elderly Patients with Acute Coronary Syndrome Receiving Dual Antiplatelet Therapy with Aspirin and Clopidogrel. *Drugs Aging* (2018) 35:649-656.
13. Taubert, D., von Beckerath, N., Grimberg, G. et al. Impact of p-glycoprotein on clopidogrel absorption. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2006; 80: 486–501.
14. Sim, S.C., Risinger, C., Dahl, M.L., Aklillu, E., Christensen, M., Bertilsson, L., IngelmanSundberg, M. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2006; 79 (1): 103–13.
15. Heusch G, Philipp T, Brodde OE. The Arg389Glybeta1-adrenoceptor polymorphism and catecholamine effects on plasma-renin activity. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:2111–2115.
16. O'Connor CM, Fiuzat M, Swedberg K, et al. Influence of global region on outcomes in heart failure beta-blocker trials. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:915–922.
17. Levin MC, Marullo S, Muntaner O, Andersson B, Magnusson Y. The myocardium-protective Gly-49 variant of the beta1-adrenergic receptor exhibits

- constitutive activity and increased desensitization and down-regulation. *J Biol Chem* 2002;277:30429–30435.
18. Якуббеков Н.Т. Эффективность прасугреля у больных ИБС с многососудистым стентированием на фоне сахарного диабета. Автореферат кандидатской диссертации. 2022
  19. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, et al. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature*. 2004;427(6974):537–41.
  20. Schalekamp T, de Boer A. Pharmacogenetics of oral anticoagulant therapy. *Curr Pharm Des*. 2010;16(2):187–203.
  21. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA*. 2002;287(13):1690–8.
  22. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med*. 2005;352(22):2285–93.
  23. Shehab N, Sperling LS, Kegler SR, Budnitz DS. National estimates of emergency department visits for hemorrhage-related adverse events from clopidogrel plus aspirin and from warfarin. *Arch Intern Med*. 2010;170(21):1926–33.
  24. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics*. 2002;12(3):251–63.
  25. Lindh JD, Holm L, Andersson ML, Rane A. Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements—a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2009;65(4):365–75.
  26. Wadelius M, Chen LY, Eriksson N, et al. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum Genet*. 2007;121(1):23–34.
  27. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet*. 1999;353(9154):717–9.
  28. Yang L, Ge W, Yu F, Zhu H. Impact of VKORC1 gene polymorphism on interindividual and interethnic warfarin dosage requirement— a systematic review and meta analysis. *Thromb Res*. 2010;125(4):e159–66.
  29. Wang D, Chen H, Momary KM, Cavallari LH, Johnson JA, Sadee W. Regulatory polymorphism in vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) affects gene expression and warfarin dose requirement. *Blood*. 2008;112(4):1013–21.
  30. Scott SA, Edelmann L, Kornreich R, Desnick RJ. Warfarin pharmacogenetics: CYP2C9 and VKORC1 genotypes predict different sensitivity and resistance frequencies in the Ashkenazi and Sephardi Jewish populations. *Am J Hum Genet*. 2008;82(2):495–500.
  31. McDonald MG, Rieder MJ, Nakano M, Hsia CK, Rettie AE. CYP4F2 is a vitamin K1 oxidase: an explanation for altered warfarin dose in carriers of the V433M variant. *Mol Pharmacol*. 2009;75(6):1337–46.

32. Kringen MK, Haug KB, Grimholt RM, et al. Genetic variation of VKORC1 and CYP4F2 genes related to warfarin maintenance dose in patients with myocardial infarction. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:739751.
33. Курбанов Р.Д., Закиров Н.У., Ирисов Д.Б., Кеворков А.Г., Хусанов Ш.С. Влияние полиморфизма гена CYP2C9 на эффективность варфарина у больных узбекской национальности с длительно существующей фибрилляцией предсердий. //Журнал «Медицинские новости» Республика Беларусь. – 2012. – №9. – С. 35-38;
34. Курбанов Р.Д., Закиров Н.У., Ирисов Д.Б. Особенности титрования доз варфарина при длительно существующей фибрилляции предсердий с учетом генотипирования VKORC1 у лиц узбекской национальности //Терапевтический Вестник Узбекистана. – 2015.-№4. – С.13-17
35. Mangravite LM, Thorn CF, Krauss RM. Clinical implications of pharmacogenomics of statin treatment. *Pharmacogenomics J.* 2006;6(6):360–74.
36. Chasman DI, Posada D, Subrahmanyam L, Cook NR, Stanton Jr VP, Ridker PM. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *JAMA.* 2004;291(23):2821–7.
37. Krauss RM, Mangravite LM, Smith JD, et al. Variation in the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase gene is associated with racial differences in low-density lipoprotein cholesterol response to simvastatin treatment. *Circulation.* 2008;117(12):1537–44.
38. Medina MW, Gao F, Ruan W, Rotter JI, Krauss RM. Alternative splicing of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase is associated with plasma low-density lipoprotein cholesterol response to simvastatin. *Circulation.* 2008;118(4):355–62.
39. Thompson JF, Hyde CL, Wood LS, et al. Comprehensive wholegenome and candidate gene analysis for response to statin therapy in the Treating to New Targets (TNT) cohort. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009;2(2):173–81.
40. Utermann G. Apolipoprotein E polymorphism in health and disease. *Am Heart J.* 1987;113(2 Pt 2):433–40.
41. Voora D, Shah SH, Reed CR, et al. Pharmacogenetic predictors of statin-mediated low-density lipoprotein cholesterol reduction and dose response. *Circ Cardiovasc Genet.* 2008;1(2):100–6.
42. Zintzaras E, Kitsios GD, Triposkiadis F, Lau J, Raman G. APOE gene polymorphisms and response to statin therapy. *Pharm J.* 2009;9(4):248–57.
43. Iakoubova OA, Robertson M, Tong CH, et al. KIF6 Trp719Arg polymorphism and the effect of statin therapy in elderly patients: results from the PROSPER study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2010;17(4):455–61.
44. Iakoubova OA, Sabatine MS, Rowland CM, et al. Polymorphism in KIF6 gene and benefit from statins after acute coronary syndromes: results from the PROVE IT-TIMI 22 study. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(4):449–55.
45. Iakoubova OA, Tong CH, Rowland CM, et al. Association of the Trp719Arg polymorphism in kinesin-like protein 6 with myocardial infarction and

- coronary heart disease in 2 prospective trials: the CARE and WOSCOPS trials. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(4):435–43.
46. Assimes TL, Holm H, Kathiresan S, et al. Lack of association between the Trp719Arg polymorphism in kinesin-like protein-6 and coronary artery disease in 19 case–control studies. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(19):1552–63.
  47. Ridker PM, MacFadyen JG, Glynn RJ, Chasman DI. Kinesin-like protein 6 (KIF6) polymorphism and the efficacy of rosuvastatin in primary prevention. *Circ Cardiovasc Genet.* 2011;4(3):312–7.
  48. Mega JL, Morrow DA, Brown A, Cannon CP, Sabatine MS. Identification of genetic variants associated with response to statin therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(9):1310–5.
  49. Kajinami K, Brousseau ME, Ordovas JM, Schaefer EJ. Polymorphisms in the multidrug resistance-1 (MDR1) gene influence the response to atorvastatin treatment in a gender-specific manner. *Am J Cardiol.* 2004;93(8):1046–50.
  50. Kondo C, Suzuki H, Itoda M, et al. Functional analysis of SNPs variants of BCRP/ABCG2. *Pharm Res.* 2004;21(10):1895–903.
  51. Law M, Rudnicka AR. Statin safety: a systematic review. *Am J Cardiol.* 2006;97(8A):52C–60C.
  52. Tirona RG, Leake BF, Merino G, Kim RB. Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African- Americans. *J Biol Chem.* 2001;276(38):35669–75.
  53. Pasanen MK, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Niemi M. SLCO1B1 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of simvastatin acid. *Pharmacogenet Genomics.* 2006;16(12):873–9.
  54. Link E, Parish S, Armitage J, et al. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study. *N Engl J Med.* 2008;359(8):789–99.
  55. Voora D, Shah SH, Spasojevic I, et al. The SLCO1B1\*5 genetic variant is associated with statin-induced side effects. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(17):1609–16.
  56. Genetic determinants of statin intolerance in patients with coronary artery disease in the Uzbek population Alieva, Rano et al. *Atherosclerosis*, Volume 395, 117881
  57. Alieva R, Shek A, Abdullaev A, Fozilov K, Khoshimov S, Abdullaeva G, Zakirova D, Kurbanova R, Kan L and Kim A (2023) E670G PCSK9 polymorphism in HeFH & CAD with diabetes: is the bridge to personalized therapy within reach? *Front. Clin. Diabetes Healthc.* 4:1277288. doi: 10.3389/fcdhc.2023.1277288
  58. Peter Weeke & Dan M. Roden. *Pharmacogenomics and Cardiovascular Disease Curr Cardiol Rep* (2013) 15:376. DOI 10.1007/s11886-013-0376-0
  59. Rathz DA, Brown KM, Kramer LA, Liggett SB. Amino acid 49 polymorphisms of the human beta1-adrenergic receptor affect agonist-promoted trafficking. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2002;39(2):155–60.

60. Harrap SB, Tzourio C, Cambien F, et al. The ACE gene I/D polymorphism is not associated with the blood pressure and cardiovascular benefits of ACE inhibition. *Hypertension*. 2003;42(3):297–303.
61. Agema WR, Jukema JW, Zwinderman AH, van der Wall EE. A meta-analysis of the angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and restenosis after percutaneous transluminal coronary revascularization: evidence for publication bias. *Am Heart J*. 2002;144(5):760–8.
62. Brugs JJ, Isaacs A, Boersma E, et al. Genetic determinants of treatment benefit of the angiotensin-converting enzyme-inhibitor perindopril in patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2010;31(15):1854–64. First study to identify genetic determinants influencing ACE-I therapy.
63. Harrap SB, Tzourio C, Cambien F, et al. The ACE gene I/D polymorphism is not associated with the blood pressure and cardiovascular benefits of ACE inhibition. *Hypertension*. 2003;42(3):297–303.
64. Бабак О.Я., Кравченко Н.А., Виноградова С.В. генетические аспекты эффективности фармакотерапии при сердечно-сосудистой патологии. *Украинский терапевтический журнал*. 2006; 2: 92-99.
65. Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепяхин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. Руководство для врачей. М., 1997.
66. Минушкина Л.О., Затейщиков Д.А., Сидоренко Б.А. Генетические аспекты регуляции эндотелиальной функции при артериальной гипертонии. *Кардиология*. 2000; 3: 68-74.
67. Agarwal AK, Giacchetti G, Lavery G, Nikkila H, Palermo M, Ricketts M, et al. CA-repeat polymorphism in intron 1 of HSD11B2: effects on gene expression and salt sensitivity. *Hypertension* 2000; 36:187–194.
68. Barlassina C, Schork NJ, Manunta P, Citterio L, Sciarrone M, Lanella G, et al. Synergistic effect of alpha-adducin and ACE genes causes blood pressure changes with body sodium and volume expansion. *Kidney Int* 2000; 57:1083-1090.
69. Beeks E, Kessels AG, Kroon AA, van der Klauw MM, de Leeuw PW. Genetic predisposition to salt-sensitivity: a systematic review. *J Hypertens* 2004; 22:1243-1249.
70. Brand E, Schorr U, Ringel J, Beige J, Distler A, Sharma AM. Aldosterone synthase gene (CYP11B2) C-344T polymorphism in Caucasians from the Berlin Salt-Sensitivity Trial (BeSST). *J Hypertens* 1999; 17:1563–1567.
71. Cadman P.E., O'Connor D.T. Pharmacogenomics of hypertension. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2003, Jan; 12(1): 61—70
72. Cannella G., Paoletti E., Barroci S. et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and reversibility of uremic left ventricular hypertrophy following long-term antihypertensive therapy. *Kidney Int*. 1988;54:618-626.
73. Курбанов Р.Д., Абдуллаева Г.Ж., Ганиев Т.З., Абдуллаев А.А.\*, Закиров Н.У. Ассоциация полиморфизма rs2200733 с антиаритмической терапией и прогрессированием фибрилляции предсердий в узбекской

- популяции. Евразийский кардиологический журнал. 2020. № 4. Стр 30-37
74. A randomized trial of beta-blockade in heart failure. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS). CIBIS Investigators and Committees. *Circulation* 1994;90:1765–1773.
  75. Fox KM. Efficacy of perindopril in reduction of cardiovascular events among patients with stable coronary artery disease: randomised, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial (the EUROPA study). *Lancet* 2003;362:782–788.
  76. Hjalmarson A, Goldstein S, Fagerberg B, et al. Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations, and well-being in patients with heart failure: the Metoprolol CR/ XL Randomized Intervention Trial in congestive heart failure (MERIT-HF). MERIT-HF Study Group. *JAMA* 2000;283:1295–1302.
  77. Poole-Wilson PA, Swedberg K, Cleland JGF, et al. Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): randomized controlled trial. *Lancet* 2003;362:7–13.
  78. Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, et al. Effects of candesartan on mortality and morbidity in patients with chronic heart failure: the CHARM-Overall programme. *Lancet* 2003;362:759–766.
  79. Braunwald E. ACE inhibitors — a cornerstone of the treatment of heart failure. *N Engl J Med* 1991;325:351–353.
  80. O'Connor CM, Fiuzat M, Swedberg K, et al. Influence of global region on outcomes in heart failure beta-blocker trials. *J Am Coll Cardio* 2011;58:915–922.
  81. Kurnik D, Li C, Sofowora GG, et al. Beta-1-adrenoceptor genetic variants and ethnicity independently affect response to beta-blockade. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18:895–902.
  82. Leong DP, Chakrabarty A, Shipp N, et al. Effects of myocardial fibrosis and ventricular dyssynchrony on response to therapy in newpresentation idiopathic dilated cardiomyopathy: insights from cardiovascular magnetic resonance and echocardiography. *Eur Heart* 2012;33:640–648.
  83. Elung-Jensen T, Heisterberg J, Sonne J, Strandgaard S, Kamper AL. Enalapril dosage in progressive chronic nephropathy: a randomised, controlled trial. *Eur J Clin Pharmacol* 2005;61:87–96.
  84. McLean R, Hirsch G, Becker L, Kasch-Semenza L, Gerstenblith G, Schulman S. Polymorphisms of the beta adrenergic receptor predict left ventricular remodeling following acute myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther* 2011;25:251–258.
  85. Metra M, Covolo L, Pezzali N, et al. Role of beta-adrenergic receptor gene polymorphisms in the long-term effects of beta-blockade with carvedilol in patients with chronic heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther* 2010;24:49–60.

86. Liggett SB, Cresci SK, Reagan J, et al. A GRK5 polymorphism that inhibits [beta]-adrenergic receptor signaling is protective in heart failure. *Nat Med* 2008;14:510–517. 10.1038/nm1750.
87. McNamara DM, Holubkov R, Postava L, et al. Pharmacogenetic interactions between angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy and the angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:2019–2026.
88. Bristow MR, Murphy GA, Krause-Steinrauf H, et al. An alpha2C-adrenergic receptor polymorphism alters the norepinephrine-lowering effects and therapeutic response of the beta-blocker bucindolol in chronic heart failure. *Circ Heart Fail* 2010;3:21–28.
89. Liggett SB, Mialet-Perez J, Thaneemit-Chen S, et al. A polymorphism within a conserved b1-adrenergic receptor motif alters cardiac function and b-blocker response in human heart failure. *Proc Natl Acad Sci* 2006;103:11288–11293.
90. de Denus S, Zakrzewski-Jakubiak M, Dubé M-P, et al. Effects of AGTR1 A1166C gene polymorphism in patients with heart failure treated with candesartan. *Ann Pharmacother* 2008;42:925–932.
91. Ciccoira M, Zanolla L, Rossi A, et al. Failure of aldosterone suppression despite angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor administration in chronic heart failure is associated with ACE DD genotype. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1808–1812.
92. The SEARCH collaborative group. SLC01B1 variants and statin-induced myopathy — a genome-wide study. *N Engl J Med* 2008; 359:789–799.
93. Smith NL, Felix JF, Morrison AC, et al. Association of genome-wide variation with the risk of incident heart failure in adults of European and African ancestry: a prospective aging research in genomic epidemiology (CHARGE) consortium. *Circ Cardiovasc Genet* 2010;3:256–266.
94. Villard E, Perret C, Gary F, et al. A genome-wide association study identifies two loci associated with heart failure due to dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2011;32: 1065–1076.
95. Morrison AC, Felix JF, Cupples LA, et al. Genomic variation associated with mortality among adults of European and African ancestry with heart failure: the cohorts for heart and aging research in genomic epidemiology consortium. *Circ Cardiovasc Genet* 2010;3:248–255.
96. Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte. *Circulation* 1992;85:790–804.
97. Liggett SB. Pharmacogenomics of [beta]1-adrenergic receptor polymorphisms in heart failure. *Heart Fail Clin* 2010;6:27–33.
98. Bruck H, Leineweber K, Temme T, Weber M, Heusch G, Philipp T, Brodde OE. The Arg389Gly beta1-adrenoceptor polymorphism and catecholamine effects on plasma-renin activity. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:2111–2115.
99. Levin MC, Marullo S, Muntaner O, Andersson B, Magnusson Y. The myocardium-protective Gly-49 variant of the b1-adrenergic receptor exhibits

- constitutive activity and increased desensitization and down-regulation. *J Biol Chem* 2002;277:30429–30435.
100. Borjesson M, Magnusson Y, Hjalmarson A, Andersson B. A novel polymorphism in the gene coding for the beta(1)-adrenergic receptor associated with survival in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2000;21:1853–1858.
  101. Liggett SB, Cresci SK, Reagan J, et al. A GRK5 polymorphism that inhibits [beta]-adrenergic receptor signaling is protective in heart failure. *Nat Med* 2008;14:510–517. 10.1038/nm1750.
  102. Raake PW, Koch WJ, Most P. Polymorphisms present in G-protein-coupled receptor kinases and their effect on beta-blocker treatment. *Pharmacogenomics* 2011;12:295–297.
  103. Spinelli L, Trimarco V, Di Marino S, Marino M, Iaccarino G, Trimarco B. L41Q polymorphism of the G protein coupled receptor kinase 5 is associated with left ventricular apical ballooning syndrome. *Eur J Heart Fail* 2010;12:13–16.
  104. Green SA, Turki J, Innis M, Liggett SB. Amino terminal polymorphisms of the human beta 2- adrenergic receptor impart distinct agonist promote regulatory properties. *Biochemistry* 1994;33:9414–9419.
  105. Green SA, Cole G, Jacinto M, Innis M, Liggett SB. A polymorphism of the human beta 2- adrenergic receptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor. *J Biol Chem* 1993;268:23116–23121.
  106. Leineweber K, Frey U, Tenderich G, et al. The Arg16Gly-b(2)-adrenoceptor single nucleotide polymorphism: exercise capacity and survival in patients with end-stage heart failure. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2010;382:357–365.
  107. Dishy V, Landau R, Sofowora GG, et al. Beta2- adrenoceptor Thr164Ile polymorphism is associated with markedly decreased vasodilator and increased vasoconstrictor sensitivity in vivo. *Pharmacogenetics* 2004;14:517–522.
  108. Khalaila JM, Elami A, Caraco Y. Interaction between [beta]2 adrenergic receptor polymorphisms determines the extent of isoproterenol-induced vasodilatation ex vivo. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17:803–811. 10.1097/FPC.0b013e3281eb8f07.
  109. Small KM, Liggett SB. Identification and functional characterization of [alpha]2- adrenoceptor polymorphisms. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:471–477.
  110. Muszkat M, Kurnik D, Sofowora GG, et al. Desensitization of vascular response in vivo: contribution of genetic variation in the [alpha] 2B- adrenergic receptor subtype. *J Hypertens* 2010;28:278–284.
  111. Small KM, Liggett SB. Identification and functional characterization of [alpha]2- adrenoceptor polymorphisms. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:471–477.

112. Liggett SB, Mialet-Perez J, Thaneemit-Chen S, et al. A polymorphism within a conserved b1- adrenergic receptor motif alters cardiac function and b-blocker response in human heart failure. *Proc Natl Acad Sci* 2006;103:11288–11293.
113. Kaye DM, Smirk B, Williams C, Jennings G, Esler M, Holst D. Beta-adrenoceptor genotype influences the response to carvedilol in patients with congestive heart failure. *Pharmacogenetics* 2003;13:379–382.
114. Terra SG, Hamilton KK, Pauly DF, et al. [Beta]1-Adrenergic receptor polymorphisms and left ventricular remodeling changes in response to [beta]-blocker therapy. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15:227–234.
115. Hesse C, Eisenach JH. Genetic variation in the beta(2)-adrenergic receptor: impact on intermediate cardiovascular phenotypes. *Curr Pharmacogenomics Person Med* 2008; 6:160–170.
116. Liggett SB. Polymorphisms of the b2-adrenergic receptor. *N Engl J Med* 2002;346:536–538.
117. White HL, de Boer RA, Maqbool A, et al. An evaluation of the beta-1 adrenergic receptor Arg389Gly polymorphism in individuals with heart failure: a MERIT-HF sub-study. *Eur J Heart Fail* 2003;5:463–468.
118. de Groote P, Helbecque N, Lamblin N, et al. Association between beta-1 and beta-2 adrenergic receptor gene polymorphisms and the response to beta-blockade in patients with stable congestive heart failure. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15:137–142.
119. Petersen M, Andersen JT, Hjelvang BR, et al. Association of beta-adrenergic receptor polymorphisms and mortality in carvedilol-treated chronic heart-failure patients. *Br J Clin Pharmacol* 2011;71:556–565.
120. Shahin Y, Khan JA, Samuel N, Chetter I. Angiotensin converting enzyme inhibitors effect on endothelial dysfunction: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Atherosclerosis* 2011;216:7–16.
121. Neglia D, Fommei E, Varela-Carver A, et al. Perindopril and indapamide reverse coronary microvascular remodelling and improve flow in arterial hypertension. *J Hypertens* 2011;29:364–372.
122. MacFadyen RJ, Gorski JC, Brater DC, Struthers AD. Furosemide responsiveness, non-adherence and resistance during the chronic treatment of heart failure: a longitudinal study. *Br J Clin Pharmacol* 2004;57:622–631.
123. Taylor AL, Ziesche S, Yancy C, et al. Combination of isosorbide dinitrate and hydralazine in blacks with heart failure. *N Engl J Med* 2004;351:2049–2057.
124. Carson P, Ziesche S, Johnson G, Cohn JN. Racial differences in response to therapy for heart failure: analysis of the vasodilator-heart failure trials. Vasodilator-Heart Failure Trial Study Group. *J Card Fail* 1999;5:178–187.
125. McNamara DM, Tam SW, Sabolinski ML, et al. Endothelial nitric oxide synthase (NOS3) polymorphisms in African Americans with heart failure: results from the A-HeFT trial. *J Cardiac Fail* 2009;15:191–198.

126. Rusert BM, Royal CD. Grassroots marketing in a global era: more lessons from BiDil. *J Law Med Ethics* 2011;39:79–90.
127. Pena SD. The fallacy of racial pharmacogenomics. *Braz J Med Biol Res* 2011;44:268–275.
128. Scarpini F, Cappellone R, Auteri A, Puccetti L. Role of genetic factors in statins side-effects. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2012;12:35–43.
129. Norton N, Li D, Rieder MJ, et al. Genome-wide studies of copy number variation and exome sequencing identify rare variants in BAG3 as a cause of dilated cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 2011;88:273–282.
130. Cappola TP, Li M, He J, et al. Common variants in HSPB7 and FRMD4B associated with advanced heart failure. *Circ Cardiovasc Genet* 2010;3:147–154.
131. Morrison AC, Felix JF, Cupples LA, et al. Genomic variation associated with mortality among adults of European and African ancestry with heart failure: the cohorts for heart and aging research in genomic epidemiology consortium. *Circ Cardiovasc Genet* 2010;3: 248–255.
132. Lanfear DE, Yang JJ, Mishra S, Sabbah HN. Genome-wide approach to identify novel candidate genes for beta blocker response in heart failure using an experimental model. *Discov Med* 2011;11:359–366.
133. Bristow MR. Pharmacogenetic targeting of drugs for heart failure. *Pharmacol Ther* 2012;134: 107–115.
134. Roden DM, Johnson JA, Kimmel SE, Krauss RM, Medina MW, Shuldiner A, Wilke RA. Cardiovascular pharmacogenomics. *Circ Res* 2011;109:807–820.
135. Bloche MG. Race-based therapeutics. *N Engl J Med* 2004;351:2035–2037.
136. Cacioppo JT, Hawkley LC. Social isolation and health, with an emphasis on underlying mechanisms. *Perspect Biol Med* 2003;46(Suppl 3): S39–S52.
137. Piran S, Liu P, Morales A, Hershberger RE. Where genome meets phenome: rationale for integrating genetic and protein biomarkers in the diagnosis and management of dilated cardiomyopathy and heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:283–289.
138. Nagarajan V, Tang WH. Biomarkers in advanced heart failure: diagnostic and therapeutic insights. *Congest Heart Fail* 2011;17:169–174.
139. Felker GM, Hasselblad V, Hernandez AF, O'Connor CM. Biomarker guided therapy in chronic heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am Heart J* 2009;158:422–430.
140. Sharma P, Cosme J, Gramolini AO. Recent advances in cardiovascular proteomics. *J Proteomics* 2012; pii:S1847-3919(12) 007338-5.
141. Hughes AR, Brothers CH, Mosteller M, Spreen WR, Burns DK. Genetic association studies to detect adverse drug reactions: abacavir hypersensitivity as an example. *Pharmacogenomics* 2009;10:225–233.

142. Weber J, McCormack PL. Panitumumab: in metastatic colorectal cancer with wild-type KRAS. *BioDrugs* 2008;22:403–411.
143. Hindorff LA, MacArthur J, Wise A, Junkins HA, Hall PN, Klemm AK, Manolio TA. A catalog of published genome-wide association studies. [www.genome.gov/gwastudies](http://www.genome.gov/gwastudies).
144. Voors AA. A systems biology study to tailored treatment in chronic heart failure. <http://www.biostat-chf.eu/>.
145. Flynn AA. Pharmacogenetics: practices and opportunities for study design and data analysis. *Drug Discov Today* 2011;16:862–866.
146. Biopharma A. [http://www.businesswire.com/news/home/20091116006645/en/ARCAbiopharma-mAnnounces-Corporate-GencaroTMDevelopment- Update](http://www.businesswire.com/news/home/20091116006645/en/ARCAbiopharma-mAnnounces-Corporate-GencaroTMDevelopment-Update).
147. A pharmacogenomic study of candesartan in heart failure. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00400582>.
148. Levy AP, Zhang L, Miller-Lotan R, Redline S, O'Connor G, Quan SF, Resnick HE. Haptoglobin phenotype, sleep-disordered breathing, and the prevalence of cardiovascular disease: the Sleep Heart Health Study. *Sleep* 2005;28:207–213.
149. Roberts JD, Wells GA, Le May MR, et al. Point-of-care genetic testing for personalisation of antiplatelet treatment (RAPID GENE): a prospective, randomised, proof-of-concept trial. *Lancet* 2012;379:1705–1711.
150. Loit E, Tricco AC, Tsouros S, Sears M, Ansari MT, Booth RA. Pre-analytic and analytic sources of variations in thiopurine methyltransferase activity measurement in patients prescribed thiopurine-based drugs: a systematic review. *Clin Biochem* 2011;44:751–757.
151. Hawkins NM, Petrie MC, Jhund PS, Chalmers GW, Dunn FG, McMurray JJ. Heart failure and chronic obstructive pulmonary disease: diagnostic pitfalls and epidemiology. *Eur J Heart Fail* 2009;11:130–139.
152. Ezekowitz J, McAlister FA, Humphries KH, Norris CM, Tonelli M, Ghali WA, Knudtson ML. The association among renal insufficiency, pharmacotherapy, and outcomes in 6,427 patients with heart failure and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1587–1592.
153. O'Connor CM, Hasselblad V, Mehta RH, Tasissa G, Califf RM, Fiuzat M, et al. Triage after hospitalization with advanced heart failure: the ESCAPE (Evaluation Study of Congestive Heart Failure and Pulmonary Artery Catheterization Effectiveness) risk model and discharge score. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:872–878.