

УДК 630.945.4:575.113:[616.1/.153.915/.379-008.64]

# Геномное исследование коморбидности сердечно-сосудистого континуума

О. А. Макеева<sup>1,2\*</sup>, А. А. Слепцов<sup>1</sup>, Е. В. Кулиш<sup>1</sup>, О. Л. Барбараш<sup>2</sup>, А. М. Мазур<sup>3</sup>,  
Е. Б. Прохорчук<sup>3</sup>, Н. Н. Чеканов<sup>3</sup>, В. А. Степанов<sup>1</sup>, В. П. Пузырев<sup>1,4\*\*</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики, 634050, Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, 650000, Кемеровская обл., Кемерово, Сосновый бул., 6

<sup>3</sup>ЗАО «Геноаналитика», 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 77, оф. 102

<sup>4</sup>Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Томск, Московский тракт, 2

\*E-mail: oksana.makeeva@medgenetics.ru

\*\*E-mail: valery.puzyrev@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 14.01.2015

**РЕФЕРАТ** Коморбидность, или сочетание нескольких заболеваний у одного индивида, – явление распространенное и широко исследуемое. Однако генетические основы неслучайного сочетания болезней остаются недостаточно изученными. Современные технологии и методы анализа геномных данных делают возможным определение генетического профиля у больных, «обремененных» множеством болезней (полипатии, конгломераты болезней), и его сравнение с профилем больных отдельными формами патологии. Проведено ассоциативное исследование трех групп больных с различными сочетаниями сердечно-сосудистых заболеваний и контрольной группы. Выборки больных формировались по принципу только одного заболевания – ишемическая болезнь сердца (ИБС), сочетание двух заболеваний – ИБС и артериальная гипертензия (АГ), сочетание нескольких болезней – ИБС, АГ, сахарный диабет типа 2 (СД2) и гиперхолестеринемия (ГХ). Генотипирование проводили на платформе геномного сервиса «Мой ген» ([www.i-gene.ru](http://www.i-gene.ru)). Представлен анализ ассоциаций более 1400 генетических полиморфных вариантов с изучаемыми фенотипами. С фенотипом «только ИБС» ассоциировано 14 полиморфных вариантов, в том числе, относящихся к генам *APOB*, *CD226*, *NKX2-5*, *TLR2*, *DPP6*, *KLRB1*, *VDR*, *SCARB1*, *NEDD4L*, *SREBF2*, и варианты в межгенных промежутках rs12487066, rs7807268, rs10896449 и rs944289. С фенотипом «ИБС в сочетании с АГ» ассоциировано 13 генетических маркеров, в том числе в генах *BTNL2*, *EGFR*, *CNTNAP2*, *SCARB1*, *HNF1A* и межгенные полиморфные варианты rs801114, rs10499194, rs13207033, rs2398162, rs6501455, rs1160312. С сочетанием нескольких болезней сердечно-сосудистого континуума (ССК) ассоциировано 14 генетических маркеров, в том числе в генах *TAS2R38*, *SEZ6L*, *APOA2*, *KLF7*, *CETP*, *ITGA4*, *RAD54B*, *LDLR* и *MTAP* и варианты в межгенных промежутках rs1333048, rs1333049 и rs6501455. Для фенотипов «только ИБС» и «ИБС в сочетании с АГ» выявлен один общий генетический маркер – rs4765623 гена *SCARB1*; для «ИБС в сочетании с АГ» и сочетанием нескольких заболеваний (синтропией) выявлено два общих генетических маркера – rs663048 гена *SEZ6L* и rs6501455, находящийся в межгенном регионе; между «синтропией» и «только ИБС» не найдено общих генов из числа изученных. В результате классифицирующего анализа принадлежности ассоциированных генов к основным метаболическим путям организма установлено, что гены липидного обмена вовлечены в формирование всех трех вариантов течения болезней ССК, а гены иммунного ответа специфичны для «изолированной» формы ИБС. Показано также, что коморбидность представляет собой дополнительную сложность на пути использования данных ассоциативных генетических исследований в тестах наследственной предрасположенности к заболеваниям, так как генетический профиль сочетанных заболеваний может отличаться от профиля отдельных, не сочетанных форм патологии.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** ассоциативные исследования, генетический полиморфизм, коморбидность, многофакторные заболевания, сердечно-сосудистый континуум, синтропия.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** АГ – артериальная гипертензия; ГХ – гиперхолестеринемия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ОКС – острый коронарный синдром; СД2 – сахарный диабет типа 2; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ССК – сердечно-сосудистый континуум.

## ВВЕДЕНИЕ

В клинической практике давно обозначена проблема множественных сочетанных заболеваний [1, 2]. До 80% бюджета здравоохранения развитых стран расходуется на пациентов с четырьмя и более заболеваниями [3]. Наиболее распространенный термин для обозначения этого феномена – коморбидность [1]. Однако только та часть сочетанных болезней, которая имеет общую генетическую основу и сходный патогенез, относится к синтропиям, болезням «притяжения», «взаимной склонности» («attraction») [4]. Известно множество клинически доказанных синтропных заболеваний: иммунозависимые болезни (аллергические и аутоиммунные) [5, 6]; эндокринные заболевания, в том числе сочетание сахарного диабета (СД2), аутоиммунного тиреоидита и глютеновой энтеропатии [7], некоторые формы психических заболеваний [8]. Среди них – сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), объединяемые понятием сердечно-сосудистого континуума (ССК).

Термин сердечно-сосудистый континуум в начале 1990-х годов предложили Дзау и Браунвальд. Понятие ССК хорошо описывает развитие и прогрессирование заболеваний во времени, однако также отражает и суть взаимоотношений факторов риска (генетических и внешнесредовых), демонстрируя их общность [9–11]. Гипотеза ССК постулирует, что сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) представляют собой определенную цепь событий, которая может запускаться многочисленными взаимосвязанными или независимыми факторами риска, прогрессирует в результате включения множественных сигнальных путей и физиологических процессов, что в итоге приводит к терминальной стадии болезни сердца. Сердечно-сосудистые факторы риска включают повышенный уровень холестерина, артериальную гипертензию, сахарный диабет, курение, ожирение и недостаточную физическую активность. В основе континуума ССЗ (континуум клинических фенотипов) лежит патофизиологический континуум, который включает прогрессирующие на молекулярном и клеточном уровне изменения, на клиническом уровне манифестирующие как болезнь. В основе таких процессов лежат окислительный стресс и эндотелиальная дисфункция, которые, в свою очередь, инициируют целый каскад событий, включая нарушения в системе вазоактивных медиаторов, неспецифический воспалительный ответ и ремоделирование сосудов. Все это приводит к поражению органов-мишеней.

Проблема коморбидности (сочетания заболеваний) создает дополнительную сложность при клиническом использовании геномных маркеров для прогнозирования риска заболеваний. Играют ли генетические

варианты, повышающие риск какого-либо одного заболевания, такую же патогенетическую роль и в случае комплексного фенотипа (сочетание нескольких заболеваний) или их вклад меняется? Как при разработке подходов к генетическому тестированию многофакторных заболеваний учитывать явление генетического плейотропизма и разнонаправленное действие некоторых генетических вариантов: в отношении одного заболевания вариант может быть рисковым, в отношении другого – протективным?

В настоящей работе приведены результаты сравнительного анализа генетической компоненты трех клинических фенотипов – одно заболевание, сочетание двух заболеваний и сочетание нескольких ССЗ – с использованием набора маркеров геномного сервиса «Мой ген» ([www.i-gene.ru](http://www.i-gene.ru)). Главная цель исследования состояла в поиске общих и специфических генетических маркеров и сравнительном анализе генетической компоненты разных сочетаний сердечно-сосудистых заболеваний.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В исследование вошли три группы больных с разными сочетаниями ССЗ и контрольная выборка практически здоровых индивидов. Больных с различными сочетаниями заболеваний отбирали из одной общей выборки, включающей более 800 случаев госпитализации в специализированный кардиологический стационар по поводу острого коронарного синдрома (ОКС). Все пациенты прошли детальное клинико-лабораторное обследование в отношении как основного диагноза, так и сопутствующей патологии. Первую выборку отбирали по следующим критериям: больные с ИБС (инфаркт миокарда) без какой-либо сопутствующей патологии ( $n = 61$ ). Таким образом, у больных этой группы диагностирована только ИБС, а другие болезни, такие, как АГ, СД2, исключались. Вторая выборка включала пациентов с сочетанием двух заболеваний – ИБС и АГ ( $n = 180$ ), больные с какими-либо другими ССЗ исключались. Третья выборка включала больных с сочетанием ИБС, АГ, СД2 и ГХ ( $n = 68$ ). Выборка с сочетанием нескольких заболеваний обозначена далее как «синтропия ССК». У остальных пациентов ИБС сочеталась с другой патологией, их в данном исследовании не анализировали.

Контрольная группа относительно здоровых индивидов ( $n = 131$ ) была сформирована по критериям отсутствия ССЗ в анамнезе, нормальным показателям артериального давления, нормальным эхокардиологическим параметрам и показателям липидного спектра крови. Индивидов этой группы отбирали по указанным критериям из эпидемиологической выборки, сформированной для изучения факторов риска ИБС.

Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенол-хлороформной экстракции [12]. Генотипирование проводили на микрочипах Illumina Custom Genotyping Microarrays iSelectHD, изготовленных по заказу ЗАО «Геноаналитика» для геномного сервиса «Мой ген». Микрочип включал 4416 генетических вариантов, из которых 2121 представлены однонуклеотидными заменами в 98 генах моногенных заболеваний, и 1913 полиморфных вариантов ядерного и 382 – митохондриального генома.

С целью минимизации технологической погрешности генотипирования, полиморфные варианты и образцы ДНК отбирали в соответствии со следующими критериями:

- 1) доля генотипированных однонуклеотидных вариантов для одного образца должна составлять не менее 98%;
- 2) доля генотипированных образцов по каждому полиморфному варианту должна превышать 98%;
- 3) идентичность генотипов любых двух образцов должна быть меньше 98%;
- 4) соответствие генотипических данных половой принадлежности полу индивида;
- 5) соблюдение равновесия Харди–Вайнберга в объединенной выборке при уровне статистической значимости  $P > 10^{-8}$  и в контрольной группе при  $P > 0.05$ ;
- 6) частота редкого аллеля более 5%;
- 7) полиморфные варианты локализованы в аутосомах.

В результате контроля качества генотипирования с последующим исключением однонуклеотидных замен генов моногенных заболеваний и однонуклеотидных вариантов, локализованных в половых хромосомах и митохондриях, для дальнейшего анализа отобрали 407 образцов геномной ДНК и 1400 полиморфных вариантов.

Ассоциации анализировали с использованием программных пакетов GenABEL для статистической среды R версии 2.14.2. Уровень статистической значимости, рассчитанный методом случайных перестановок с репликацией 10000 раз (пермутационный тест), считали равным  $P < 0.05$ . Сетевой анализ межгенных взаимодействий проводили на платформе Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins [13]. Для аннотации метаболических и сигнальных путей использовали WEB-based Gene Set Analysis Toolkit [14]. Прогностическую эффективность полиморфных вариантов, показавших статистически значимые ассоциации с изучаемыми фенотипами, анализировали стандартными методами расчета AUC (Area Under Curve).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Основная задача исследования состояла в определении общих и специфических генов для исследуемых

фенотипов: отдельное заболевание (ИБС), сочетание двух заболеваний (ИБС и АГ) и комплексный фенотип «синтропия», представляющий собой сочетание нескольких сердечно-сосудистых патологических состояний. Для выявления генов, ассоциированных с тем или иным фенотипом (болезнью или сочетанием болезней), сравнивали частоты аллелей и генотипов у больных и в группе контроля (исследование «случай–контроль»), рассчитывали показатель отношения шансов (OR) и оценивали прогностическую значимость генетических маркеров, показавших статистически значимые ассоциации. Все генетические маркеры/гены классифицировали по принадлежности к тому или иному метаболическому пути или классу генов. Для аннотирования сигнальных и метаболических путей использовали сервис WebGestalt (WEB-based GENE SET ANALYSIS TOOLKIT).

В табл. 1–3 приведена номенклатура и основные статистики генетических вариантов, частоты аллелей которых отличались в группах больных и контроле: хромосомная локализация, rs-номер, частота редкого аллеля, расположение по отношению к близлежащим генам, показатель величины отношения шансов OR. В табл. 4 представлены показатели прогностической ценности полиморфных вариантов, ассоциированных с каким-либо фенотипом: болезнью или сочетанием болезней.

Далее рассмотрим результаты, полученные для каждой из изучаемых фенотипических групп.

### Генетические маркеры, ассоциированные с фенотипом ИБС

С фенотипом «только ИБС» ассоциировано 14 полиморфных вариантов (см. табл. 1). Среди них два варианта представлены миссенс-заменами: rs1367117 в гене APOB и rs763361 в гене CD226. Один вариант – rs3095870 – расположен вблизи 5'-конца гена NKX2-5. Семь вариантов находятся в интронных областях: rs1898830 в гене TLR2, rs10239794 в DPP6, rs4763655 в KLRB1, rs7975232 в VDR, rs4765623 в SCARB1, rs3865418 в NEDD4L и rs2267439 в SREBF2. Четыре генетических маркера локализованы в межгенных промежутках: rs12487066, rs7807268, rs10896449 и rs944289 (табл. 1). Прогностическая ценность маркеров, ассоциированных с данным фенотипом, варьировала от 0.62 у rs12487066 до 0.57 для rs1367117 (табл. 4).

С целью анализа структуры наследственной компоненты изучаемых фенотипов выделили несколько групп ассоциированных генов в соответствии с основной биологической функцией, выполняемой ими в организме. Так, гены, варианты которых показали ассоциацию с фенотипом «только ИБС», условно можно разделить на три группы: 1) гены, отвечаю-

Таблица 1. Полиморфные варианты, показавшие ассоциацию с фенотипом «только ИБС»

| Хромосома | Символ гена   | Локализация SNP | SNP        | Аллель: MAF | Аллель: OR (95% ДИ) | Точный тест Фишера | Генотипы: OR (95% ДИ) | $P\chi^2$ perm. test |
|-----------|---------------|-----------------|------------|-------------|---------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|
| 2p24      | <i>APOB</i>   | Миссенс         | rs1367117  | A:0.29      | A:1.76 (1.08–2.88)  | 0.022              | AA:3.59 (1.25–10.85)  | 0.01                 |
| 3q13.1    |               |                 | rs12487066 | G:0.23      | A:0.47 (0.28–0.79)  | 0.0026             | AA:0.37 (0.18–0.74)   | 0.0031               |
| 4q32      | <i>TLR2</i>   | Интрон          | rs1898830  | G:0.34      | A:0.51 (0.31–0.82)  | 0.0038             | AA:0.43 (0.19–0.9)    | 0.021                |
| 5q34      | <i>NKX2-5</i> | 5'-конец        | rs3095870  | A:0.39      | G:1.83 (1.1–3.12)   | 0.017              | GG:2.09 (1.06–4.17)   | 0.024                |
| 7q36.1    |               |                 | rs7807268  | C:0.45      | C:1.96 (1.22–3.17)  | 0.0045             | CC:2.73 (1.29–5.82)   | 0.0065               |
| 7q36.2    | <i>DPP6</i>   | Интрон          | rs10239794 | A:0.37      | A:1.99 (1.24–3.2)   | 0.0029             | AA:3.35 (1.4–8.26)    | 0.0041               |
| 11q13     |               |                 | rs10896449 | G:0.46      | A:0.57 (0.35–0.92)  | 0.016              | AA:2.36 (1.16–4.8)    | 0.011                |
| 12p13     | <i>KLRB1</i>  | Интрон          | rs4763655  | A:0.34      | G:0.56 (0.35–0.91)  | 0.014              | GG:0.45 (0.21–0.94)   | 0.031                |
| 12q13.11  | <i>VDR</i>    | Интрон          | rs7975232  | A:0.54      | A:0.57 (0.35–0.91)  | 0.013              | AA:0.32 (0.11–0.8)    | 0.009                |
| 12q24.31  | <i>SCARB1</i> | Интрон          | rs4765623  | A:0.25      | G:0.57 (0.35–0.95)  | 0.025              | GG:0.4 (0.2–0.8)      | 0.0068               |
| 14q13.3   |               |                 | rs944289   | G:0.38      | A:0.55 (0.34–0.88)  | 0.012              | AA:0.42 (0.18–0.9)    | 0.017                |
| 18q22.3   | <i>CD226</i>  | Миссенс         | rs763361   | A:0.39      | A:1.79 (1.12–2.87)  | 0.012              | AA:2.51 (1.11–5.7)    | 0.018                |
| 18q21     | <i>NEDD4L</i> | Интрон          | rs3865418  | A:0.53      | A:0.56 (0.35–0.91)  | 0.013              | AA:0.36 (0.13–0.86)   | 0.017                |
| 22q13     | <i>SREBF2</i> | Интрон          | rs2267439  | G:0.39      | A:2.25 (1.33–3.92)  | 0.0018             | AA:2.32 (1.17–4.67)   | 0.01                 |

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 MAF – частота минорного (редкого) аллеля; ДИ – доверительный интервал; OR (95% ДИ) – отношение шансов (95% доверительный интервал);  $P\chi^2$  – уровень значимости по хи-квадрату для аллелей с одной степенью свободы;  $P\chi^2$  permutation test – уровень значимости по хи-квадрату для генотипов с двумя степенями свободы.

щие за метаболизм липидов, 2) гены, связанные с иммунитетом, и 3) специфические для функции сердца гены.

К группе генов, связанных с метаболизмом липидов, относятся *APOB*, *SREBF2* и *SCARB1*. Так продукт гена *APOB* является основным аполипопротеином хиломикрона и липопротеинов низкой плотности. Известно, что полиморфные варианты и некоторые мутации гена *APOB* связаны с ГХ и высоким риском ИБС [15, 16].

Продукт гена *SREBF2* – активатор транскрипции, необходимый для поддержания липидного гомеостаза. В частности, данный ген регулирует ген *LDLR*, который кодирует рецептор ЛПНП, а также влияет на уровень холестерина и синтез жирных кислот [17].

Ген *SCARB1* кодирует рецептор различных лигандов, участвующих в липидном обмене, таких, как фосфолипиды, эфиры холестерина, липопротеины и фосфатидилсерин. Предположительно, продукт данного гена также участвует в фагоцитозе апоптотных клеток посредством своей фосфатидилсеринсвязывающей активности и в процессах поглощения эфиров холестерина ЛПВП [18].

К группе генов, имеющих отношение к регуляции иммунитета, отнесены *TLR2*, *KLRB1*, *CD226* и *VDR*.

Ген *TLR2* взаимодействует с генами *LY96* и *TLR1* и играет важную роль в формировании врожденного иммунного ответа на бактериальные липопроотеины и другие компоненты микробной стенки. Он активируется факторами MYD88 и TRAF6, что приводит к активации цитокинов фактором NF- $\kappa$ B и воспалительной реакции. Продукт гена может также способствовать апоптозу [19]. Структурные полиморфизмы в этом гене ассоциированы с восприимчивостью к проказе и некоторым инфекционным заболеваниям [20].

Ген *KLRB1* играет роль ингибитора естественных киллерных клеток (клеток цитотоксичности). Он экспрессируется в Т-лимфоцитах периферической крови, преимущественно в Т-клетках с антигенной памятью [21].

Ген *CD226* кодирует рецептор, участвующий в процессах межклеточной адгезии, сигнализации лимфоцитов, цитотоксичности и секреции лимфокинов цитотоксическими Т-лимфоцитами и НК-клетками [22].

Ген *VDR* кодирует ядерный рецептор витамина D3, однако известно, что этот белок функционирует и в качестве рецептора вторичной желчной кислоты – литохолевой кислоты. Рецептор витамина D3 участву-

Таблица 2. Полиморфные варианты, показавшие ассоциацию с фенотипом «ИБС в сочетании с АГ»

| Хромосома   | Символ гена    | Локализация SNP | SNP        | Аллель: MAF | Аллель: OR (95% ДИ) | Точный тест Фишера | Генотипы: OR (95% ДИ) | $P\chi^2$ perm. test |
|-------------|----------------|-----------------|------------|-------------|---------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|
| 1q42        |                |                 | rs801114   | C:0.39      | C:0.66 (0.46–0.95)  | 0.025              | CC:0.3 (0.12–0.7)     | 0.0018               |
| 2q35        | <i>XRCC5</i>   | 3'-Конец        | rs2440     | A:0.33      | A:1.57 (1.1–2.26)   | 0.012              | AA:2.48 (1.12–5.93)   | 0.017                |
| 6p21.3      | <i>BTNL2</i>   | Миссенс         | rs2076530  | G:0.39      | G:1.57 (1.1–2.23)   | 0.01               | GG:1.96 (1.02–3.92)   | 0.034                |
| 6q23        |                |                 | rs10499194 | A:0.35      | G:1.52 (1.04–2.22)  | 0.026              | GG:2.07 (1.25–3.44)   | 0.0037               |
| 6q23        |                |                 | rs13207033 | A:0.35      | G:1.49 (1.02–2.18)  | 0.033              | GG:2.02 (1.22–3.36)   | 0.004                |
| 7p12        | <i>EGFR</i>    | Инtron          | rs763317   | A:0.42      | G:0.67 (0.47–0.95)  | 0.022              | GG:0.5 (0.29–0.88)    | 0.011                |
| 7q35        | <i>CNTNAP2</i> | Инtron          | rs7794745  | T:0.36      | A:0.69 (0.48–0.98)  | 0.032              | AA:0.52 (0.31–0.87)   | 0.011                |
| 12q24.31    | <i>SCARB1</i>  | Инtron          | rs4765623  | A:0.25      | A:0.63 (0.43–0.93)  | 0.017              | AA:0.49 (0.3–0.82)    | 0.0038               |
| 15q26       |                |                 | rs2398162  | G:0.4       | A:0.68 (0.47–0.97)  | 0.033              | AA:0.43 (0.19–0.93)   | 0.027                |
| 17cen–q21.3 | <i>HNF1A</i>   | Инtron          | rs4430796  | G:0.36      | G:1.59 (1.12–2.28)  | 0.0077             | GG:2.12 (1.09–4.3)    | 0.024                |
| 17q24.3     |                |                 | rs6501455  | G:0.32      | A:1.52 (1.05–2.19)  | 0.023              | AA:2.4 (1.08–5.75)    | 0.024                |
| 20p11       |                |                 | rs1160312  | G:0.42      | G:1.56 (1.1–2.22)   | 0.011              | GG:2.21 (1.16–4.38)   | 0.013                |
| 22q12.1     | <i>SEZ6L</i>   | Миссенс         | rs663048   | A:0.19      | C:0.57 (0.38–0.87)  | 0.0082             | CC:0.53 (0.31–0.88)   | 0.011                |

Примечание. См. примечание к табл. 1.

ет в минеральном обмене (обмен кальция), хотя может также регулировать целый ряд других метаболических путей, в частности иммунный ответ [23].

К третьей группе относятся гены, принадлежащие к различным метаболическим и сигнальным путям, но вовлеченные в специфические для сердца функции. Два из них связаны с трансмембранным транспортом электролитов и **проводящей системой сердца** (*NEDD4L* и *DPP6*), а третий – ген *NKX2-5* – кодирует специфичный для сердца **фактор транскрипции**.

Ген *NEDD4L* играет важную роль в транспорте натрия в эпителии, регулируя экспрессию натриевых каналов на поверхности эпителиальных клеток. Было показано, что продукт этого гена участвует в формировании мембранного потенциала и передаче импульса по проводящей системе сердца [24]. Дунн с соавт. [25] показали ассоциацию некоторых полиморфных вариантов гена *NEDD4L* с эссенциальной гипертензией. Аллель А полиморфного варианта rs3865418 ассоциирован с высоким диастолическим давлением у китайцев ( $OR = 1.31 (1.04–1.67)$ ,  $P = 0.025$ ) [26]. В настоящем исследовании аллель А и ге-

нотип АА оказывали протективный эффект в отношении ИБС (табл. 2).

Ген *DPP6* кодирует мембранный белок (белок 6, подобный дипептидиламинопептидазе), член семейства S9В сериновых протеаз. Он способен связываться со специфическими потенциал-зависимыми калиевыми каналами, влияя таким образом на их экспрессию, биофизические свойства и активность канала [27]. Дефекты гена *DPP6* приводят к развитию семейной пароксизмальной фибрилляции желудочков типа 2 [28].

Ген *NKX2-5*, экспрессируемый исключительно в сердце, кодирует гомеобоксодержащий фактор транскрипции. Этот фактор непосредственно участвует в формировании и развитии сердца во внутриутробном периоде [29]. Мутации в гене *NKX2-5* вызывают различные пороки сердца – от малых аномалий до тетрады Фалло (MIM:108900,187500).

#### Генетические маркеры, ассоциированные с фенотипом «ИБС в сочетании с АГ»

С фенотипом «ИБС в сочетании с АГ» ассоциировано 13 генетических маркеров из числа из-

Таблица 3. Полиморфные варианты, показавшие ассоциацию с группой «синтропия ССК»

| Хромосома | Символ гена    | Локализация         | SNP        | Аллель: MAF | Аллель: OR (95% ДИ) | Точный тест Фишера | Генотипы: OR (95% ДИ) | $P\chi^2$ perm. test |
|-----------|----------------|---------------------|------------|-------------|---------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|
| 1q21      | <i>APOA2</i>   | 5'-Конец            | rs5082     | G:0.47      | A:1.83 (1.15–2.93)  | 0.0082             | AA:2.42 (1.22–4.82)   | 0.007                |
| 2q31.3    | <i>ITGA4</i>   | Синонимичная замена | rs1143674  | A:0.39      | A:1.76 (1.12–2.78)  | 0.011              | AA:2.84 (1.27–6.47)   | 0.0069               |
| 2q32      | <i>KLF7</i>    | 5'-Конец            | rs7568369  | A:0.28      | C:0.45 (0.28–0.73)  | 0.00084            | CC:0.34 (0.16–0.68)   | 0.0007               |
| 7q34      | <i>TAS2R38</i> | Миссенс             | rs1726866  | G:0.48      | A:1.65 (1.04–2.63)  | 0.028              | AA:2.42 (1.22–4.82)   | 0.0073               |
|           |                | Миссенс             | rs10246939 | G:0.48      | A:1.65 (1.04–2.63)  | 0.028              | AA:2.42 (1.22–4.82)   | 0.0073               |
| 8q22.1    | <i>RAD54B</i>  | Синонимичная замена | rs2291439  | G:0.42      | G:0.6 (0.37–0.97)   | 0.032              | GG:0.25 (0.06–0.77)   | 0.011                |
| 9p21      | <i>MTAP</i>    | Интрон              | rs7023329  | G:0.52      | A:1.95 (1.23–3.11)  | 0.0031             | AA:2.38 (1.2–4.76)    | 0.0079               |
| 9p21.3    |                |                     | rs1333048  | C:0.45      | A:0.6 (0.38–0.94)   | 0.022              | AA:0.37 (0.15–0.87)   | 0.018                |
| 9p21.3    |                |                     | rs1333049  | G:0.44      | C:0.61 (0.38–0.95)  | 0.028              | CC:0.39 (0.16–0.88)   | 0.022                |
| 16q21     | <i>CETP</i>    | 5'-Конец            | rs183130   | A:0.35      | G:2.04 (1.21–3.51)  | 0.006              | GG:2.19 (1.13–4.32)   | 0.013                |
| 17q24.3   |                |                     | rs6501455  | G:0.32      | G:2.06 (1.3–3.29)   | 0.0015             | GG:3.91 (1.56–10.33)  | 0.0016               |
| 19p13.2   | <i>LDLR</i>    | Интрон              | rs2738446  | G:0.34      | C:0.61 (0.38–0.97)  | 0.032              | CC:0.38 (0.18–0.77)   | 0.0045               |
|           |                | Синонимичная замена | rs688      | A:0.34      | G:0.61 (0.38–0.97)  | 0.032              | GG:0.38 (0.18–0.77)   | 0.0048               |
| 22q12.1   | <i>SEZ6L</i>   | Миссенс             | rs663048   | A:0.19      | C:0.52 (0.31–0.88)  | 0.01               | CC:0.49 (0.25–0.95)   | 0.027                |

Примечание. См. примечание к табл. 1.

ученных (табл. 2). Два из них – миссенс-замены (rs2076530 в гене *BTNL2* и rs663048 в гене *SEZ6L*), четыре – варианты в интронах (rs763317 *EGFR*, rs7794745 *CNTNAP2*, rs4765623 *SCARB1*, rs4430796 *HNF1A*), и шесть – в межгенных областях (rs801114, rs10499194, rs13207033, rs2398162, rs6501455 и rs1160312).

Прогностическая ценность генетических маркеров, оцененная по показателю AUC (площадь под ROC-кривой), варьировала от 0.59 до 0.55 (табл. 4).

Интересно, что данный набор генов трудно связать с каким-либо определенным метаболическим путем и классифицировать подобно генам, ассоциированным с фенотипом «только ИБС». Внимания, несомненно, заслуживает тот факт, что несколько генов связаны с **иммунитетом, предрасположенностью к раку и радиочувствительностью**.

Так ген *BTNL2* относится к регуляторам иммунитета: его продукт – бутирофиллино-подобный белок типа 2, принадлежит к семейству рецепторов В7, которые функционируют как молекулы, стимулирую-

щие Т-клетки: влияют на продукцию цитокинов и регулируют пролиферацию Т-клеток. Полиморфные варианты этого гена ассоциированы с повышенным риском развития рака предстательной железы, болезнью Кавасаки, а также с повреждением коронарных артерий при этом заболевании [30]. Показана связь вариантов этого гена с подверженностью к туберкулезу [31]. Варианты в *BTNL2* связаны с развитием коронарного атеросклероза согласно данным полногеномного исследования [32].

К генам, так или иначе ассоциированным с онкогенезом и иммунной системой, относятся *XRCC5*, *EGFR*, *HNF1A* и *SEZ6L*. Ген *XRCC5* кодирует субъединицу белка Ku размером 80 кДа. Гетеродимерный белок Ku – это АТФ-зависимая ДНК-геликаза II, которая участвует в репарации ДНК путем негомологичного соединения концов. Белок Ku участвует в рекомбинации, необходимой для создания разнообразия антигенсвязывающих центров антител у млекопитающих. Кроме того, Ku-белки вовлечены в поддержание длины теломер и сайленсинг прите-

Таблица 4. Прогностическая эффективность полиморфных вариантов, ассоциированных с фенотипами «только ИБС», «ИБС в сочетании с АГ» и «синтропия ССК»

| «Только ИБС»     |      | «ИБС в сочетании с АГ» |      | «Синтропия ССК»  |      |
|------------------|------|------------------------|------|------------------|------|
| SNP              | AUC  | SNP                    | AUC  | SNP              | AUC  |
| rs1367117        | 0.57 | rs801114               | 0.56 | rs5082           | 0.60 |
| rs12487066       | 0.62 | rs2440                 | 0.55 | rs1143674        | 0.59 |
| rs1898830        | 0.59 | rs2076530              | 0.55 | rs7568369        | 0.63 |
| rs3095870        | 0.59 | rs10499194             | 0.59 | rs1726866        | 0.60 |
| rs7807268        | 0.60 | rs13207033             | 0.59 | rs10246939       | 0.60 |
| rs10239794       | 0.59 | rs763317               | 0.57 | rs2291439        | 0.57 |
| rs10896449       | 0.60 | rs7794745              | 0.58 | rs7023329        | 0.60 |
| rs4763655        | 0.61 | <b>rs4765623</b>       | 0.59 | rs1333048        | 0.58 |
| rs7975232        | 0.59 | rs2398162              | 0.55 | rs1333049        | 0.58 |
| <b>rs4765623</b> | 0.61 | rs4430796              | 0.56 | rs183130         | 0.60 |
| rs944289         | 0.59 | <b>rs6501455</b>       | 0.58 | <b>rs6501455</b> | 0.59 |
| rs763361         | 0.58 | rs1160312              | 0.56 | rs2738446        | 0.60 |
| rs3865418        | 0.59 | rs3843763              | 0.58 | rs688            | 0.60 |
| rs2267439        | 0.60 | <b>rs663048</b>        | 0.58 | <b>rs663048</b>  | 0.59 |

Примечание. AUC – area under curve (область под кривой).

ломерных генов [33]. Известно, что редкий микросателлитный полиморфизм данного гена ассоциирован с онкопатологией и радиочувствительностью.

Белок, кодируемый геном *EGFR*, представляет собой трансмембранный гликопротеин, рецептор эпидермального фактора роста [34]. Дефекты данного гена приводят к нарушению апоптоза, активно изучается связь этого гена с канцерогенезом [35]. Аллель А rs763317, считающийся аллелем риска рака легкого, относится к неблагоприятным в отношении фенотипа «ИБС в сочетании с АГ».

Продукт гена *HNF1A* – активатор транскрипции, регулирующий тканеспецифичную экспрессию некоторых генов, особенно в клетках поджелудочной железы и печени [36]. Дефект гена приводит к семейной форме аденомы печени (MIM:142330), сахарному диабету типа MODY3 (MIM:600496) и к инсулинзависимому сахарному диабету типа 2 (MIM:612520). Нами показано, что аллель G, являющийся фактором риска СД2, неблагоприятен в отношении развития сочетанной патологии ИБС и АГ.

Функция гена *SEZ6L* изучена недостаточно. Предполагается, что он связан со специфическими функциями эндоплазматического ретикулума. Ген экспрессируется в тканях головного мозга и легких и не экспрессируется в клетках рака легкого, поэтому активно изучается [37]. Опубликованы данные

о связи полиморфных вариантов гена *SEZ6L* с ИБС [38], однако механизм такой связи не известен. Нами получены данные о том, что аллель риска развития рака легкого является неблагоприятным фактором и для ИБС в сочетании с АГ.

Нами установлено, что ген *CNTNAP2* ассоциирован с сердечно-сосудистым фенотипом (что необычно, учитывая известные функции этого гена). Ген *CNTNAP2* кодирует трансмембранный белок, входящий в семейство нейрексинов, которые функционируют в нервной системе в качестве молекул клеточной адгезии и рецепторов. Белок *CNTNAP2* осуществляет свои основные функции в миелинизированных аксонах, обеспечивая взаимодействие между нейронами и глией. Он также отвечает за локализацию калиевых каналов и дифференциацию аксонов на отдельные функциональные субдомены. Варианты гена *CNTNAP2* связаны с широким спектром психических заболеваний, включая аутизм, шизофрению, умственную отсталость, дислексию и нарушение языковых функций [39]. Аллель А – рискованный в отношении развития шизофрении, протективный в отношении фенотипа «ИБС в сочетании с АГ».

Ген *SCARB1* связан с липидным обменом как описано нами. Это ген, «общий» для фенотипов «ИБС» и сочетания «ИБС и АГ».

Функции нескольких генетических вариантов, находящихся в межгенных областях, требуют дальнейшего анализа. Ассоциация с заболеванием может объясняться неравновесием по сцеплению с некоторыми другими генами/вариантами, непосредственно влияющими на формирование заболевания или самостоятельным регуляторным значением. Межгенный вариант rs1160312A по данным некоторых исследований связан с облысением, в то же время он протективный в случае ИБС в сочетании с АГ. По данным масштабного исследования консорциума Wellcome Trust, выполненного методом «случай–контроль», аллель А rs2398162 этого гена является фактором риска эссенциальной гипертензии, в нашей работе аллель А – протективный.

### Генетические маркеры, ассоциированные с фенотипом «синтропия ССК»

С синтропией ССК ассоциированы 14 маркеров (табл. 3). Из них три представлены миссенс-заменами: rs1726866 и rs10246939 в гене *TAS2R38* и rs66048 в гене *SEZ6L*; три – локализованы вблизи 5'-области генов: rs5082 гена *APOA2*, rs7568369 в 5'-области гена *KLF7* и rs183130 в 5'-области гена *CETP*; три варианта представляли собой синонимичные замены: rs1143674 в гене *ITGA4*, rs2291439 в гене *RAD54B* и rs688 в гене *LDLR*; два варианта находились в интронных областях: rs2738446 в гене *LDLR* и rs7023329 в гене *MTAP*; три маркера располагались в межгенных промежутках: rs1333048 и rs1333049 в области 9p21.3 и rs6501455, локализованный в 17q24.3 между генами *KCNJ2* и *SOX9*, примерно на одинаковом расстоянии (1 млн п. н.).

Гены, ассоциированные с фенотипом «синтропия ССК», можно отнести к одной из следующих групп: а) отвечающие за нарушение липидного метаболизма, б) гены иммунитета и воспаления, в) гены с разными функциями.

Гены *CETP*, *LDLR* и *APOA2* связаны с липидным метаболизмом. Ген *CETP* кодирует переносчик нерастворимых эфиров холестерина. Полиморфные варианты гена *CETP* влияют на уровень липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). В частности, при мутациях данного гена развивается гипер- $\alpha$ -липопротеинемия, сопровождающаяся высоким уровнем ЛПВП (MIM:143470). Аллель G rs183130 ассоциирован с низким уровнем холестерина в составе ЛПВП [40]. Нами показано его участие в формировании фенотипа синтропии ССК.

Ген *LDLR* кодирует белок, функционирующий в качестве посредника эндоцитоза ЛПНП, богатых холестерином [41]. Варианты гена *LDLR* rs2738446 и rs688 находятся в неравновесии по сцеплению. Во Фрамингемском исследовании rs688 ассоциирован

с ИБС, но не связан непосредственно с таким важным эндофенотипом, как уровень липопротеинов [42]. По некоторым данным rs688 в гене *LDLR* может быть связан с формированием ИБС посредством модуляции активности фактора свертывания VIII [43].

Ген *APOA2* кодирует белковую частицу ЛПВП. Мутации в *APOA2* приводят к семейной ГХ [44]. По некоторым данным генотип AA rs5082 гена *APOA2* ассоциирован с высоким риском развития ИБС у мужчин. В нашей работе генотип AA был ассоциирован с высоким риском развития фенотипа «синтропия ССК».

Гены *ITGA4*, *MTAP* и *CDKN2B* согласно их основным функциям могут быть отнесены к группе генов иммунитета и воспаления. Ген *ITGA4* кодирует белок  $\alpha$ -цепи интегрина. Интегрины – важнейшие молекулы межклеточной адгезии. Они представляют собой гетеродимерные мембранные рецепторы, состоящие из  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей и функционирующие как клеточно-субстратные и межклеточные рецепторы адгезии. Известно, что повышение адгезии имеет большое значение в дисфункции эндотелия при воспалении, атеросклерозе и других патологических процессах [45, 46]. Данные об ассоциации rs1143674 гена *ITGA4* с сердечно-сосудистыми фенотипами отсутствуют, однако известно, что этот вариант связан с альтернативным сплайсингом. Аллель А rs1143674 ассоциирован с повышенным риском аутизма [47].

Ген *MTAP* расположен в непосредственной близости от *CDKN2A/2B* [48]. Показано, что гены *MTAP* и *CDKN2B* экспрессируются в клетках и тканях, вовлеченных в развитие атеросклероза, таких, как эндотелиоциты, макрофаги и гладкомышечные клетки коронарных артерий [49]. Сообщается, что ген *MTAP* может выступать в качестве супрессора опухолевого роста [50].

Другие четыре гена – *RAD54B*, *SEZ6L*, *TAS2R38* и *KLF7* – это гены с разнообразными функциями. Продукт гена *RAD54B* участвует в репарации ДНК и митотической рекомбинации. Мутации в нем могут быть причиной рака прямой кишки и лимфом [51]. Данных о функциональной роли варианта rs2291439 мало, а сведения об ассоциации этого маркера с заболеваниями сердечно-сосудистой системы отсутствуют.

Ген *TAS2R38* кодирует рецептор, определяющий восприятие чувства горечи [52]. Гаплотипы гена *TAS2R38* определяют до 85% вариативности различий в ощущении оттенков вкуса – от горького до сладкого [53]. Носительство отдельных вариантов *TAS2R38* влияет на пищевые предпочтения, например, пищи с большим количеством углеводов или липидов, что считается фактором риска развития метаболических нарушений и ССЗ. Аллели этого гена,



ассоциированные с фенотипом синтропии, входят в состав гаплотипа, определяющего неспособность ощущать горький вкус; эти же аллели связаны с развитием СД2.

Продукт гена *KLF7* принадлежит к активаторам транскрипции и экспрессируется во многих тканях организма. Изучение модельных животных показало, что *Klf7* специфически регулирует экспрессию гена *TrkA*, кодирующего нейротрофическую рецепторную тирозинкиназу типа 1. Нонсенс-мутация гена *KLF7* приводит к нарушению развития множества ноцицептивных сенсорных рецепторов [54]. Изучение полиморфных вариантов гена *KLF7* выявило ассоциацию с риском развития СД2 в японской популяции и протективный эффект в отношении ожирения в датской популяции [55, 56].

Характеристика гена *SEZ6L* приведена выше, так как этот ген ассоциирован с фенотипом «ИБС и АГ».

Функциональная значимость полиморфизмов, ассоциированных с изучаемым фенотипом и расположенных в межгенных регионах, остается неизвестной. По данным [57], rs6501455 ассоциирован с раком предстательной железы, однако этот аллель протективный для синтропии ССК. Этот ген располагается на хромосоме 17 на расстоянии около 1 млн п. н. от генов *SOX9* и *CALM2P1*, причем в этом же регионе обнаружено еще около 40000 однонуклеотидных полиморфизмов. Важно, что почти все представленные в базе данных PubMed полиморфизмы в этом геномном регионе имели отношение к тому или иному ССЗ.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Задача исследования заключалась в идентификации общих и специфических генов для трех фенотипов – отдельное заболевание, сочетание двух болезней и сочетание нескольких ССЗ. На рис. 1 приведены данные о количестве генов, общих и специфических для трех фенотипов. Так, в случае синтропии (сочетание нескольких заболеваний – в нашем случае ИБС, АГ, СД2 и ГХ) и сочетания двух заболеваний (ИБС и АГ) выявлены **два общих гена**; между фенотипами «ИБС и АГ» и изолированной «ИБС» – **один общий ген**, а между синтропией и ИБС **нет общих генов** из числа изученных. Выявлено 14 специфических генетических вариантов, характерных только для ИБС, 12 – для синтропии ССК, 10 – для сочетания ИБС и АГ.

В случае сочетающихся заболеваний важно знать не только долю общих и специфических генов, но и профиль ассоциированных вариантов (физиологическую роль, выполняемую в организме), так как профиль может указывать на наиболее

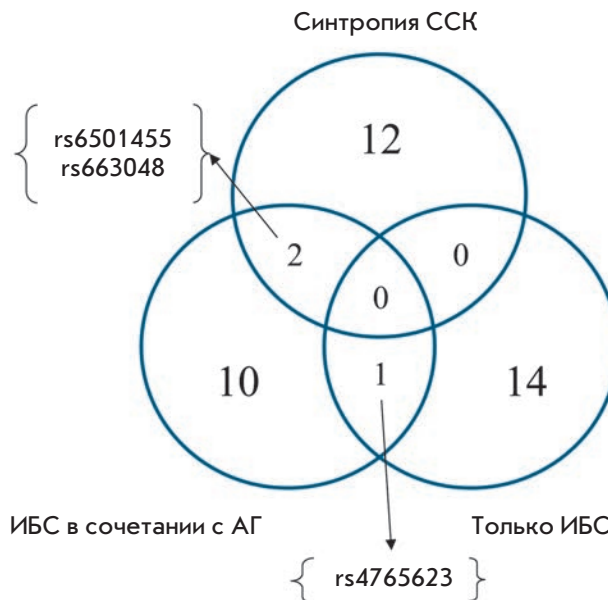


Рис. 1. Венн-диаграмма ассоциированных генетических маркеров с изучаемыми фенотипами: общие и специфические варианты

важные метаболические пути, вовлеченные в формирование патологии и подходы к лечению. Как следует из представленного ассоциативного профиля по каждому изучаемому фенотипу, для ИБС, не сочетающейся с другими ССЗ, характерны гены, регулирующие метаболизм липидов, гены, связанные с иммунитетом, и специфические для функции сердца гены, такие, как гены, контролирующие проводящую систему сердца.

При рассмотрении профиля сочетания двух заболеваний, одно из которых ИБС, картина значительно отличается, и варианты генов, ассоциированные с данным фенотипом, кажутся скорее неожиданными: набор генов трудно связать с каким-либо метаболическим путем и классифицировать подобно генам, ассоциированным с «только ИБС». Отмечено, что с фенотипом сочетания двух болезней связано несколько генов иммунитета и предрасположенности к раку.

Генетический профиль синтропии ССК в целом выглядит закономерным – это гены, отвечающие за нарушение липидного метаболизма, гены, контролирующие иммунитет и реакцию воспаления (и гены с разными функциями).

Необходимо отметить, что выполненный нами анализ обширной панели маркеров (1400), связанных, согласно опубликованным данным, с широко распространенными заболеваниями, позволил выявить неизвестные ранее взаимосвязи, как это часто бывает

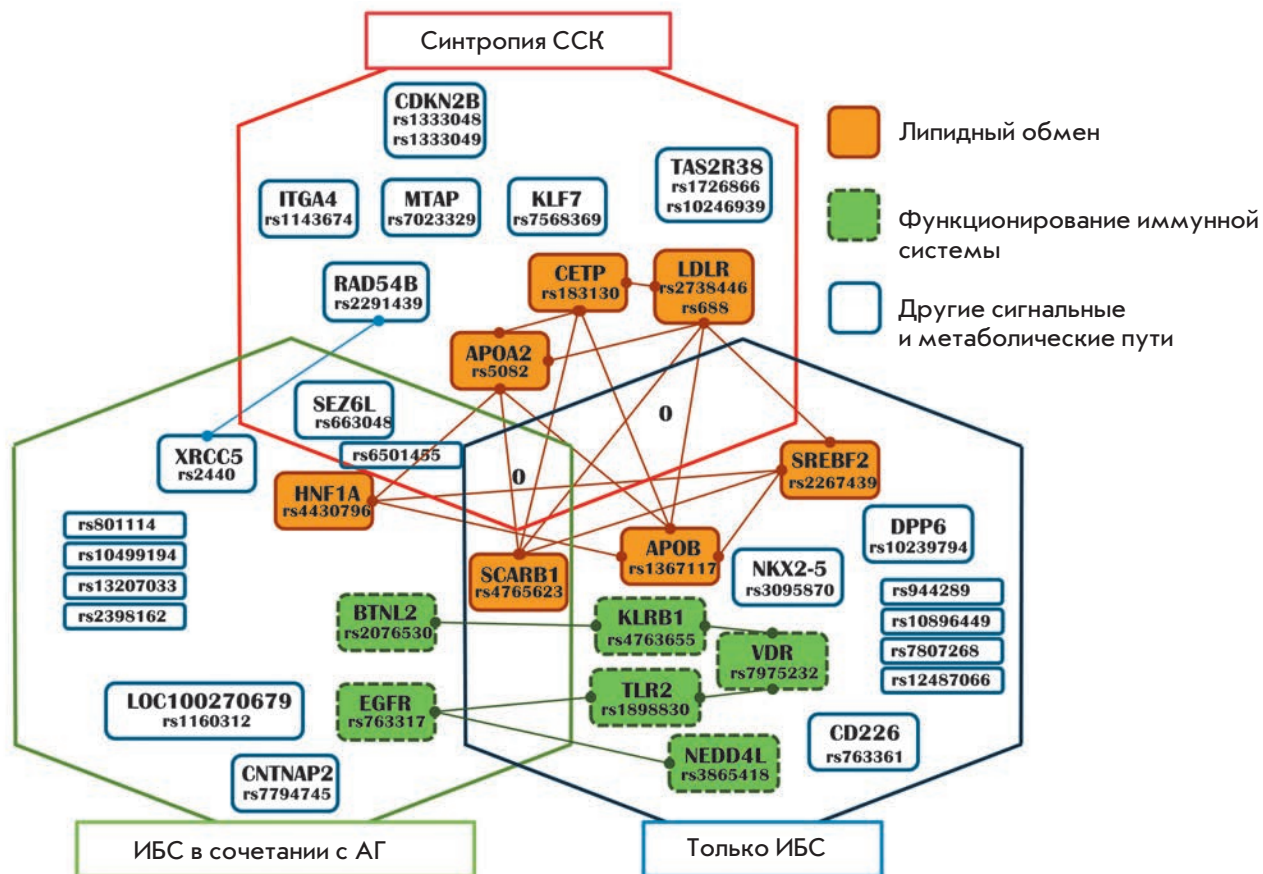


Рис. 2. Венн-диаграмма взаимоотношений всех ассоциированных с изучаемыми фенотипами генов и полиморфных вариантов с учетом их принадлежности к функциональному классу. Межгенные взаимосвязи разработаны на основе данных онлайн сервиса Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins (STRING)

при широкогеномных исследованиях, например, ассоциацию генов рака, неврологических и психических заболеваний с сердечно-сосудистыми фенотипами.

Описательный анализ функций ассоциированных генов дополнен классифицирующим сетевым анализом межгенных взаимодействий, который позволяет проследить цепочки взаимодействий некоторого списка генов – STRING-анализ (рис. 2). Данный анализ позволяет формально отнести тот или иной ген к наиболее важным метаболическим путям. Такой формализованный анализ показал, что среди генов ИБС преобладают гены, связанные с функцией иммунной системы, и гены липидного обмена. В случае фенотипа ИБС в сочетании с АГ два гена относятся к иммунной системе и два к липидному метаболизму. Именно ген липидного метаболизма SCARB1 является общим для этих двух форм патологии. Среди генов, ассоциированных с синтропией ССК, три гена были классифицированы как имеющие отношение

к метаболизму липидов. Остальные гены в рамках анализа STRING не были отнесены к какому-либо метаболическому пути.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что гены липидного обмена вовлечены в формирование всех вариантов течения (в том числе различных сочетаний) болезней сердечно-сосудистого континуума, тогда как гены-регуляторы иммунной системы специфичны для ИБС и не участвуют в формировании синтропии ССК.

Возвращаясь к рассуждению о роли синтропии (неслучайное сочетание заболеваний) и распространенного явления коморбидности, можно сказать, что нами установлена дополнительная сложность в использовании данных ассоциативных генетических исследований в прикладных (диагностических) аспектах тестирования предрасположенности к распространенным заболеваниям. Генетический

профиль сочетания нескольких заболеваний может значительно отличаться от профиля изолированных форм. Выявление синтропных генов (влияющих на развитие сложного фенотипа синтропии) представляет интерес не только с диагностических позиций, но и, в первую очередь, для прогнозирования (или объяснения уже существующих фактов) эф-

фекта некоторых лекарственных препаратов в случае нескольких заболеваний. ●

*Работа поддержана ЗАО «Геноаналитика», РФФИ (грант № 13-04-02162) и грантом Президента РФ для ведущих научных школ (НШ-5096.2014.4).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Feinstein A.R. // *J. Chronic Disease*. 1970. V. 23. № 7. P. 455–468.
2. Valderas J.M. // *J. Comorbidity*. 2013. V. 3. № 2. P. 41–44.
3. Valderas J.M., Starfield B., Sibbald B., Salisbury C., Roland M. // *Ann. Fam. Med*. 2009. № 7. P. 357–363.
4. Puzyrev V.P., Makeeva O.A., Freidin M.B. // *Pers. Med*. 2010. V. 7. P. 399–405.
5. Cookson W. // *Nat. Rev. Immunol*. 2004. V. 4. P. 978–988.
6. Zhernakova A., van Diemen C.C., Wiyemenda C. // *Nat. Rev. Genet*. 2009. V. 10. № 1. P. 43–55.
7. Doolan A., Donaghue K., Fairchild J., Wong M., Williams A.J. // *Diabetes Care*. 2005. V. 28. P. 806–809.
8. Harvey M., Belleau P., Barden N. // *Trends Genet*. 2007. V. 23. P. 547–556.
9. Dzau V., Braunwald E. // *Am. Heart J*. 1991. V. 121. P. 1244–1262.
10. Dzau V.J., Antman E.M., Black H.R., Hayes D.L., Manson J.E., Plutzky J., Popma J.J., Stevenson W. // *Circulation*. 2006. V. 114. P. 2850–2870.
11. Пузырев В.П., Макеева О.А., Голубенко М.В. // *Вестник ВОГиС*. 2006. Т. 10. № 3. С. 479–491.
12. Sambrook J., Russell D.W. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3rd ed. N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 2100 p.
13. <http://string-db.org/>
14. <http://bioinfo.vanderbilt.edu/webgestalt/>
15. Pullinger C.R., Hennessy L.K., Chatterton J.E., Liu W., Love J.A., Mendel C.M., Frost P.H., Malloy M.J., Schumaker V.N., Kane J.P. // *J. Clin. Invest*. 1995. V. 95. P. 1225–1234.
16. Soria L., Ludwig E., Clarke H., Vega G., Grundy S., McCarthy B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989. V. 86. P. 587–591.
17. Irisawa M., Inoue J., Ozawa N., Mori K., Sato R. // *J. Biol. Chem*. 2009. V. 284. № 42. P. 28995–29004.
18. Scarselli E., Ansuini H., Cerino R., Roccasecca R.M., Acali S., Filocamo G., Traboni C., Nicosia A., Cortese R., Vitelli A. // *EMBO J*. 2002. V. 21. № 19. P. 5017–5025.
19. Yang R.B., Mark M.R., Gray A., Huang A., Xie M.H., Zhang M., Goddard A., Wood W.I., Gurney A.L., Godowski P.J. // *Nature*. 1998. V. 395. № 6699. P. 284–288.
20. Bochud P.Y., Magaret A.S., Koelle D.M., Aderem A., Wald A. // *J. Infect. Dis*. 2007. V. 196. № 4. P. 505–509.
21. Lanier L.L., Chang C., Phillips J.H. // *J. Immunol*. 1994. V. 153. № 6. P. 2417–2428.
22. Shibuya A., Campbell D., Hannum C., Yssel H., Franz-Bacon K., McClanahan T., Kitamura T., Nicholl J., Sutherland G.R., Lanier L.L., et al. // *Immunity*. 1996. V. 4. № 6. P. 573–581.
23. Rochel N., Wurtz J.M., Mitschler A., Klaholz B., Moras D. // *Mol. Cell*. 2000. V. 5. № 1. P. 173–179.
24. van Bemmelen M.X., Rougier J.S., Gavillet B., Apothéoz F., Daidié D., Tateyama M., Rivolta I., Thomas M.A., Kass R.S., Staub O., et al. // *Circ. Res*. 2004. V. 95. № 3. P. 284–291.
25. Dunn D.M., Ishigami T., Pankow J., von Niederhausern A., Alder J., Hunt S.C., Leppert M.F., Lalouel J.M., Weiss R.B. // *J. Hum. Genet*. 2002. V. 47. № 12. P. 665–676.
26. Wen H., Lin R., Jiao Y., Wang F., Wang S., Lu D., Qian J., Jin L., Wang X. // *Clin. Exp. Hypertens*. 2008. V. 30. № 2. P. 87–94.
27. Strop P., Bankovich A.J., Hansen K.C., Garcia K.C., Brunger A.T. // *J. Mol. Biol*. 2004. V. 343. № 4. P. 1055–1065.
28. Alders M., Koopmann T.T., Christiaans I., Postema P.G., Beekman L., Tanck M.W., Zeppenfeld K., Loh P., Koch K.T., Demolombe S., et al. // *Am. J. Hum. Genet*. 2009. V. 84. № 4. P. 468–476.
29. Turbay D., Wechsler S.B., Blanchard K.M., Izumo S. // *Mol. Med*. 1996. V. 2. № 1. P. 86–96.
30. Hsueh K.C., Lin Y.J., Chang J.S., Wan L., Tsai F.J. // *Eur. J. Pediatr*. 2010. V. 169. № 6. P. 713–719.
31. Lian Y., Yue J., Han M., Liu J., Liu L. // *Infect. Genet. Evol*. 2010. V. 10. № 4. P. 517–521.
32. Lu X., Wang L., Chen S., He L., Yang X., Shi Y., Cheng J., Zhang L., Gu C.C. Huang J., et al. // *Nat. Genet*. 2012. V. 44. № 8. P. 890–894.
33. Boulton S.J., Jackson S.P. // *EMBO J*. 2008. V. 17. № 6. P. 1819–1828.
34. Galisteo M.L., Dikic I., Batzer A.G., Langdon W.Y., Schlessinger J. // *J. Biol. Chem*. 1995. V. 270. № 35. P. 20242–20245.
35. Rikova K., Guo A., Zeng Q., Possemato A., Yu J., Haack H., Nardone J., Lee K., Reeves C., Li Y., et al. // *Cell*. 2007. V. 14. № 131 (6). P. 1190–1203.
36. Chi Y.I., Frantz J.D., Oh B.C., Hansen L., Dhe-Paganon S., Shoelson S.E. // *Mol. Cell*. 2002. V. 10. № 5. P. 1129–1137.
37. Suzuki H., Gabrielson E., Chen W., Anbazhagan R., van Engeland M., Weijnenberg M.P., Herman J.G., Baylin S.B. // *Nat. Genet*. 2002. V. 31. № 2. P. 141–149.
38. Bressler J., Folsom A.R., Couper D.J., Volcik K.A., Boerwinkle E. // *Am. J. Epidemiol*. 2010. V. 171. № 1. P. 14–23.
39. Rodenas-Cuadrado P., Ho J., Vernes S.C. // *Eur. J. Hum. Genet*. 2014. V. 22. P. 171–178.
40. Spirin V., Schmidt S., Pertsemliadis A., Cooper R.S., Cohen J.C., Sunyaev S.R. // *Am. J. Hum. Genet*. 2007. V. 81. № 6. P. 1298–1303.
41. Francke U., Brown M.S., Goldstein J.L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1984. V. 81. № 9. P. 2826–2830.
42. Zhu H., Tucker H.M., Grear K.E., Simpson J.F., Manning A.K., Cupples L.A., Estus S. // *Hum. Mol. Genet*. 2007. V. 16. № 14. P. 1765–1772.
43. Martinelli N., Girelli D., Lunghi B., Pinotti M., Marchetti G., Malerba G., Pignatti P.F., Corrocher R., Olivieri O., Bernardi F. // *Blood*. 2010. V. 116. № 25. P. 5688–5697.
44. Takada D., Emi M., Ezura Y., Nobe Y., Kawamura K., Iino Y., Katayama Y., Xin Y., Wu L.L., Larringa-Shum S., et al. // *J. Hum. Genet*. 2002. V. 47. P. 656–664.
45. Vassiliadis E., Barascuk N., Didangelos A., Karsdal M.A. // *Biomark. Insights*. 2012. № 7. P. 45–57.
46. Brachtl G., Sahakyan K., Denk U., Girbl T., Alinger B., Hofbauer S.W., Neureiter D., Hofbauer J.P., Egle A., Greil R., et al. // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 8. e23758.
47. Conroy J., Cochrane L., Anney R.J., Sutcliffe J.S., Carthy P,

- Dunlop A., Mullarkey M., O'hici B., Green A.J., Ennis S., et al. // *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2009. V. 150B. № 4. P. 535–544.
48. Pasmant E., Laurendeau I., Heron D., Vidaud M., Vidaud D., Bieche I. // *Cancer Res.* 2007. V. 67. P. 3963–3969.
49. Broadbent H.M., Peden J.F., Lorkowski S., Goel A., Ongen H., Green F., Clarke R., Collins R., Franzosi M.G., Tognoni G., et al. // *Hum. Mol. Genet.* 2008. V. 17. P. 806–814.
50. Behrmann I., Wallner S., Komyod W., Heinrich P.C., Schuierer M., Buettner R., Bosserhoff A.K. // *Am. J. Pathol.* 2003. V. 163. P. 683–690.
51. Miyagawa K., Tsuruga T., Kinomura A., Usui K., Katsura M., Tashiro S., Mishima H., Tanaka K. // *EMBO J.* 2002. V. 21. № 1–2. P. 175–180.
52. Zhang Y., Hoon M.A., Chandrashekar J., Mueller K.L., Cook B., Wu D., Zuker C.S., Ryba N.J. // *Cell.* 2003. V. 112. № 3. P. 293–301.
53. Kim U.K., Jorgenson E., Coon H., Leppert M., Risch N., Drayna D. // *Science.* 2003. V. 299(5610). P. 1221–1225.
54. Lei L., Laub F., Lush M., Romero M., Zhou J., Luikart B., Klesse L., Ramirez F., Parada L.F. // *Genes. Dev.* 2005. V. 19. № 11. P. 1354–1364.
55. Kanazawa A., Kawamura Y., Sekine A., Iida A., Tsunoda T., Kashiwagi A., Tanaka Y., Babazono T., Matsuda M., Kawai K., et al. // *Diabetologia.* 2005. V. 48. № 7. P. 1315–1322.
56. Zobel D.P., Andreasen C.H., Burgdorf K.S., Andersson E.A., Sandbaek A., Lauritzen T., Borch-Johnsen K., Jorgensen T., Maeda S., Nakamura Y., et al. // *Eur. J. Endocrinol.* 2009. V. 160. № 4. P. 603–609.
57. Gudmundsson J., Sulem P., Steinthorsdottir V., Bergthorsson J.T., Thorleifsson G., Manolescu A., Rafnar T., Gudbjartsson D., Agnarsson B.A., Baker A., et al. // *Nat. Genet.* 2007. V. 39. № 8. P. 977–983.