

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ УЗБЕКИСТАНА ИМ. МИРЗО
УЛУГБЕКА

БИОЛОГО – ПОЧВЕННЫЙ ФАКУЛЬТЕТ ИМ. П. Б. АЗИЗОВА

Косогорова Светлана Александровна

«СОЗДАНИЕ БАЗЫ ДАННЫХ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ
ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ГЕНОВ РААС»

Специальность: 5420200 – «Биоинформатика»

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Научные руководители:

Доц. к.б.н. Левицкая Ю. В.

Проф. д.м.н. Елисеева М. Р.

Ташкент - 2011

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	2
ВВЕДЕНИЕ	3
I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	4
1.1 Полиморфизм ДНК и его использование в медико-генетической практике.....	4
1.2 Зарубежная практика по созданию и пополнению базы данных генетических паспортов и клинической информации.....	9
II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	11
2.1 Объект исследования.....	11
2.2 Используемые оборудования и материалы.....	13
2.3 Выделение ДНК, амплификация ДНК, фрагментный анализ.....	14
2.4 Разработка и внедрение программного комплекса управлений базой данных генетических паспортов и клинических характеристик в практику..	18
III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ	19
3.1 Результаты исследования.....	19
3.2 Применение базы данных генетических паспортов и клинической информации в медико-биологической практике.....	22
Выводы.....	23
Список литературы.....	25
Приложения.....	33

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АД - артериальное давление
- ВИР - время изоволюметрического расслабления
- ГЛЖ - гипертрофия левого желудочка
- ДАД - диастолическое артериальное давление
- ДЭ - дисфункция эндотелия
- иММЛЖ - индекс массы миокарда левого желудочка
- ККС - калликреин-кининовая система
- КДО/ММЛЖ - конечно диастолического объема массы миокарда левого желудочка
- КИМ - комплекс интима-медиа
- МАУ - микроальбуминурия
- ОХС - общий холестерин
- ПЦР - полимеразно - цепная реакция
- РААС - ренин-ангиотензин-альдостероновая система
- САД - систолическое артериальное давление
- СКФ - скорость клубочковой фильтрации
- ТГ - триглицериды
- ХС ЛПНП - холестерин липопротеинов низкой плотности
- ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности
- ЧСС - частота сердечных сокращений
- ЭГ - эссенциальная гипертензия
- ΔD – показатель эндотелий зависимый вазоделяций
- KEGG - Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
- LURIC - The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health
- SNP - single Nucleotide Polymorphisms
- STR - short tandem repeats

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания продолжают лидировать по частоте встречаемости у населения большинства экономически развитых стран. Согласно эпидемиологическим данным распространенность эссенциальной гипертензии (ЭГ) в Узбекистане составляет 26-40% (Курбанов Р.Д., Елисеева М.Р., 2002). Для таких многофакторных патологий как ЭГ характерен сложный механизм формирования фенотипа, в основе которого лежит взаимодействие генетических факторов с факторами внешней среды.

В последние годы при изучении генетического полиморфизма многофакторных состояний ЭГ человека в разных популяциях часто используется подход с выделением, так называемых генов-кандидатов или генов предрасположенности к гипертонии. При этом ген, продукт экспрессии которого (фермент, гормон, рецептор, структурный и транспортный белок) может прямо либо косвенно участвовать в развитии изучаемой болезни, получил название «ген-кандидат».[142] (Mao.C., Soubrier F. The vascular wall as target for association studies by candidate gene approach. Blood Pressure 1996; №5: 4: 6-12.)

К потенциальным генам-кандидатам гипертонии относятся, прежде всего, гены, участвующих в формирование физиологических процессов, дестабилизация которых создает риск развития ЭГ. Сегодня известно более 150 генов-кандидатов ЭГ, наиболее изученными из них является гены компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС): ACE (полиморфизм I/D), AT1R (полиморфизм A1166C), AT2R (полиморфизм G1675A), AGT (полиморфизм M235T) и.т.д.

На сегодняшний день с применением медико-генетических методов анализа ДНК стало возможным получать новую информацию о генетической обусловленности некоторых сердечно-сосудистых заболеваний, таких как

эссенциальная гипертензия, при этом возникает необходимость хранения персональной клинической и генетической информации пациента.

Оперативное применение и хранение больших массивов генетической и клинической информации, требует создание национальной базы ДНК в медико-биологической практике.

Разработка, создание и внедрение в медицинскую практику национальной базы данных ДНК, позволит упростить получение отчетных сведения о проведенных анализах и обобщить проходящую через лабораторию клиническую и генетическую информацию.

Цель работы:

Создание национальной базы данных ДНК по генетической и клинической информации при сердечно-сосудистых патологиях.

Задачи:

1. Сбор и выделение ДНК из 400 образцов периферической крови неродственных индивидов представителей узбекской национальности, проведение амплификации с использованием набора «GenTest™ PCR Amplification Kit», с последующим проведением фрагментного анализа по четырем генам: ACE, AT1R, AT2R, AGT ядерной ДНК.

2. Разработка и внедрение в практику программного комплекса базы данных генетических паспортов кардиологического профиля.

3. Использование национальной базы данных ДНК по результатам медико-генетических исследований в медицинской практике.

Настоящая исследовательская работа выполнена на базе лаборатории «АГ и молекулярно генетических исследований» Республиканского специализированного центра кардиологии РСЦК МЗ РУз. Работа выполнена в рамках научного проекта ГНТП ИТД -1109-11.3-18631 «Полиморфизм генов РААС: аспекты патогенеза и фармакогенетика эссенциальной гипертензии у лиц узбекской национальности».

I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Полиморфизм ДНК и его использование в медико-генетических исследованиях.

Открытие многочисленных полиморфных маркеров ДНК разного типа и значимости в качестве нового инструмента в изучении популяций произвело подлинный переворот в сфере популяционных и медико-генетических исследований, так как преимущества изучения генетического полиморфизма на уровне ДНК в сравнение с белковым уровнем огромны. Во-первых, генетическая изменчивость, наблюдаемая на уровне ДНК значительно выше белкового. Во-вторых преимуществом маркеров ДНК является наличие полиморфизма разного типа, каждый из которых имеет свои преимущества. И, наконец, значительная часть полиморфных маркеров ДНК принадлежит нетранскрибируемым областям генома, частичные изменение которых не имеют прямого фенотипического проявления.

Как известно, каждый генетический локус характеризуется определенным уровнем изменчивости, т.е. присутствием различных аллелей или вариантов последовательностей нуклеотидов. В целом, на долю таких индивидуальных изменений приходится около 0,1% всей ДНК генома человека. Применительно к гену аллели разделяют на две группы: 1) нормальные или аллели “дикого” типа, 2) мутантные, приводящие к различным вариациям или нарушением работы гена. Мировые исследования показывают, что в любых популяциях и для любых генов аллели “дикого” типа является преобладающими.

Известно, что генетический полиморфизм может быть качественным, когда происходят замены нуклеотидов, либо количественным, когда в ДНК варьирует число нуклеотидных повторов различной протяженности.

Качественный генетический полиморфизм представлен в основном единичными нуклеотидами заменами – SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) (Wang et. al., 1992). Это самый частый генетический

полиморфизм, встречающийся через каждые 300-400 п.о. (Weissembach et. al., 1992). SNP это точечные отличия в нуклетидных последовательностях ДНК и индивидуумов, вызванные заменой единичного химического звена ДНК-нуклеотида (The SNP Consortium Ltd). Дополнительно SNP отличаются высокой стабильностью и их легко идентифицировать с использованием автоматического анализа или метод чипов [188](Tillib S., Mirzabekov A. Advances in the anlysis sequence variotions using oligonukleotide microchip technology. Curr. Opin. Biotehmol. 2001. Vol. 12 №1: 53-58.) Другие, качественные вариации нуклеотидных последовательностей в геноме человека представлены как: инсерции, делеции, дупликации, транслокации, хроматидные перестройки.

На сегодняшний день идентифицировано множество тысяч структурных и регуляторных генов [Mañowald et al., 1998]. Доступны для клинического применения более 200 генетических тестов, существует более 500 протоколов генной терапии [1, 2, 3, 4, 9, 10, 11, 21, 33, 53, 64]. Идентифицированы и детально изучены гены, участвующие в гомеостазе уровня артериального давления и составляющие структуру наследственной компоненты предрасположенности к эссенциальной гипертензии. Определены молекулярные механизмы многих многофакторных болезней. Все чаще уделяется большое внимание генам кодирующие белки. Так идентифицировано более 40 000 генов, кодирующих белки: картированы более 1000 генов, связанные с различными болезнями человека, включая эссенциальную гипертензию.

Ранее проведенные исследования показывают, что, например, некоторые миссенс мутации (триплет, соответствующий кодону другой, отличной от нормальной последовательности аминокислоты) оказывают значительное влияние на гидрофобность белка, его водородные, электростатические сульфгидрильные связи. При этом функциональный спектр таких белков может значительно меняться от практически

нейтрального эффекта генетического полиморфизма до полного нарушения функции соответствующего белкового продукта [Wang, Moulton, 2001].

Многочисленные международные эпидемиологические популяционно-генетические исследования подтверждают гипотезу о том, что эссенциальная гипертензия в той или иной мере связана с неблагоприятными факторами внешней среды, образом жизни и генетической предрасположенностью. В данной научно-исследовательской работе использовались гены РААС (Ренин-Ангиотензин-Альдостероновой Системы).

В настоящее время ЭГ рассматривается как многофакторное, генетически детерминированное заболевание, представляющее собой сложный комплекс нейрогуморальных, гемодинамических и метаболических факторов, взаимоотношение которых трансформируется во времени, при котором по наследству передается не болезнь в полном ее проявлении, а предрасположенность к болезни [7].

В отличие от моногенных менделевски наследуемых редких форм гипертензий (первичный глюкокортикоидзависимый альдостеронизм – мутация гена 11 β -гидроксилазы и синдром Лиддла – мутация β -субъединицы натриевого канала), ЭГ носит полигенный характер, с включением множества генов-кандидатов ЭГ. 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 мультифакторных заболеваний, к которым относится ЭГ. Гены-кандидаты экспрессируют ферменты, гормоны, рецепторы, структурные и транспортные белки, которые прямо или косвенно участвуют в развитии ЭГ, поражении органов-мишеней при ЭГ. Сегодня известно более 150 генов-кандидатов ЭГ, наиболее изученными из них являются гены компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (ангиотензинпревращающего фермента - АПФ, рецепторов 1 типа ангиотензина II - AT1R, ангиотензиногена, альдостерон-синтазы – CYP11B2), симпато-адреналовой системы (β -

рецепторов, β 1-рецепторов), системы эндотелия, а также α -аддуцина, G-протеина, ионных канальцев, при этом показано, что генные взаимоотношения имеют определяющее значение в развитии и прогрессировании заболевания.

В настоящей работе изучен полиморфизм гена ACE. Ген ACE картирован в хромосоме 17q23. Полиморфизм гена ACE определяется присутствием или отсутствием (делеция/вставка – D/I) alu-повтора (фрагмента 287 п.н.) в 16-м интроне гена.

На сегодняшний день накоплено много данных об ассоциации полиморфизма гена ACE с гипертонией, ГЛЖ, гипертрофической кардиомиопатией, инфарктом миокарда, заболеваниями почек и сосудистыми осложнениями сахарного диабета.

Таким образом, о взаимосвязи процессов ремоделирования сердца и сосудов у больных ЭГ и I/D полиморфизма гена ACE весьма неоднозначны. Представляет интерес тот факт, что по частоте генотипов ACE имеются выраженные различия в популяции европеоидных и монголоидных народов с определенной обособленностью тюркской группы [37,55].

Ангиотензиноген (AGT полиморфизм M235T) у человека локализуется в 1 хромосоме в области 1q42-43 [25]. Участие ангиотензиногена в формировании артериального давления (АД) подтверждено на трансгенных животных. При изучении гена ангиотензиногена было выявлено более 15 однонуклеотидных полиморфизмов, большая часть которых приводит к аминокислотным заменам [24]. Наиболее широко исследовались варианты, связанные с заменой метионина на треонин в 235 кодоне (M235T) и треонина на метионин в 174 кодоне (T174M). При исследовании M235T полиморфизма была обнаружена ассоциация этого полиморфизма с артериальной гипертензией [57,72].

Ангиотензин II (AT2R полиморфизм G1675A) является гуморальным стимулятором миокардиальной гипертрофии, роста и пролиферации гладкомышечных клеток, синтеза коллагена, а также участвует в реализации

гипертрофического ответа на механическую стимуляцию [31]. Кроме того AT2R индуцирует окислительный стресс в сосудистой стенке с усилением процессов пероксидации липидов, способствует повышенной адгезивности эндотелия и активации тромбоцитарного гемостаза, стимулирует секрецию альдостерона, норадреналина, антидиуретического гормона, эндотелина-1 и др. Также показано, что AT2R регулирует синтез сосудистого эндотелиального фактора роста и активирует сосудистое воспаление.

Ангиотензин I (AT1R полиморфизм A1166C) картирован в хромосоме 3q22-q25 и состоит из пяти экзонов, ранжированных по размеру от 59 до 2014 п.н. [13]. Впервые он был описан в работе A. Bonnardeaux и соавт. [13], где частоты аллелей A1166C были определены в контрольной группе из французской популяции, у больных АГ, а также у здоровых людей, имеющих родственников, больных гипертонией.

Ген AT1R картирован в хромосоме 3q22-q25 и состоит из пяти экзонов, ранжированных по размеру от 59 до 2014 п.н. [13]. Активация AT1R приводит к росту клеток: увеличивается экспрессия тромбоцитарного фактора роста и основного фактора роста фибробластов, а также антипролиферативного фактора – трансформирующего фактора роста – β_1 вызывает индукцию эндотелина-1 и инсулиноподобного фактора роста [3]. Введение экзогенных нитратов [26] и применение эстрогенов [12] снижают уровень экспрессии гена рецепторов AT1R, а его увеличение наблюдается при гиперинсулинемии [47], избыточной солевой нагрузке [48]. Можно предположить, что изменения экспрессии или структуры AT1R за счет полиморфизма его гена приведут к изменениям регуляции сосудистого тонуса или пролиферации элементов сосудистой стенки, поэтому ген AT1R рассматривается как один из наиболее перспективных генов-кандидатов, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Впервые он был описан в работе А. Bonnardeaux и соавт. [13], где частоты аллелей A1166C были определены в контрольной группе из французской популяции.

1.2 Зарубежная практика по созданию и пополнению базы данных генетических паспортов и клинической информации.

Нарастающее число секвенированных нуклеотидных последовательностей, принадлежащим разным организмам, заставило задуматься об упорядочении их хранения, что привело к созданию «коллекций» таких последовательностей. Первая электронная база данных Los Alamos DNA Database, содержащая информацию о секвенированных последовательностях ДНК, была организована У. Гоадом и его коллегами в Лос-Аламосской национальной лаборатории (LANL) в США. К 1981 г. в ней уже содержалась информация о 280 опубликованных нуклеотидных последовательностях общей протяженностью около 370 тыс. п.н. (тнп). В 1982г. на ее основе под патронажем Национального института здоровья (НИИ) организован новый банк данных генетических последовательностей GenBank.

GenBank является американской базой данных и финансируется правительством США, хотя и содержит информацию, собранную со всего мира. Созданная в 1980 г. в Европе аналогичная база данных EMBL Data Library явилась первым международным хранилищем информации о последовательностях ДНК. Основные цели, преследовавшиеся при ее организации,- это обеспечения бесплатного доступа к коллекции опубликованных нуклеотидных последовательностей, выработка определенных стандартов и развитие информационного и компьютерного обеспечения проводимых молекулярно-биологических исследований. Свой первый релиз, охватывающий информацию о 568 последовательностях общей протяженностью 585 433 нуклеотида, EMBL Data Library выпустила в

апреле 1982 г. Первое время очередные релизы, распространяемые на магнитных лентах, представлялись по запросу любому желающему. Однако рост как само базы, так и числа пользователей привел к тому, что дальнейшие выпуски стали распространяться по подписке. В 1994 г. база данных EMBL Data Library трансформировалась в EMBL Nucleotide Sequence Database и стала курироваться Европейским институтом биоинформатики (European Bioinformatics Institute, или EBI). Его адрес в Интернете: www.ebi.ac.uk.

Риск Людвигсхафена и Сердечно-сосудистые Заболевания (The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health) (LURIC). Впервые база данных (LURIC) была разработана в Медицинском Центре имени Людвигсхафена, Лаборатории Сердечно-сосудистых заболеваний и Молекулярной Генетики.

Программа LURIC создавалась на основе проекта, проводимыми немецкими специалистами. Цель проекта заключалась в исследовании распространенности болезни и прогрессии сердечно-сосудистых осложнений, типа инфаркта миокарда (МИ), инсульта, являющиеся продуктом генных взаимодействий и окружающей среды. Программа LURIC обеспечивает точность исследования с учетом экологических и генетических факторов риска, их взаимодействий и функциональных отношений между генным изменением и биохимическим фенотипом, а также ответа на лечение.

Программа LURIC предназначена, для исследований людей имеющих сердечно-сосудистые заболевания.

Исследования проводились с 1997 г. по 2002 г., в настоящее время в базе данных программного обеспечения LURIC содержится данные 3800 пациентов, женщин и мужчин. Отбор проводился по следующим критериям: немецкая родословная; клиническая стабильность (за исключением острого коронарного синдрома); наличие коронарной ангиограммы; критериями исключения были: любая острая болезнь кроме острого коронарного

синдрома; любая хроническая болезнь, где несердечная болезнь преобладала. Критерии исключения использовались, чтобы минимизировать воздействие сопутствующего обстоятельства несердечно-сосудистых заболеваний. При проведении исследования отбиралась периферическая кровь у всех участников исследования.

Всем участникам, исследования проводился генетический, клинический и биохимический анализы.

Вся генетическая и клиническая информации заносились в базу данных LURIC. Данные базы применялись при назначении терапии. [35].

Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). Эта база по систематическому анализу функций генов. База создавалась в Университете Химических исследований г.Киото Японии в рамках японской программы геному человека. Содержит 6 баз данных – метаболические направления (PATHWAY), гены (GENES) и лиганды (LIGAND), экспериментальные данные по экспрессии генов (EXPRESSION and BRITE), по белкам (SSDB) а также не обладает обширными возможностями для работы со всеми крупными мировыми информационными ресурсами. База данных KEGG представляет данные в виде графических диаграмм, включающих большинство метаболических направлений и наиболее известных регуляторных путей. Базы обновляются ежедневно [36].

ГЛАВА II. Материалы и методы

2.1. Объекты исследования

В исследовании приняли участие 400 неродственных индивидов представителей узбекской национальности мужского пола страдающих ЭГ I-II степени в возрасте $35,1 \pm 60,3$ лет, с длительностью заболевания $7,36 \pm 5,72$ лет.

Выборка производилась путем отбора, предварительного обследования, регистрации всех участников исследования с последующим генотипированием по генам РААС: AT1R полиморфизм A1166C, AT2R полиморфизм G1675A, ACE полиморфизм I/D, AGT полиморфизм M235T.

Выборка проводилась у улиц узбекской национальностей проживающих на территории Узбекистана. В качестве носителя генетической информации использовалась периферическая кровь, полученная путем забора из вены.



Рис. 2.4. Протокол исследования

2.2 Используемое оборудование и материалы

При генетическом анализе применялись оборудование и материалы согласно протоколам фирм изготовителя (табл. № 2.1 и 2.2)

Таблица №1

Используемое оборудование

1	GeneAmp® ПЦР - амплификатор Applied Biosystems 9700
2	Автоматические пипетки Thermo electron.
3	Центрифуга Eppendorf 5417 R.
4	Вортекс – MS1 Minishayker
5	Аппарат для проведения горизонтального электрофореза (Helicon)
6	Аппарат для проведения вертикального электрофореза (Helicon)
7	Анализатор Gel Imager Analyze (Vilber Lourmat).
8	Трансиллюминатор для стерилизации инструментария

Таблица № 2

Используемые материалы

1	Proteinase K – фермент гидролизующий белки.
2	Этиловый спирт 96%
3	Набор для выделения ДНК Diatom TM DNA Prep 200 ООО «Лаборатория Изоген»
4	Набор реагентов для проведения ПЦР амплификации ДНК «GenTest TM PCR Amplification Kit» (производство ООО “Лаборатория GenTest)
5	Агарозный гель 1%
6	Бромистый этидий
7	Бромфенол-синий и ксилен-цианол
8	SB-буфер
10	Набор для выделения ДНК Diatom TM DNA Prep 200 ООО «Лаборатория Изоген»

2.3. Выделение ДНК из периферической крови с использованием набором Diatom™ DNA Prep 200

В набор входили реагенты Diatom™ DNA Prep 200, он основан на использовании Lysis reagent с гуанидинтиоцианатом, который предназначен для лизиса клеток, собюлизации клеточного дебриса, а также для денатурации клеточных нуклеаз. В присутствии **Lysis reagent** ДНК активно собираются на NucleoS™ – сорбенте, а затем легко отмывается от других компонентов (белков и др.) и солей спиртовым раствором. ДНК, элюированная из сорбента **ExtraGene E™** или чистой водой, может быть напрямую использована по назначению.

Протокол выделения ДНК

1. Приготовление рабочего раствора Солевого буфера. Содержимое флакона с 10-кратным Солевым буфером, 10мл, переносили в мерный цилиндр, доводили бидистиллированной водой до метки 100 мл 96 % этиловым спиртом до метки 300 мл и перемешивали.
2. В пробирку объемом 1,5 мл вносили 200 мкл исследуемой пробы, добавляли 800 мкл Lysis reagent и перемешивали содержимое пробирки (5-10 раз).
3. Термостатировали пробирку со смесью 5-7 мин при температуре 65°C.
4. После термостатирования центрифугировали пробирку со смесью 10 сек при 5000 об/мин. Прозрачный супернатант целиком переносили в чистую пробирку.
5. В пробирку с чистой смесью добавляли 20-40 мкл суспензии сорбента NucleoS™.
6. Пробирку помещали на ротатор и перемешивали 10 мин (10-20 об/мин).
7. Центрифугировали 10 сек при 5000 об. в мин.
8. Осторожно удаляли супернатант.
9. К осадку добавили 400 мкл Lysis reagent, тщательно перемешали на вортексе до полного гомогенного состояния.
10. Добавили в пробирку 1 мл рабочего раствора Солевого буфера.
11. Центрифугировали 10 сек при 5000 об. в мин.
12. осторожно удаляли супернатант.
13. Добавляли в пробирку 1 мл

Солевого буфера перемешивали содержимое пробирки на вортке, центрифугировали 10 сек при 5000 об.в мин., осторожно удаляли супернатант, не задевая осадок. 14. Повторяли положение 13. 15. Высушивали осадок при температуре 65°C в течение 3-4 мин. 16. В эту же пробирку вносили 100-200 мкл ExtraGene ETM. 17. Суспендировали содержимое пробирки на вортке, а затем термостатировали 4-5 мин при 65°C. 18. Еще раз суспендировали. 19. Центрифугировали 1 мин при 10000 об.в мин. 20. Перенесли супернатант с ДНК в чистую пробирку. ДНК храниться при температуре минус 20°C.

2.3.1 Амплификация ДНК

Генотипирование образцов ДНК в полилокусном формате производилось с использованием системы энзиматической амплификации ДНК. Для проведения ПЦР амплификации использовали набор «GenTestTM PCR Amplification Kit» [7].

Для амплификации приготавливали пробирки Master Mix, которые содержат 15 мкл реакционной смеси содержащие: 0,3 pmol каждого праймера, 0,2 mmol/L каждого dNTP, 0.1U AmpliTaq ДНК полимеразу (Perkin-Elmer, Norwalk Conn) 56 mmol/L KCl, 11mmol/L Tris-HCl, pH-8.3 и 2 mmol/L MgCl₂. В пробирки Master Mix добавляли по 2 мкл исследуемой ДНК. ПЦР амплификация проводилась по стандартному протоколу согласно фирме изготовителя. Для проведения ПЦР амплификации использовали амплификатор GeneAmp® ПЦР система 9700 с золотым 96-ячеечным блоком (Applied Biosystems). Программа для амплификации, последовательностей праймеров, а также рестриктаз использовались согласно протоколам фирмы изготовителя (таб. 1)

Таблица 1. Используемые праймера, рестрикции и программ ПЦР.

гены	праймера	рестриктаза	температура инкубации	программа
AT1R	F 5- CCT GCA CCA TGT TTT GAG GTT GAG TGA C -3 R 5-AAA ATA ACA GGA CAA AAG CAG GCT AGG GAG -3	BstDE I	16ч -60С°	94° С-3 мин 1 цикл 94° С-1 мин 65° С-1 мин } 35 циклов 72° С-2 мин 72° С-6 мин
AT2R	F 5- ATT ACG TCC CAG CGT CTG AG -3 R 5-GGC ACT AAG CAA GCT GAT TTA T - 3	Hpy 188 III	17-37С°	95° С-3 мин 1 цикл 95° С-45 сек 55° С-1 мин } 35 циклов 72° С-1 мин 72° С-10 мин
AGT	F 5- CCG TTT GTG CAG GGC CTG GCT CTC T -3 R 5-CAG GGT GCT GTC CAC ACT GGA CCC C-3	Tth111 I	17-65С°	95° С-5 мин 1 цикл 94° С -20 сек 59° С-20 сек } 35 циклов 72° С-40сек 72° С-5мин
ACE	F 5-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TC -3ACE1 R 5- GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T -3ACE2		нет температуры инкубации	94° С -5 мин 1 цикл 94° С-30 сек 55° С-40 сек } 35 циклов 72° С-40 сек 72° С-7 мин

2.3.2 Фрагментный анализ

Молекулярные копии амплифицируемых локусов ДНК накапливаются в реакционной смеси, вследствие чего количественно оказываются доступными для сравнительного анализа. Далее полученные амплификационные продукты фракционируют с помощью электрофореза в

полиакриламидном геле, фрагменты ДНК, амплифицированные в ходе реакции, выявляют, используя различные методы детекции [49].

Разные аллельные варианты гипервариабельных локусов регистрировались в виде индивидуально-специфичного набора из различных полиморфных фрагментов, характеризующихся определенным расположением на дорожке геля. Определение размеров амплифицированных фрагментов геномной ДНК проводилось с использованием внешних стандартов молекулярных масс путем компьютерной интерпретации «Gel Imager». Получаемый при этом так называемый амплификационный профиль ДНК и является индивидуализирующей геномной характеристикой человека, которому принадлежит анализируемая ДНК.

В результате амплификации по гену ACE полиморфизм I/D образуются следующие аллели: I- 490 п.н., D-190 п.н. По гену AT1R полиморфизма A1166C после расщепления ПЦР продукта в ферменте рестрикции BstDE I образуются следующие аллели: AA- 352 п.н., CC-114 и 238 п.н., AC- 114,238 и 352 п.н. По гену AGT полиморфизма M235T после расщепления ПЦР продукта в ферменте рестрикции Tth111 I образуются следующие аллели: 235M-303 п.н., 235T- 279 п.н. По гену AT2R полиморфизма A1675G после расщепления ПЦР продукта в ферменте рестрикции Hpy 188 III (10 ЕД) образуются следующие аллели: G-206 п.н., A-310 п.н.

Образцы по гену ACE анализированы в 7% полиакриламидном геле, по гену AT1R в 6%, по гену AT2R в 7%, по гену AGT в 10% полиакриламидном геле соответственно. Все гели проходили последующую окраску в растворе бромистого этидия (0,001%) и визуализировались под ультрафиолетовым светом. На следующем этапе с помощью специального программного обеспечения «Gel Imager» получали графическое изображение каждого

аллеля, которое сопоставляется со всеми возможными вариантами номеров аллелей.

2.4 Разработка и внедрение программного комплекса управлений базой данных генетических паспортов в практику.

Компьютерные системы анализа данных представляют собой высокоэффективный инструмент для накопления и обработки больших массивов молекулярно-генетической информации.

При разработке программного комплекса базы данных ДНК были определены следующие требования к программе:

- ограничение доступа к информации для сохранения конфиденциальности пациента;
- внесения, редактирования, удаления некорректно введенной информации о проведенных лабораторных исследованиях, фотографической и иной информации, приложенной к истории болезни;
- возможность внесения, редактирования, удаления некорректно введенной информации о генотипах и клинических данных;
- получение отчетов по результатам проведенных анализов (отчет по лаборатории) за определенный период.

За основу, как хранилище данных, была взята система управления базами данных Access 2007 (программный продукт компании Microsoft).

III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ.

3.1 Результаты исследования

В результате разработки был получен программный комплекс «MED Database» в состав, которого входят следующие программные продукты:

- DNA Employee – программный модуль, предназначенный для:
 - ввода и редактирования сведений об анализах проходящих через лабораторию;
 - ввода и редактирования генотипов, получаемых при реализации исследовательских действий;
 - получения отчетных форм по проведенным в лаборатории работам;
- DNA Admin – программный модуль, предназначенный для управления учетными записями пользователей (ввод новых пользователей, изменение паролей и прочее).

Программный продукт позволяет:

- работать одновременно нескольким пользователям, находящимся в локальной сети. Каждый пользователь регистрируется в системе администратором базы данных и для каждого пользователя заводится соответствующая учетная запись и пароль для входа в систему.

- ввести основные атрибуты:

- Область и район, из которого поступил пациент
- № истории болезни
- Дата проведения анализа
- ФИО исполнителя
- Наименование объектов
- ФИО пациента

- войти в программу через трехуровневую защиту, т.е. работа в программном комплексе начинается с ввода данных:

- о сервере,

- базе данных,
- имени пользователя – учетной записи,
- пароля, для идентификации пользователя.

Система идентификации пользователей позволяет разделить права доступа к программному комплексу:

- для сотрудников, которые могут вводить и редактировать только те данные, которые были введены ими,
- для Администратора, который имеет права редактировать все имеющиеся данные.

Вся история проведенных пользователем изменения в базе данных хранится в специальной таблице.

Программный комплекс «MED Database» содержит следующие конфигурации:

- ограничение доступа к информации, доступ к любой ее части осуществлялся с разделением прав доступа, тем самым решается задача конфиденциальности информации;
- возможность внесения, редактирования, удаления некорректно введенной информации о проведенных лабораторных исследованиях, фотографической и иной информации, приложенной к истории болезни;
- возможность внесения, редактирования, удаления некорректно введенной информации о генотипах и клинических данных;
- получение отчетов по результатам проведенных анализов (отчет по лаборатории) за определенный период.

За основу, как хранилище данных, была взята система управления базами данных Access 2007 (программный продукт компании Microsoft).

Вся совокупная информация храниться в виде объединенной общей таблицы, содержащая персональные сведения о пациенте, его клинические данные, а также генетическую информацию (генетический паспорт).

Информативный интерфейс содержит три удобной вкладки: 1) содержит сведения о пациенте, 2) клинические параметры, 3) генетический паспорт, обеспечивая оперативный переход в любую из трех вкладок в зависимости от запроса аналитика.

Вкладка «Сведения о пациенте» содержит следующую контактную информацию: Ф.И.О. больного, ИД номер, Национальность, Год рождения/возраст, Телефон, Страна, Регион, Город, Заметки (Приложение № 1). Вкладка «Клинические данные» содержит следующую информацию: ГЛЖ, ДЭ, САД, ДАД, ЧСС, ММЛЖ, иММЛЖ, КДО/ММЛЖ, Е/А, ВИР, ΔD, КИМ, ОХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, ТГ, МАУ, СКФ (Приложение № 2). Во вкладке «Генетический паспорт» отображено название генов и их генотипы, а также номер пробирки образца, Ф.И.О. пациента, пол, дата выполнения, данные исполнителя (Приложение № 3).

Программный комплекс также предусматривает два вида отчета генетической информации: первый отчет, содержит в себе информацию по одному гену (Приложение № 4); отображается совокупная информация по всем исследованным генам в определенном временном интервале. Первый и второй отчет содержит дополнительно персональные данные: Ф.И.О., номер пробирки исследуемого образца, возраст пациента, а также Ф.И. исполнителя проводившего генотипирование.

Дополнительно система базы данных предусматривает оперативный поиск по Фамилии, генотипу, дате исполнения, а также клинических параметров пациента.

Таким образом, разработанный комплекс может быть использован, как источник клинических параметров пациента, а при наличии соответствующей базы данных, как поисковая система для сопоставления выявленного профиля ДНК с хранящимися в БД генотипами.

3.2 Применение базы данных генетических паспортов и клинической информации в медико-биологической практике.

Готовый программный продукт введен в эксплуатацию лаборатории Артериальной гипертензии и молекулярно-генетических исследований при Республиканском Специализированном Центре Кардиологии Министерства Здравоохранения Республики Узбекистан.

Полученные данные частот генотипов по генам (ACE полиморфизм I/D, AT1R полиморфизм A1166C, AGT полиморфизм M235T, AT2R полиморфизм A1675G) 400 коренных узбеков представляющие разные регионы Узбекистана приведены в приложении №5. Результаты генотипирования параллельно с персональными клиническими данными каждого пациента были занесены в базу данных ДНК.

В ходе экспериментального внедрения (аппробации) программного комплекса в базу данных были занесены исполненные за период, начиная с 2002 года и по настоящий момент истории болезни и более 400 генотипов, полученных в ходе исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная работа была нацелена на создания программного комплекса в хранение генетической информации узбекской популяции.

Итоговым научно-техническим результатом проделанной работы стало создание прикладной компьютерной программы для накопления генетических паспортов (хранилища генетических паспортов) и клинической информации, позволяющей поиск признаков (в данном случае генетического профиля пациента) объекта идентификации с идентифицирующими признаками объектов ранее занесенных в базу данных. Дополнительно были получены генетические паспорта по генам РААС у больных страдающих гипертонией.

Полученные результаты позволяют формировать банк ДНК-паспортов и клинической информации на базе лаборатории «Артериальной гипертонии и молекулярно генетических исследований» Республиканского Специализированного центра Кардиологии Министерства здравоохранения. Основным назначением данной базы, является обеспечение возможности оперативного сопоставления клинических параметров и результатов ДНК-анализа поступивших пациентов.

Настоящая исследовательская работа выполнена в рамках проекта ИТД -1109-11.3-18631 «Полиморфизм генов РААС: аспекты патогенеза и фармакогенетика эссенциальной гепертонии у лиц узбекской национальности».

ВЫВОДЫ

1. В ходе проведенной работы установлено, использование набора фирмы GenTest, РФ позволяет генотипировать личность с высокой степенью достоверности.
2. Установлено, создание региональной базы данных по хранению генетических и клинических данных позволяет максимально быстро обрабатывать большие массивы информации за минимально короткое время.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В.С. Молекулярная медицина, молекулярная диагностика, превентивная медицина и генная терапия // Мол. биол. Санкт-Петербург 2000. - №4 (34). С. 684-695.
2. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э., Асеев М.В. Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предикативную медицину. СПб: Интермедика. 2000, С. 271.
3. Баранов В.С., Хавинсон В.Х. Определение генетической предрасположенности к некоторым мультифакториальным заболеваниям. Генетический паспорт / Ред. Хавинсон В.Х. СПб.: ИКФ–Фолиант, 2001. - С.48.
4. Горбунова В.Н., Баранов В.С. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. СПб. «Специальная литература». 1997, С. 287.
5. Инструкция набора реагентов для PCR амплификации ТУ 9398-001-73867468-2005. лаборатория молекулярной диагностики и геномной дактилоскопии 2010.
6. Исаенко М.В., Иванов П.Л. «Возможность верификации амплификационных профилей ДНК с помощью применения электрофореза в разных гелевых средах» Суд. Мед. экспертиза, 2000, №5, с.32-37.
7. Инструкция набора реагентов для PCR амплификации ТУ 9398-001-73867468-2005. лаборатория молекулярной диагностики и геномной дактилоскопии 2010.
8. Мустафина О.Е., Туктарова И.А., Бикмеева Т.Р. Исследование инсерционно-делеционного полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента в популяциях Волго-Уральского региона. Генетика. 2001;37(2):1-5.

9. Пузырев В.П., Степанов В.А. Патологическая анатомия генома человека. Новосибирск: Наука. 1997, С. 223.
10. Харрингтон С., Макги Дж. Молекулярная клиническая диагностика. М: Мир. 1999, С.558.
11. Baranova H. Predictive medicine - what is it about? Int. Congr. in Predictive Medicine. Program and Abstracts. Vichy France 2001; P. 3-7.
12. Benetos A., Gautier S., Ricard S. et al. Influence of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms on aortic stiffness in normotensive and hypertensive patients. *Circulation* 1996;4: 698-703.
13. Bonnardeaux A., Nadaud S., Charru A. et al. Lack of evidence for linkage of endothelial cell nitric oxide synthesis gene to essential hypertension. *Circulation*.1995;91:96-102.
14. Burke W et al. *The Genetic Basis of Human Diseases* New York. Oxford University Press, New York 1992; 170-191.
15. Benetos A., Gautier S., Ricard S. et al. Influence of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms on aortic stiffness in normotensive and hypertensive patients. *Circulation* 1996;4: 698-703.
16. Bonnardeaux A., Davies E., Jeunemaitre X. et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension*. 1994;24:63-69.
17. Bonithon-kopp C., Ducimetiere P., Touboul P.J. et al. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickness. *Circulation*.1994;89:952-954.
18. Dzida G., Sobstyl J., Puzniak A., Golon P. et al. Polymorphisms of angitensin-converting enzyme and angiotensin II receptor type 1 genes in

- essential hypertension in a Polish population. *Med. Sci. Monit.* 2001; 7(6):1236-1241.
19. Corvol P., Jeunemaitre X. Molecular genetics of human hypertension: role of angiotensinogen. *Endocrine Reviews.* 1997; 18: 662-627.
 20. Castellano M, Glorioso N, Cusi D, Sarzani R, Fabris B, Opocher G. et al. Molecular Genetic Study Group of the Italian Society of Hypertension. Genetic polymorphism of the renin-angiotensin-aldosterone system and arterial hypertension in the Italian population: the GENIPER Project. *J. Hypertens.* 2003;21(10):1853-60.
 21. Chebab F.F Molecular diagnostics: past, present and future. *Hum. Mutat.* 1993; Vol.2, № 5. P. 321-330.
 22. Castellano M., Muiesan M.L., Rizzoni D. et al. Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism and arterial wall thickness in a general population. *Circulation.*1995;91:2721- 4.
 23. Celentano A., Palmieri V., Mancini F.P. et al. Ambulatory Blood Pressure Is Associated to ACE Polymorphism in Sustained Hypertension, in Absence of Cardiovascular Risk Factors. *College Cardiology, 46-th Am. Scintific Session, 1997; Abstr. P.724-734.*
 24. Ichihara S., Yamada Y., Fujimura T., Yokota M. Association of a polymorphism of the endothelial constitutive nitric oxide synthesis gene with myocardial infarction in Japanese population. *Am. College Cardiology, 47-th: an. scientific session. N.Y., 1998; 902-911.*
 25. Iwai N., Ohmichi N., Nakamura Y. Et al. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation.*1994;90: 2622-2628.
 26. Isa M.N., Boyd E., Morrison N., et al. Regional chromosomal localization of the human angiotensinogen gene to 1q4.42-4.43 band. *Am.J.Hum.Genet.*;1989: 45 (suppl.), A144.

27. Ichiki T., Usui M., Kato M. et al. Down regulation of angiotensin II type 1 receptor gene transcription by nitric oxide.
28. 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): 418-422.
29. Fan H., Li S., Gu W. et al. Association between angiotensin II type 1 receptor gene and human essential hypertension. *Chung Hua I Hsueh I Chuan Hsueh Tsa Chin.* 1998;15(2):101-103.
30. Ferrario C.M. Importance of the renin-angiotensin-aldosterone system in the physiology and pathology of hypertension. *Drugs.* 1990; 39: 1-8.
31. Gharavi A.G., Lipkowitz M.S., Diamond J.A. et al. Deletion polymorphism of the ACE gene is independently associated with left ventricular mass and geometric remodeling in systemic hypertension. *Am J Cardiol.* 1996;7:1315-1319.
32. Gomez-Angelats E., de la Sierra A., Enjuto M. et al. Lack of association between ACE gene polymorphism and left ventricular hypertrophy in essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2000;14:47-49.
33. EUROGAPP Project Population Genetics Screening Programs: Principles, Techniques, Practices and Policies. 2000. P. 65.
34. Hatakeyama H., Miyamori I., Fujita T., Takeda R., Yamamoto H. Vascular aldosterone. Biosynthesis and a link to angiotensin II induced hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.* 1994;269:24316-24320.
35. <http://www.luric.com>
36. <http://www.genome.ad.jp/keg>
37. Liggett S. Molecular and genetic basis of B₂-Adrenergic Receptor function. *O Allergy Cl Immunol.* 1999; 104: S42-S46.

38. Marceau F, Hess JF, Bachvarov DR. The B1 receptors for kinins. *Pharmacol Rev* 1998;50:357-386.
39. Malik FS, Lavie CJ, Mehra MR. Renin-angiotensin system: Genes to bedside. *Am. Heart J.* 1997;134:514–526.
40. Marian A.J., Yu Q.T., Workman R. et al Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet.*1993;342:1085-1086.
41. Montgomery H.E., Clarkson P., Dollery C.M. et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation.*1997;96:741-747.
42. Nagashima J., Musha H., So T. et al. Effect of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on left ventricular remodeling after anteroseptal infarction. *Clin Cardiol.*1999;22:587-590.
43. Nickenig G., Roling J., Strehlow K., Bohm M. Insulin induced upregulation of AT1 receptor gene expression by posttranscriptional mechanisms. XX Congress of the European Society of Cardiology. 1998; Abstract 2110.
44. Nickenig G., Roling J., Strehlow K., Bohm M. Salt induced vascular AT1 receptor over expression in vivo and in vitro. XX Congress of the European Society of Cardiology.1998; Abstract 3411.
45. Perticone F., Ceravolo R., Cosco C. et al. Deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene and left ventricular hypertrophy in southern Italian patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999;29: 365-369.
46. Ren X., Hu A., Liu L. et al. ACE Gene I/D Polymorphism Relation to Hypertension on Chinese Man People. XIII World Congress Of Cardiology.1998;Abstr.:P.1653.
47. Nickenig G., Roling J., Strehlow K., Bohm M. Salt induced vascular AT1 receptor over expression in vivo and in vitro. XX Congress of the European Society of Cardiology.1998; Abstract 3411.

48. O'Donnell C.J., Lindpaintner K., Larson M.G. et al. The ACE Deletion Insertion Polymorphism and Hypertension: on Association Analysis in the Framingham Heart Study. ACC, 46-th An. Scientific Session.1997;Abstr: P.724-732.
49. Orita M, IwahanaH, Kanazawa H, Sekya T. Detection of polymorphism of human DNA by gel electrophoresis as single cell conformation polymorphism. Proc Natl Acad Sci 1989; 86:2766-2770.
50. Pratt R, Dzau V. Genomics and Hypertension. Concept, Potential and Opportunities. Hypertension 1999; № 33:2: 238-247.
51. Paul M., Wagner J., Dzau V.J. Gene expression of the renin-angiotensin system in human tissues. Quantitative analysis by the polymerase chain reaction. J Clin Invest.1993;91:2058-2064.
52. Porier O., Georges J.L., Ricard S., Arvelier D., Ruidavts J.B. et al. New polymorphisms of the angiotensin II type 1 receptor gene and their associations with myocardial infarction and BP: The ECTIM study. J. Hypertens. 1998;16:1443-1447.
53. Reiss J. Polymerase chain reaction and potential role in clinical diagnostics and research. J Intern Med 1991; 230: 391-395.
54. Ren X., Hu A., Liu L. et al. ACE Gene I/D Polymorphism Relation to Hypertension on Chinese Man People. XIII World Congress Of Cardiology.1998;Abstr.:P.1653.
55. Scharf NJ., Chakravarti A., Thiel B., Fomage M. et al. Lack association between a beallelic polymorphism in whites and Africans Americans. Am J Hypertens. 2000;13:693-698.
- 56.Schunkert H., Hense H.W., Muscholl M. et al. Associations between circulating components of the renin-angiotensin-aldosterone system and left ventricular mass. Heart. 1997;77:24-31.

57. Siffert W. G protein β_3 subunit 825T allele, hypertension, obesity, and diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1298-1306.
58. Sethi A.A., Nordestgaard B.G., Agerholm-Larsen B., et al. Angiotensinogen polymorphisms and elevated blood pressure in the general population: the Copenhagen City Heart Study. *Hypertension*. 2001; 37(3):875-81.
59. Takeda Y., Miyamori I., Yoneda T., Hatakeyama H., Inaba S. et al. Regulation of aldosterone in human vascular endothelial cells by angiotensin II and adrenocorticotropin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996;81:2797-2800.
60. Tiret L., Rigat B., Visvikis S. et al. Evidence from combined segregation and linkage analysis that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet.* 1992;51:197-205.
61. Ueno H., Takata M., Yasumoto K. et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and geometric patterns of hypertensive left ventricular hypertrophy. *Jpn Heart J.* 1999;40:589-598.
62. Unger T. The angiotensin type 2 receptor: variations on an enigmatic theme. *J. Hypertens.* 1999;17:1775–1786.
63. Wang Z, Moulton J. SNPs, protein structure and disease // *Hum. Mut.* 2001. Vol. 17. P. 263-270.
64. West M.J., et al. Renin and angiotensin-converting enzyme genotypes in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1994;21:207-210.
65. Weber K.T., Brilla C.G. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium: fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation.* 1991;83:1849-1865.
66. Weber K.T., Brilla C.G., Campbell S.E., Guarda E., Zhou G., Sriram K. Myocardial fibrosis: role of angiotensin II and aldosterone. *Basic. Res. Cardiol.* 1993;88(suppl 1):107-124.

67. Winkelmann B.R., Russ A.P., Nauck M., et al. Angiotensinogen M235T polymorphism is associated with plasma angiotensinogen and cardiovascular disease. *Am Heart J.* 1999;137(4 Pt 1):698-705.
68. Weber K.T., Brilla C.G., Campbell S.E., Guarda E., Zhou G., Sriram K. Myocardial fibrosis: role of angiotensin II and aldosterone. *Basic. Res. Cardiol.* 1993;88(suppl 1):107-124.
69. Werner N., Bohm M. Inhibition of the Renin Angiotensin System and Vascular Protection. *Cardiovasc. Rev. Rep.* 2003;24(4):207-213.
70. Winkelmann B.R., Russ A.P., Nauck M., et al. Angiotensinogen M235T polymorphism is associated with plasma angiotensinogen and cardiovascular disease. *Am Heart J.* 1999;137(4 Pt 1):698-705.
71. Xie H.G., Dishy V., Sofowora G. et al. Arg389Gly β_1 - Adrenergic Receptor Polymorphism varies in frequency among different ethnic groups but does not alter response in vivo. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 191-197.

Сведения о пациенте

Абдурахманов Азамат

Перейти Абдурахманов Азама Новая форма Отчеты

Общие сведения Клинические данные Генетический паспорт

Личные данные

ИД номер 2535
Ф.И.О. Абдурахманов Азамат
Год рождения/возраст 53
Национальность узб

Телефон

Телефон

Адрес

Страна или регион Узбекистан
Город Ташкент
Область

Заметки

Записи: 2 из 161 Нет-фильтра Поиск

Окно ниспадающего меню

Сведения о пациенте

Абдурахманов Азамат

Перейти Абдурахманов Азама Новая форма Отчеты

Общие сведения Клинические данные Генетический паспорт

Клинические данные		Функциональные данные	
САД	155	ММЛЖ	410,8
ЧСС	74	иММЛЖ	210,1
ДАД	105	Е/А	1,2
Тип дислипидемии		ВИР	
Курение		КДО/ММЛЖ	0,3
		КИМсон	1,3
		Δ D%	8

Лабораторные данные	
ОХС	229
ХС ЛПНП	135
ТГ	293
МАУ	20,96
ХС ЛПВП	35
СКФ	

Записи: 2 из 161 Нет фильтра Поиск

Вкладка «Клинические данные»

база 2002-2005					
генотип АТ1R	Фамилия больного	возраст	№ пробирки	дата выполнения	Выполнил
-	Холматов Рустам	42		2002-2005	Нагай С
Итоги для 'генотип АТ1R' = - (1 запись)					
AA					
	Камбаров Пахлавон	50		2002-2005	Нагай С
	Норметов Салохитдин	54		2002-2005	Нагай С
	Косимов Шахзод	36		2002-2005	Нагай С
	Кодиров Пошшакул	48		2002-2005	Нагай С
	Кодиров Иброхим	45		2002-2005	Нагай С
	Кодиров Ашур	51		2002-2005	Нагай С
	Касимов Рустам	31		2002-2005	Нагай С
	Маликов Карим	44		2002-2005	Нагай С
	Камилов У	54		2002-2005	Нагай С
	Камалов Н	33		2002-2005	Нагай С
	Калонов Обиджон	32		2002-2005	Нагай С
	Кадыров Хикмат	54		2002-2005	Нагай С
	Исроилов Шакарбой	53		2002-2005	Нагай С
	Исроилов Адхам	48		2002-2005	Нагай С
	Исажонов Абдурахмон	61		2002-2005	Нагай С
	ИрисбаевБ	40		2002-2005	Нагай С
	Каримов Шухрат	29		2002-2005	Нагай С
	Мухитдинов Ф.	56		2002-2005	Нагай С
	Нишонов Шухрат	61		2002-2005	Нагай С
	Низамов Хасан	42		2002-2005	Нагай С
	Низамов Нуритдин	57		2002-2005	Нагай С
	Низамов Баходир	58		2002-2005	Нагай С
	Нигманов К	55		2002-2005	Нагай С
	Назимов В.А.	60		2002-2005	Нагай С
	Кушенов Фахриддин	27		2002-2005	Нагай С
	Набиев Талат	32		2002-2005	Нагай С
	Ибрагимов Оловиддин	42		2002-2005	Нагай С
	Музаффаров Абзал	55		2002-2005	Нагай С
	Каримов	36		2002-2005	Нагай С
	Мирсаидов Мирзиед	55		2002-2005	Нагай С
	Мирпулатов Мурод	61		2002-2005	Нагай С
	Мирзарахимов Фарход	60		2002-2005	Нагай С
	Маматов Ахмат	29		2002-2005	Нагай С
	Маллабоев Набидулла	56		2002-2005	Нагай С
	Назаров Абдурашид	62		2002-2005	Нагай С
	Азимов Шоабдурахим	54		2002-2005	Нагай С
	Иргашев Абдували	48		2002-2005	Нагай С
	Арипов Комилжон	46		2002-2005	Нагай С
	Аноров Раббано	43		2002-2005	Нагай С

Ген ACE полиморфизм I/D

Генотип	Частота втр-ти P	Процент %	Кол-во объектов ЭГ
DD	32	32 %	100
ID	46	46 %	
II	22	22%	

Ген AT1R полиморфизм A1166C

Генотип	Частота втр-ти P	Процент %	Кол-во объектов ЭГ
AA	71	71 %	100
AC	28	28 %	
CC	1	1%	

Ген AGT полиморфизм M235T

Генотип	Частота втр-ти P	Процент %	Кол-во объектов ЭГ
MM	19	19 %	100
MT	70	70 %	
TT	11	11%	

Ген AT2R полиморфизм A1675G

Генотип	Частота втр-ти P	Процент %	Кол-во объектов ЭГ
A	35	35 %	100
G	65	65 %	