**Биомаркеры и молекулярная патология в эпидемиологии**

**ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

биомаркер гонадотропин заболевание

АсАТ -аспартатаминотрансферазы

ВОЗ - Всемирная Организация Здравоохранения

ГЭБ - гематоэнцефалический барьер

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

КТ - компьютерная томография

КФК -креатинфосфокиназа

ЛПНП - липопротеиды низкой плотности

МРТ - магнитно-резонансная терапия

ПСА - простат-специфический антиген

СМТ -соматомаммотропин

США - Соединенные Штаты Америки

ТТГ- тиреотропин

УЗИ - ультразвуковое исследование

ХГЧ - хорионический гонадотропин

ЦНС - центральная нервная система

**ВВЕДЕНИЕ**

К настоящему времени доказана связь не только наследственных, но и практически всех заболеваний с генами человека. При наследственных болезнях наблюдается дефект гена, а при других заболеваниях - нарушение регуляции экспрессии гена. Из результатов, полученных геномикой, следует логический выход на генную терапию. Из геномики выросла другая новая наука - протеомика, задачи которой - охарактеризовать белки и их модифицированные формы, присутствующие в конкретной клетке, ткани или органе в норме и при патологии [6].

Геномика, протеомика и биоинформатика стали определяющими науками в современной биологии. Благодаря успехам протеомики теперь прямо в патологически измененных тканях можно видеть диспропорцию между белками. На смену двухмерному электрофорезу пришла масс-спектрометрия с источником ионизации MALDI и преобразованиями Фурье при расшифровке сигнала. Ведутся исследования по созданию принципиально новых лекарственных препаратов с использованием антисмысловыхолигонуклеотидов, блокирующих экспрессию того или иного гена, с помощью биоинформатики создаются новые пути от гена к лекарству через анализ структуры макромолекулы. В оценке терапевтического процесса с применением как известных, так и новых лекарственных форм и предсказаниях результата терапии большую роль наряду с клиническими показателями могут сыграть биомаркеры [14].

Понятие «молекулярная эпидемиология» введено в научную литературу в 1973 г. в статье E. Kilburn с соавторами «Молекулярная эпидемиология гриппа». Оно было немедленно подхвачено в самых различных областях медицины, что отражает готовность научного, а затем и врачебного сообществ, воспринять и воплотить в жизнь достижения молекулярной биологии и молекулярной микробиологии того времени [13].

Первым крупным шагом этого нового направления (который принят не всеми) был выход за пределы инфекционной патологии, его задачей считали исследование любых внешних молекулярных рисков для здоровья человека (биологических, химических, вызванных физическими факторами и т.д.). Вторым шагом было создание нового направления - «генетической эпидемиологии», изучающей эндогенные риски возникновения заболеваний [3].

Молекулярная патология является частью молекулярной медицины, сформировавшейся в последние два десятилетия на стыке фундаментальных наук и практической медицины (патологии). Молекулярная патология изучает молекулярные причины, приводящие к развитию болезни, и опирается на достижения патологической анатомии, молекулярной и клеточной биологии, генетики, использует арсенал биотехнологии и нанотехнологии [24].

На стыке молекулярной патологии и эпидемиологии родилось направление молекулярно-патологическая эпидемиология.Она активно используется в популяционных исследованиях в онкологии и эпидемиологии инфекционных болезней [22, 25, 26].

Подходы и результаты молекулярной эпидемиологии широко используются в превентивной медицине, в направлениях персонализированной медицины и вакцинологии; для поиска предикторов эффективности проведения дорогостоящих лечебных и профилактических мероприятий; в решении проблем персистентных вирусных инфекций; определении молекулярных мишеней и разработки и испытаниях средств таргетной терапии.

Актуальным вопросом в настоящее время остается идентификация ключевых патогенетических мишеней для своевременного и наиболее эффективного лечения заболеваний. Знание механизмов развития аутоиммунного процесса способствует прогнозированию клинического ответа на терапию, предупреждению рецидива заболевания, подбору необходимого препарата и дозы для конкретного пациента, что соответствует концепции персонифицированной медицины. Для достижения этой цели существуют современные лабораторные технологии, направленные на определение молекулярных и клеточных биомаркеров, позволяющих мониторировать эффективность и безопасность их применения [9].

Цель работы - охарактеризовать биомаркеры, их использование для целей эпидемиологии, а также применение подходов и результатов молекулярной патологии в эпидемиологии.

*Задачи исследования:*

1. Изучить имеющиеся литературные данные по теме исследования.

. Рассмотреть понятие биомаркера, его виды.

. Проанализировать роль биомаркеров и молекулярной патологии в эпидемиологии.

. Рассмотреть некоторые виды биомаркеров по типу заболевания.

**ГЛАВА 1. БИОМАРКЕРЫ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПАТОЛОГИЯ В ЭПИДЕМИОЛОГИИ**

**1.1 Общая характеристика понятия и задачбиомаркера**

Биомаркеры считаются краеугольным камнем интеллектуальной профилактической и персонализированной медицины будущего. Однако немногие из них до сих пор эффективно используются в медицине. Каждый из нас на протяжении жизни по разным причинам неоднократно измерял свой рост, вес, давление, сдавал анализы крови, делал УЗИ, МРТ, а также определял многие другие параметры состояния своего организма. Это всё и есть биомаркеры.

Таким образом, биомаркеры - это такие показатели, которые могут быть использованы в качестве индикаторов какого-либо болезненного или физиологического состояния организма.В прошлом в качестве биомаркеров использовались, прежде всего, такие показатели как кровяное давление или частота сердечных сокращений [5].

Однако со временем понятие биомаркеров стало значительно шире. Например, сейчас одним из часто используемых биомаркеров в медицине является простат-специфический антиген (ПСА). Этот маркер может потенциально указывать на рак простаты. Появились новые биомаркеры, которые связаны с технологией обработки изображения или такие, которые используются при разработке лекарственных средств.

В генетике биомаркер (генетический маркер) представляет собой последовательность ДНК, которая связана с восприимчивостью к болезни или вызывает заболевание. В настоящее время уже используются тысячи биомаркеров для оценки состояния здоровья, однако существует потребность в разработке новых маркеров, которые могли бы значительно помочь в диагностике и лечении сложных заболеваний [1].

В 2001 году эксперты Национального института здоровья США предложили следующее определение биомаркера: Биомаркер - это характеристика, которую можно объективно измерить, и которая может служить в качестве индикатора физиологических и патологических биологических процессов или фармакологических ответов на терапевтическое вмешательство.

В настоящее время существует более точное определений этого понятия:

. Биомаркер (биологический маркер) - это исследуемый параметр, измерение которого отличается высокой точностью, надежностью и воспроизводимостью, что позволяет отражать напряженность физиологических процессов, состояние здоровья, степень риска или факт развития заболевания, его стадию и прогноз.

. Биомаркер - это характеристика (биологический признак), которая используется в качестве индикатора биологического состояния всего организма.

. Биомаркеры могут представлять собой вещество, чье обнаружение указывает на конкретное болезненное состояние или присутствие чужеродных организмов. Например, присутствие специфических антител может указывать на конкретную инфекцию.

. Биомаркером также может быть вещество, которое вводят в организм в качестве средства для изучения функции органа. Например, радиоактивный изотоп хлорида рубидия используется для оценки кровоснабжения сердечной мышцы [2].

Таким образом, исследуя один или несколько параметров, можно судить о состоянии всего организма. Например, обнаружение хорионического гонадотропина свидетельствует о беременности.

Основные задачи биомаркеров:

. Прогнозирование индивидуального риска заболеваний у здоровых лиц.

. Оценка нормальных физиологических процессов в организме (рост, вес, спортивная форма, протекание беременности, старение).

. Выявление заболеваний, подбор лечения, оценка его эффективности.

. Прогнозирование течения и исхода заболевания.

. Определения негативных эффектов внешней среды, в том числе химических отравлений, радиационного облучения и др.

. Разработка новых лекарственных средств [16].

Кроме того, биомаркеры позволяют оценить состояние пациента во время лечения, определить так называемые clinicalendpoints(рисунок 1), показать возможный исход заболевания и предполагаемые результаты терапии, хотя в этом вопросе их применения еще много недоработанного. Они позволяют оценить безопасность терапии и вероятность смертности при наличии известных факторов риска. Набор биомаркеров, являясь искусственным (суррогатным) заменителем клинических показателей (clinicalendpoints), позволяет предсказать результат лечения (благоприятный прогноз или сохранение опасности для жизни) на основе эпидемиологических, патофизиологических, терапевтических и других информативных данных [16].

Рис.1 - Мониторинг эффективности терапии, опосредованный биомаркером

К общим свойствам биомаркеров относится их специфическая связь с патологией, чувствительность, доступность применения к лицам разного пола и возраста, однозначность идентификации, высокая разрешающая способность метода определения, совместимость с имеющимся лабораторным оборудованием, а также возможность определения биомаркера как в острой фазе заболевания, так и при ремиссии.

Если биомаркер используется в условиях, представляющих опасность для жизни пациента (например, острый инфаркт), то он должен быть максимально чувствительным, решающим является правило «ruleout» (исключение заболевания). Цена ошибочной диагностики здоровья в данном случае превышает стоимость дополнительного тестирования или ошибочного диагноза заболевания [2].

В диагностике и клинике часто используются изоферменты, по этому показателю можно судить о повреждении ткани. Клеточная мембрана непроницаема для ферментов, и энзиматическая активность в сыворотке крови гораздо ниже, чем в клетках. При повреждении ткани растворимые компоненты клеток, в том числе ферменты, попадают в кровь. Поэтому, чтобы определить, произошло ли у больного с соответствующими симптомами повреждение ткани, и в какой степени, обычно измеряют активность ферментов в сыворотке.

Преимущества такого подхода в том, что содержание ферментов можно определять по катализируемой ими реакции с помощью чувствительных энзимологических методов, достаточно недорогих и быстрых в исполнении. Изоферменты, как биомаркеры, позволяют генетически охарактеризовать популяцию человека, выявить уровень типов, подверженных влиянию того или иного внешнего фактора, показать генетическое разнообразие выборки [7].

**1.2 Разнообразие биомаркеров**

Единой общепринятой системы классификации биомаркеров нет. Поэтому существует несколько классификаций.

*1. В зависимости от характеристик биомаркеров*:

А) Отображаемые (визуализируемые) биомаркеры (КТ, МРТ).

Б) Неотображаемые (молекулярные) биомаркеры.

Молекулярные биомаркеры - это те, которые имеют биофизические свойства и позволяют их измерить в биологических средах (плазма, сыворотка, спинномозговая жидкость). Это такие маркеры как нуклеиновые кислоты, белки, липиды, метаболиты и другие малые молекулы. В качестве биомаркеров могут служить концентрации специфических пептидов, энзимов, гормонов и др. [10].

*2. В зависимости от цели их применения при диагностике и лечении*:

А) Предупредительные. Используются для выявления лиц с повышенным риском возникновения заболевания по уровню содержания в организме тех или иных веществ. Например, повышение количества липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) может указывать на высокий риск развития атеросклероза.

Б) Верификационные - подтверждающие заболевания на субклинической стадии. Например, микроальбуминурия (появление в моче небольшого количества альбумина) появляется у лиц с сахарным диабетом ещё до того, как появятся первые клинические проявления.

В) Диагностические биомаркеры. Используются для идентификации определенного заболевания. Например, повышение белка тропонина в крови указывает на инфаркт миокарда, а гликолизированного гемоглобина - на сахарный диабет [10].

Г) Биомаркеры состояния. Используются для определения тяжести заболевания. Например, мозговой натрийуретический пептид - для определения функционального класса застойной сердечной недостаточности.

Д) Прогностические. Используются для оценки прогноза развития заболевания, его возможного исхода и оценки эффективности лечения. Например, биомаркеры рака при опухолях или гликозилированный гемоглобин при диабете.

Е) Фармакодинамические биомаркеры. Используются при разработке лекарств и выявляют определенный фармакологический ответ, что необходимо при исследованиях по оптимизации дозировок лекарств.

. *В зависимости от исследуемой системы или состояния.* Каждая биологическая система (например, сердечнососудистая, иммунная, метаболическая) имеет свои собственные специфические биомаркеры [8].

В зависимости от исследуемой системы биомаркеры соответственно могут быть:

А) Нейропсихиатрические биомаркеры - это высокоспецифичные биологические признаки, указывающие на наличие определенного нейропсихиатрического заболевания (эпилепсия, болезнь Альцгеймера, шизофрения, депрессия и др.).

Б) Иммунологические - это высокоспецифичные биологические признаки, указывающие на наличие определенного иммунного нарушения.

В) Сердечнососудистые.

Г) Метаболические.

Д) Биомаркеры для мониторинга рака (онкомаркеры).

Е) Биомаркеры старения - объективные физиологические параметры состояния органов и систем организма, которые изменяются качественно или количественно при старении.

Ж) Биомаркеры спортивной формы.

З) Биомаркеры воздействия окружающей среды. Они, в частности, выявляют токсические вещества в организме. В этом случае биомаркером может быть само отравляющее вещество. Но им также могут быть вещества, которые образуются в организме под воздействием данного токсина. Например, при воздействии окиси углерода в крови повышается уровень карбоксигемоглобина, при воздействии фосфорорганических соединений в крови уменьшается количество фермента холинэстеразы [10].

*3. В зависимости от вида исследований*:

А) Биохимические биомаркеры.

Б) Генетические.

В) Нейрофизиологические.

Г) Эндокринологические.

Д) Анатомические.

Е) Когнитивные, др.

. *В зависимости от длительности определяемых расстройств:*

А) Маркер состояния - определяет преходящее нарушение, отражая результат недавнего воздействия. Например, недавнее употребление наркотика или алкоголя определяется по их содержанию в крови.

Б) Структурный маркер - определяет стойкие структурные изменения при длительно протекающих состояниях. Например, специфические изменения структуры и функции печени при алкоголизме.

В) В зависимости от специфичности.

Г) Специфические биомаркеры. Указывают на возникший биологический эффект при конкретном воздействии. Например, антитела к хламидиям указывают на хламидиоз [13].

Д) Неспецифические. Не указывают на конкретную причину возникшего эффекта, но отражают общий эффект воздействия. Например, ускорение скорости оседания эритроцитов указывает не только на воспалительный процесс, но также может иметь место при беременности, анемиях, опухолях и др.

Согласно терминологии специальной рабочей группы США BiomarkersDifinitionsWorkingGroup, принятой в 2001 году, «биологические маркеры - это количественно определяемые биологические параметры, которые как индикаторы определяют норму, патологию и результат лекарственной коррекции заболевания». Биомаркеры классифицируются на антецендентные (идентифицирующие риск возникновения заболеваний), скрининговые (использующиеся для верификации субклинических стадий заболевания на скриниге), диагностические (позволяющие уточнить наличие определенного заболевнаия), так называемые биомаркеры состояния (standingbiomarkers), характеризующие тяжесть заболевания, и прогностические биомаркеры (отражающие эволюцию развития заболевания, в том числе позволяющие прогнозировать ожидаемый ответ на лечение, терапевтическое вмешательство и проводить мониторинг эффективности лечения) (табл. 1) [15].

Таблица 1. Классификация биомаркеров в соответствии с рекомендациями и номенклатурой *BiomakersDefinitionsWorkingGroup*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Название | Цель применения | Пример биомаркера |
| Антецендентные | Идентификация риска возникновения заболевания | Концентрация липопротеидовнизкой плотности (ЛПНП), глюкозы у лиц в общей популяции |
| Скрининговые | Верификация субклини-ческих стадий заболевания | Микроальбуминурия у лиц вобщей популяции, а также убольных с артериальной гипертензией |
| Диагностические | Идентификация наличия определенного заболевания | Концентрация амилазы при заболеваниях поджелудочной железы |
| Биомаркеры состояния | Характеристика тяжести заболевания | Концентрация инсулина при диабетической коме |
| Прогностические | Оценка прогноза развития заболевания, ответа на лечение/ терапевтическое вмешательство или мониторинг его эффективности | Концентрация тропонина Т при остром коронарном синдроме/инфаркте миокарда |

Кроме того, биомаркеры разделяются на три основные категории в зависимости от клинических исходов заболеваний (табл. 2) [4].

Таблица 2. Основные типы биологических маркеров в соответствии с номенклатурой *Biomakers Definitions Working Group*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Тип биомаркера | Характеристика | Пример биомаркера |
| Тип 0 | Маркер естественной эволюции заболевания, проявляющий прямую устойчивую взаимосвязь с установленными клиническими характеристиками | Микроальбуминемия, уровень глюкозы натощак, маркеры дисфункции эндотелия |
| Тип I | Маркер, отражающий эффект терапевтической интервенции в соответствии с механизмом действия лекарственных средств | Активность металлопротеиназ, маркеры окси-дативного стресса, маркеры провоспалительной активации |
| Тип II | Биомаркер суррогатных конечных точек обычно характеризует ожидаемый клинический успех/вред стратегии лечения или отражает позитивный / негатив-ный предсказующий потенциал диагностических процедур  | Активность аспартата-минотрансферазы (АсАТ) при заболеваниях сердца и печени, концентрация глюкозы при сахарном диабете  |

Согласно концепции SMART биомаркер должен быть [3, c. 417]:

S - specific and sensitive - чувствительным и специфичным;- measurable - измеряемым;- available and affordable - доступным;- responsive and reproductive - воспроизводимым;

T - timely - своевременным.

Биомаркеры помогают определить безопасность и эффективность клинических испытаний, дают информацию для выработки режима дозирования и минимизации интериндивидуальных различий в ответе.

Оценка выгоды или риска является основной задачей разрабатываемого плана всех терапевтических вмешательств. Наиболее реальный путь оценки заболевания - по клиническим конечным показателя, таким, например, как выживаемость, инфаркт миокарда, перелом кости или возникновение рака и др. Однако эти стандарты не применимы для оценки долговременной терапии, поскольку требуется длительное время для проявления этих клинических показателей и испытаний с большим количеством пациентов. Биомаркеры, представляющие собой чувствительные и специфические индикаторы заболеваний, могут стать замещающими предикторами конечного результата для получения клинического ответа на терапию в случае такой долговременной терапии [17].

**1.3 Организация мониторинга за наследственными заболеваниями в РБ**

В Беларуси, как и в других странах с высоким уровнем медицинской помощи и низкой неонатальной и перинатальной смертностью, врожденная и наследственная патология (прежде всего врожденные пороки развития, хромосомные болезни и наследственные болезни обмена веществ) занимает одно из ведущих мест в структуре детской заболеваемости, инвалидности и смертности.

В современной медицине существуют два основных подхода к выявлению наследственных заболеваний.

Первый - массовый скрининг на заболевания, широко распространенные в данной популяции и имеющие хорошо разработанное лечение.

Неонатальный биохимический скрининг организован в Беларуси с 1978 года и в настоящее время осуществляется клинико-диагностической генетической лабораторией ГУ РНПЦ «Мать и дитя». Скрининг включает обследование всех новорожденных республики по сухим пробам крови на фенилкетонурию и врожденный гипотиреоз.

Все выявленные дети госпитализируются в ГУ РНПЦ «Мать и дитя» для проведения уточнения диагноза и введения специфического лечения. Дальнейшее наблюдение пациентов проводится по месту жительства.

В соответствии с Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 30.11.2007г. №1650 обеспечение лечения детей с врожденным гипотиреозом и специального питания для детей больных фенилкетонурией, а также беременных с этим заболеванием является бесплатным.

Второй подход представляет собой обследование пациентов с определенными клиническими признаками, позволяющими заподозрить наследственное заболевание. В соответствии с таким подходом существующая в настоящее время схема диагностики генетической патологии предусматривает выявление пациентов группы риска по клиническим признакам и результатам лабораторных и инструментальных исследований врачами участковой службы и специалистами (педиатрами, терапевтами, акушер-гинекологами, эндокринологами, неврологами, окулистами и врачами других специальностей). Пациенты, у которых заподозрено генетически обусловленное заболевание, направляются на консультацию к врачу-генетику в ГУ РНПЦ "Мать и дитя". Врач-генетик в зависимости от предполагаемого диагноза назначает целенаправленное обследование: цитогенетическое при подозрении на хромосомную патологию, биохимическое при предполагаемой наследственной болезни обмена веществ. Анализ ДНК проводится для уточнения нозологической формы или типа заболевания, выявления носителей гена в семье, проведения пренатальной диагностики. Диагностика может быть начата по сухим пробам крови и мочи. При выявлении характерных изменений пациент приглашается для дополнительного обследования. Медико-генетическое консультирование семьи в случае подтверждения диагноза проводится в ГУ РНПЦ «Мать и дитя».

Лабораторное обследование пациентов с предполагаемым наследственным заболеванием организовано в республике следующим образом.

Цитогенетическое обследование при подозрении на хромосомные болезни или носительство хромосомной перестройки проводится во всех медико-генетических центрах.

Биохимическая диагностика наследственных болезней обмена веществ и ДНК-диагностика наследственных болезней проводится в ГУ РНПЦ "Мать и дитя" для всей республики. Учитывая редкость каждой отдельной нозологической формы наследственных болезней, такая концентрация специализированных исследований в одной лаборатории позволяет наиболее эффективно использовать оборудование и реагенты и постоянно расширять спектр исследуемых патологий.

Ежегодно для уточнения предполагаемого диагноза наследственного дефекта метаболизма обследуется более 2000 человек. Благодаря введению новых видов биохимических исследований в настоящее время освоена и проводится биохимическая диагностика более 200 нозологических форм наследственных болезней обмена веществ. В практику обследования пациентов для уточнения диагноза наследственного нарушения метаболизма введен метод тандемной масс-спектрометрии, позволяющий выявлять редкие болезни обмена.Количество пациентов с впервые установленным диагнозом наследственной болезни обмена веществ составляет ежегодно около 60: в т.ч. фенилкетонурия - 17-20, мукополисахаридоз (разные типы) - 2-6, прочие НБО 15-30.

Дальнейшее диспансерное наблюдение пациентов осуществляют участковые педиатры или терапевты, которые составляют план лечебных и диагностических мероприятий. В зависимости от конкретного заболевания и выраженности клинических признаков такие пациенты требуют наблюдения и симптоматического лечения у врачей специалистов: офтальмолога, ортопеда, кардиолога, невролога. Оказание специализированной медицинской помощи пациентам с редкими генетическими заболеваниями организовано в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь №1327 от 13.12.2010г. «Об организации оказания медицинской помощи пациентам с редкими генетическими заболеваниями» и № 1382 от 30.12.2010г. «Об утверждении инструкции о порядке оказания медицинской помощи пациентам с редкими генетическими заболеваниями», которым в частности определены организации здравоохранения и специалисты, ответственные за оказание специализированной помощи.

Лечение подавляющего большинства наследственных болезней обмена симптоматическое. Симптоматическая терапия в зависимости от конкретного заболевания включает диетические ограничения и лечебное питание, медикаментозную терапию основных проявлений, в т.ч. сердечной недостаточности, дыхательных нарушений, поддержку функции печени; хирургическую коррекцию - протезирование сердечных клапанов, коррекция патологии суставов и пр. Используются также физиотерапевтические методы и лечебная физкультура, прежде всего при поражении опорно-двигательного аппарата [21].

Важное значение имеет проведение реабилитационных мероприятий. Такое лечение проводится в областных больницах и реабилитационных центрах, а также в Республиканской детской больнице медицинской реабилитации и Республиканской клинической больнице медицинской реабилитации.

Основными направлениями научных исследований в области медицинской генетики являются профилактика и своевременная диагностика наследственных болезней; мониторинг врожденных пороков развития; разработка и внедрение в практику медико-генетической и акушерской служб программ предупреждения рождения детей с врожденными пороками развития; разработка и внедрение в практику медико-генетических центров систем биохимической и молекулярно-генетической пренатальной и витальной диагностики наследственных заболеваний, связанных с врожденным нарушением обмена веществ; изучение молекулярно-генетических основ наследственных заболеваний.

Ежегодно на базе ГУ РНПЦ «Мать и дитя» проводятся республиканские семинары и конференции по проблемам медицинской генетики, в них участвуют специалисты разных профилей. Обучение основам медицинской генетики организовано на кафедре неонатологии и медицинской генетики БелМАПО, а также на рабочем месте в ГУ РНПЦ «Мать и дитя».

Таким образом, сотрудниками научных и практических подразделений ГУ РНПЦ «Мать и дитя» проводится большая работа по оказанию медико-генетической помощи населению республики, разработке и внедрению новых методов диагностики, и совершенствованию медико-генетического консультирования, выполнению научных исследований по изучению наследственной и врожденной патологии [21].

**ГЛАВА 2. ПРИМЕРЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОНКРЕТНЫХ БИОМАРКЕРОВ**

**2.1Биомаркеры церебральной гипоксии у новорожденных**

Гипоксически-ишемическое поражение головного мозга в перинатальном периоде представляет собой важную медико-социальную проблему, которая оказывает существенное влияние на многие индивидуальные особенности физической и интеллектуальной сфер развивающегося организма. Поражение центральной нервной системы (ЦНС) в детском возрасте является одной из причин, обусловливающих высокую инвалидизацию детей и значительную смертность.

По данным ВОЗ, до 65-80% патологии ЦНС связано с перинатальным поражением нервной системы. Эти заболевания в 35-40% случаев приводят к инвалидизации и дезадаптации детей в старшем возрасте. Если не предпринимать эффективных мер профилактики и не внедрять новые методы диагностики и лечения, то большинство детей с заболеваниями нервной системы не смогут жить полноценной жизнью [4].

Для лабораторной диагностики ишемии головного мозга особое внимание уделяется поиску новых биохимических маркеров. Проведены клинические испытания ряда молекулярных и иммунохимических лабораторных тестов. Прошли испытания тесты на определение белка S-100 (S-100B), нейронспецифическойэнолазы, глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), натрийуретического пептида мозга (BNP), D-димера, матриксной металлопротеиназы (MMP-9), моноцитарного хемотаксического белка. Среди всего спектра исследованных диагностикумов только тест PLAC, основанный на определении липопротеин-ассоциированной фосфолипазы А2 (Lp-PLA2), получил разрешение FDA для определения риска развития ишемической болезни сердца у взрослых и инсульта в долгосрочном периоде (при повышенных концентрациях PLAC риск инсульта в течение нескольких лет увеличивается в два раза) [7].

Нейротрофическими свойствами обладают структурные белки. S100 является специфическим белком астроцитарнойглии, способным связывать кальций. Впервые определение белка S100 как маркера церебральной ишемии пришлось на 80-е гг. ХХ столетия. Многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов, связанные с определением количества белка S100 и антител к нему при церебральной ишемии, доказывают возможность использовать его как маркер и прогностический критерий повреждения ткани мозга [7.

Выявляется достоверная корреляционная связь между тяжестью поражения мозга и высоким титром белка S100 в сыворотке крови у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС [7], у пациентов с черепно-мозговой травмой, ишемическим инсультом и эпилепсией [12]. Существенным ограничением использования белка S100β и аутоантител к нему является его неспецифичность для ишемии. Такие же закономерности в изменениях этого биомаркера наблюдались при эпилепсии, рассеянном склерозе, травмах и опухолях нервной системы.

В последние годы большое внимание уделяется определению аутоантител к глутаматным рецепторам как маркерам церебральной ишемии. N- метил-D-аспартат (NMDА-рецепторы) - основные возбуждающие нейрорецепторы, которые регулируют электрическую активность нейронов. Данные рецепторы выявляются на поверхности эпителия микрососудов, формирующих гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), и участвуют в регуляции функции микрососудов. Деградация NMDА-рецепторов, наблюдаемая в результате процессов нейротоксичности, которые лежат в основе ишемического повреждения мозга, позволяет судить о степени поражения церебральных сосудов.

Уже на начальных этапах развития ишемии эмболические процессы в мелких мозговых сосудах активируют сериновые протеазы, которые «режут» мембранные «петли» NMDА-рецепторов, расположенные на поверхности синаптической мембраны. Образовавшиеся пептидные фрагменты рецептора (NR2- пептид) попадают в кровоток через поврежденный гематоэнцефалический барьер и вызывают реакцию иммунной системы с образованием специфических NR2-антител [7].

На основе проведенных молекулярных исследований было предложено использовать NR2-пептид и NR2-антитела в качестве маркеров инсульта и ТИА у взрослых пациентов. Диагностическое значение NR2-антител при ишемическом инсульте с объемом ишемии 5-70 см3 приближается к 95,9 %, а при транзиторной ишемической атаке - к 98 % [4]. В детской практике данный метод исследования пока не использовался. Но ведется работа по выявлению зависимости тяжести состояния новорожденного ребенка и уровня антител к NMDА-рецепторам. Учитывая высокую прогностическую значимость данного метода диагностики у взрослых, можно предположить о перспективности этого теста и у родившихся в асфиксии новорожденных [4].

**2.2 Биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний**

Широкое распространение получило применение биомаркеров для идентификации и терапии сердечно-сосудистой патологии. Очевидно, что в каждом конкретном случае биомаркер должен помогать врачу контролировать состояние пациента, например, облегчать идентификацию людей с ишемической патологией. Биомаркеры (например, такой специфичный показатель, как уровни тропонинов I или Т) могут помочь дифференцировать пациентов с инфарктом миокарда от пациентов с легочной эмболией или поражением аорты.

Требования к биомаркерам ишемии - высокая миокардиальная специфичность, отсутствие в нормальной (без патологии) сыворотке и ткани, ранняя детекция, длинный период полувыведения, позволяющий увеличить время для диагностики, быстрое тестирование (результаты <1 час), доступность по цене. Соответствующие рекомендации по диагностике заболевания и оптимизации лекарственной терапии должны быть своевременно предоставлены лечащему врачу. Врачебные мероприятия, оказывающие непосредственное влияние на концентрацию маркера в крови (изменение терапевтической дозы, комедикация, переход на другой препарат), должны быть доведены до сведения аналитика [15].

Некоторые биомаркеры измеряются в особых клинических ситуациях: при отсутствии симптомов, но наличии семейной истории сосудистых заболеваний; у пациентов с предшествующим сосудистым заболеванием, но не выявляемыми факторами риска; у пациентов с периодически повторяющимся агрессивным сосудистым заболеванием в случае хорошо контролируемых уровней условных факторов риска.

Хроническая дисфункция сердца может развиться после проведения интенсивной химиотерапии, приводя к появлению хронической сердечной недостаточности. Недавно установлено, что с развитием сердечной дисфункции хорошо коррелирует постепенное увеличение концентрации в крови натрийуретического про-пептида В-типа. Следовательно, возможно применение данного пептида как удобного биомаркера для контроля химиотерапии и предсказания риска развития сердечной недостаточности [17].

Активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) в сыворотке использует17ся для выявления патологии в сердце и печени. В норме его концентрация в этих двух тканях примерно в 7000 раз выше, чем в сыворотке. Отсюда, учитывая объем плазмы, сердца и печени, можно рассчитать, что активность АсАТ в сыворотке удвоится, если из сердца высвободится всего лишь 0,15% общего количества фермента, а из печени - 0,03%. Таким образом, АсАТ - чувствительный показатель патологических изменений в сердце и печени.

Креатинфосфокиназа (КФК) (изофермент МВ) используется для диагностики инфаркта миокарда, поскольку повышение активности КФК в сыворотке крови в сочетании с болями в груди свидетельствует о повреждении клеток сердца, что характерно для инфаркта миокарда. Следует уточнить, что имеются и более чувствительные биомаркеры для диагностики инфаркта миокарда, как уже упомянутые выше тропонины [6].

Несмотря на отдельные недостатки, прогресс в использовании биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний несомненен. Известный скептицизм применения биомаркеров в этой области в настоящее время преодолен. Показано, например, что защитный эффект ингибиторов коэнзим-А-редуктазы может являться результатом противовоспалительных эффектов применяемых сердечных препаратов, поэтому С-реактивный белок, биомаркер воспаления, должен измеряться дополнительно к уровню холестерина. Успешно применяются тропонины для диагностики прединфарктного состояния, разработаны специфичные кардиочипы [10].

**2.3 Биомаркеры рака**

Рак можно рассматривать как нарушение клеточной дифференцировки, когда искажается программа воспроизведения клетки, вследствие чего образуются клетки с патологическим фенотипом. Степень отклонения от нормальной экспрессии генов легче всего выявить, анализируя первичные генетические продукты - белки. В этом плане представляют интерес изоферменты, как удобные для анализа продукты активности генов и специфические маркеры дифференцировки, особенно в сочетании с канцерофетальными антигенами - белками, которые содержатся в опухолях и эмбриональных тканях, но практически отсутствуют в тканях взрослых особей [3].

Термин «биомаркер», используемый для скрининга рака, в широком смысле может включать как показатели, тестируемые в сыворотке и моче (не инвазивные и доступные по цене), так и сложные, включающие иммунный ответ, изменения гормонов, а также анализ экспрессии генов на микрочипах, масс-спектрометрическое профилирование белков и количественный анализ уровня антител против специфичных антигенов рака. Появление новых методов анализа экспрессии генов, микрочипов, развитие иммунологии позволило предложить новые подходы для скрининга канцерогенеза на ранних стадиях [10].

В связи с увеличением числа случаев рака печени, вызванного, в основном, распространением гепатита С, возрастает необходимость в разработке тестов, помогающих диагностировать это опасное заболевание на ранних стадиях. Каждый год от 2 до 5% пациентов с циррозом печени постигает печальная участь развития гепатокарциномы. Для детекции опухоли, в основном, используется измерение изменения содержания сывороточных белков в крови или других жидкостях организма, чаще всего альфа-фетопротеина(AFP)[3].

К сожалению, данный биомаркер не отличается высокой специфичностью, его количество меняется при разных заболеваниях печени, к тому же у пациентов с малыми опухолями чаще всего отмечается отрицательный результат тестирования. Для мониторинга рецидивирующей гепатокарциномы после резекции успешно применяется анализ протромбина, индуцированного отсутствием витамина К, или антагонист II (PIVKA-II). Полученные результаты свидетельствуют, что PIVKA-II, как маркер карциномы печени, успешно дополняет AFP [15].

Медицинским Центром Израиля (BIDMC) предложен новый масс-спектрометрический метод на основе протеомного профилирования (SELDI-TOFMS), позволяющий более точно, чем традиционные биомаркеры, отделить пациентов cраком печени на ранней стадии от пациентов с циррозом печени, вызванным гепатитом С. Применение SELDI-TOFпрофилирования позволило значительно повысить специфичность, как по сравнению с AFP, так с другими биомаркерами рака печени - AFP-L3 и PIVKA-II [13].

Предпринята попытка разработать набор критериев (элементов базы данных) для ранжирования биомаркеров рака с целью стандартизации характеристик биомаркеров и создания соответствующей базы данных. Элементы рассматриваются как набор общих критериев, характеризующих все биомаркеры, используемые в литературе.

Характеристики биомаркеров включают общие и уникальные свойства, такие как биологическая природа, стадия/фаза изучения, чувствительность и специфичность, образ действия, оценка риска, статус валидации, метод и рекомендованные интервалы варьирования биомаркера. Специально отобранные свойства одного из специфичных биомаркеров-цитокинов, фактора, стимулирующего колонии макрофагов (M-CSF), используемого для диагностики рака яичников, легких, мозга, поджелудочной железы и прямой кишки, позволили предложить его в качестве модельного биомаркера [13].

Клинические исследования подтвердили преимущества M-CSFперед традиционными биомаркерамидетекции рака. Разработанные элементы стандартизации должны помочь созданию базы данных по биомаркерам рака, что облегчит выбор и применение соответствующего биомаркера в онкологии.Из более ранних разработок следует упомянуть кислую фосфатазу, представляющую собой сложный набор различных молекулярных форм, обусловленных множественностью генных локусов [13].

Этот фермент может использоваться в клинике для выявления метастазирующего рака предстательной железы: при наличии метастазов активность фермента в сыворотке выше, чем при их отсутствии. К сожалению, специфичность этого теста низка, поскольку кислая фосфатаза может высвобождаться из клеток разных типов, кроме того, активность фермента в сыворотке может повышаться сходным образом и при других заболеваниях костей. Однако изоферменты, высвобождающиеся из костной ткани и из клеток крови, отличаются от тех, которые свойственны предстательной железе и ее опухолям. Поэтому специфичность биомаркера можно улучшить, если активность фосфатазы определять в сыворотке в присутствии ингибиторов, избирательно воздействующих на различные изоферменты [17].

Некоторые биомаркеры, такие как простато-специфичный антиген (PSA) обладают высокой чувствительностью, но низкой специфичностью, поскольку характеризуют рак только как общий процесс. С помощью PSAв 60% случаев можно диагностировать рак до клиники. Из других литературных данных по биомаркерам рака предстательной железы отметим анализ панели потенциальных биомаркеров(SEB-surrogateendpointbiomarkers) малигнизации, включающих р53, цитоморфометрические показатели, erbB-2, erbB-3, EGF-рецешор, TGF- гликопротеин-72, синтазу жирных кислот и антиген YЛевиса. Результаты, полученные с помощью этих наборов, показали значительные различия в экспрессии биомаркеров, характеризующие простатическую неоплазию и рак простаты, и позволили провести мониторинг химиотерапии фенретинидом [10].

Биомаркеры могут служить инструментом в научных исследованиях по выяснению механизма канцерогенеза. Так, например, картирование области 13q14 13-ой хромосомы человека и выявление с помощью STS-маркеров нового гена-онкосупрессора способствовало пониманию молекулярных механизмов развития В-клеточного лимфолейкоза.

Современные методы геномики позволяют определить экспрессию генов и выявить патогенетические эффекты генных мутаций. Так, для анализа генной экспрессии и выявления предшественника лимфобластоидной лейкемии В применили микрочип AffimetrixU95A, содержащий 12 600 генов человека. Показали, что только 6 генов значительно отличаются по экспрессии и, следовательно, отвечают за сигнальные молекулы и транскрипционные факторы, участвующие в пролиферации клеток [3]. В таблице 1-2 приведен список некоторых биомаркеров, которые позволяют оценить состояние органов и систем человека в норме и при ряде патологических процессов.

Таблица 1. Связь неврологических и психических заболеваний с изменением экспрессии воспалительных медиаторов

|  |  |
| --- | --- |
| Заболевание | Медиаторы (маркеры) |
| Болезнь Альцгеймера | IL1, TNF-a, ILl-p, IL-6 |
| Церебральная ишемия | IL1, TNF-a, TNF-p, |
| Синдром Дауна | IL1 |
| Рассеянный склероз | TNF-a, адгезивные белки LFA-1, ICAM-1, FA-3, хемокиныMCP-1,-2,-3, GRO-a, MIP-1 aи -1 p. |
| Слабоумие | INF-a, TGF p 1 |
| Депрессия | ILl-p, IL-6, IFN-y, IL-lra, sIL-6r, TNF-a, IL-6, sIL-2r |
| Шизофрения | TNF-a, IL-6, повышение полиморфизма ILl-p, у пациентов, принимающих лекарства - IL2 и IFN-a |
| Бессоница | TNF-a, IL-6 |

Таблица 2.Биомаркеры некоторых патологических состояний

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Надпочечники | Анемия | состояние костей |
| АКТГ кортизол 11-дезоксикортизол 17-а-гидроксипрогестерон альдостерон | феррит н фолиевая кислота гаптоглобулинтрансферрнн витамин В12 | 25-гидроксивитамин D1-25-дигидроксивит. Dкальцитониностеокальцин |
| сердечно-сосудистая система | Диабет | воспалительные процессы |
| ангиотензин I ангиотензин II аполипопротеин А I аполипопротеинAQанолипонротеин В аполипопротеинЕ эндотелии I CRP(С реактивный белок) миоглобин ренин натрийуретический пептид гроионии I троионииТ тропой ИII С | С-пептид глюкагон инсулин микроальбумин глюкоза | цитокины интерлейкины гемопексин D-даймер TNF-a(фактор некроза опухоли, синоним - лимфотоксин В) M-CSF(фактор, стимулирующий колонии макрофагов) |
| репродуктивная система | Щитовидная железа | Почки |
| Андростандион андростендион д и гидротестостерон DHEA-S04- (дегидроэпиандростерон) тестостерон свободный тестостерон общий прогестерон пролактин эстрадиол | ТЗ свободный ТЗ общий Т4 свободный Т4 общий Тироглобулин TSH(тиреотропный гормон) TBG(тироксинсвязывающий глобулин) | цистатин С aGST коллаген IV альбумин в моче a-1 -микроглобулин в моче Р-2-микроглобулин в моче IgGв моче |

**2.4Хорионический гонадотропин как маркер трофобластической болезни и беременности**

Хорионический гонадотропин (ХГ) является наиболее совершенным маркером беременности и трофобластических опухолей. Вне этих состояний уровень ХГ очень низок, а при всех процессах, связанных с образованием трофобласта, содержание этого гормона в сыворотке и экскреция его с мочой значительно повышается [18]. Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) по своей химической структуре является гликопротеином с молекулярным весом около 46кДа, состоящим из двух различных субъединиц альфа и бета, связанных нековалентно друг с другом (рис. 2)[10].

Рис. 2 - Хорионический гонадотропин: α - субъединица и β-субъединица. Чёрточками показаны дисульфидные мостики,буквами N и О-Nи О-связанные олигосахариды

Нормальные значения ХГЧ у взрослых здоровых людей колеблются от 0 до 15 мМЕ/мл. Уровень ХГЧ растет с первых дней беременности, еще до прикрепления оплодотворенной яйцеклетки к стенке матки, но активная продукция ХГЧ обеспечивается синцитиотрофобластом и регистрируется сразу после имплантации [11]. В моче и крови беременных женщин присутствуют различные виды ХГЧ-деградированные, гипер- и гипо-гликозилированные молекулы, свободные субъединицы, большие субъединицы и их фрагменты. Основным маркером беременности является свободная βХГЧ.

В кровоток матери свободная βХГЧ поступает вследствие секреции клетками трофобласта, а также как один из продуктов распада ХГЧ [11, 12]. Расщепление ХГЧ связывают с плацентарными макрофагами, лейкоцитарная эластаза которых чувствительна к определенному строению длинной петли βХГЧ. В связи с этим появление свободной βХГЧ в крови может зависеть от количества или активности плацентаных макрофагов [3, 6]. Важное значение имеет исследование при беременности различных гликозилированных форм ХГЧ [16].

Показано, что появление в сыворотке того или иного типа гормона определяется тем, какие клетки доминируют на данном сроке беременности. В частности, в цитотрофобластах синтезируются более гликозилированные, а в синцитиотрофобласте менее гликозилированные формы ХГЧ [18]. Гипергликозилированный ХГЧ является доминирующей формой ХГЧ, продуцируемой в течение 2-й и 3-й недель от начала беременности (табл.3) [6].

Таблица 3. Структура различных ХГЧ молекул, определяемых в сыворотке и моче при беременности и трофобластической болезни и раке [18]

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Молекула ХГЧ | α-субъединица, полипептид | α-субъединица Nсвяз.олигосах. | β-субъединица, полипептид | β-субъединицаN-связ.олигосах. | β-субъединица О-связ. олигосах. |
| ХГЧ МВ 36,500 | 92 нерасщепл. Аминокислоты | 11(моносахариды + дисахариды) | 145 нерасщепл. аминокислоты | 11 дисахаридов +фукоза | 3 (трисахариды) |
| гХГЧ МВ 40,000 | 92 нерасщепл. Аминокислоты | 12 (моно и дисахариды + фукоза) | 145 нерасщепл. аминокислоты | 14трисахарида+ фукоза | б(гексасахариды) |
| Расщ.ХГЧ МВ 36,500 | 92 нерасщепл. Аминокислоты | 11 (моно и дисахариды) | 145 аминокислот, расщепл. в 47-48, в 43-44, или в 44-45 | 11 дисахаридов +фукоза | 3 (трисахариды) |
| ХГЧ без термин С пептида МВ 29,000 | 92 нерасщепл. Аминокислоты | 11 (моно и дисахариды) | 1-92 аминокислоты, С-терм. пептид отсутств. | 11 дисахаридов +фукоза | 3 (трисахариды) |
| Своб. β-субъед. МВ 22,000 | нетα-субъединицы | нет | 145 нерасщепл. аминокислоты | 11 дисахаридов +фукоза | 3 (трисахариды) |
| Расщепл. Своб. β-субъед. МВ 22,000 | нетα- субъединицы | нет | 145 аминокислот, расщепл. в 47-48, в 43-44, или в 44-45 | 11 дисахаридов +фукоза | 3 (трисахариды) |
| β-фрагмент (моча) МВ 9,500 | нет а субъединицы | нет | Два пептида в 6-40, связанных с в 55-92 | 3-5 олигосахаридов | нет |

Во время первой, второй, третьей и последующих недель беременности гипергликозилированный ХГЧ постепенно замещается нативным ХГЧ. Гликозилированный ХГЧ является информативным маркером угрозы прерывания беременности и преэклампсии,а также маркером трофобластической болезни, если не происходит его снижения после 3-й недели беременности [13].

Помимо ХГЧ плацента является источником образования гормонов и других биологически активных веществ, важных для нормального течения беременности и развития плода. В ней синтезируется прогестерон, соматомаммотропин (СМТ), или плацентарный лактоген, стимулирующий у беременных формирование секреторных отделов молочных желёз, тиреотропин (ТТГ), выделен фактор роста фибробластов - полипептид, стимулирующий размножение клеток мезодермального происхождения, трансферрин-белок, необходимый для размножения практически всех клеток, а также для переноса железа.

Одни и те же клетки париетальной и базальной частей децидуальной оболочки могут содержать пролактин и релаксин. В цитотрофобласте найден релаксин, а в синцитиотрофобласте- пролактин или плацентарный лактоген. Релаксин - гормон из семейства инсулинов, в течение беременности оказывает расслабляющее действие на миометрий, перед родами приводит к расширению маточного зева и повышению эластичности тканей лонного сочленения. Кортиколиберин, вероятно, определяет срок наступления родов [18].

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Выводы:

. Биомаркеры позволяют получить количественные параметры, которые служат для оценки состояния органов и систем и определить риски заболеваний

. Биомаркеры могут заменять клинические конечные показатели в решающих ситуациях, когда разрушительный клинический исход, такой как смерть, представляет собой этическую проблему.

. Биомаркеры широко применяются на первоначальных этапах оценки кандидата на лекарственное средство: исследованиях *invitro,*на культурах ткани, на моделях животных и ранней фазе клинических испытаний для доказательства концепции. Но они нашли и другое применение в детекции заболеваний и мониторинге состояния пациента, включающее следующие пункты:

· как диагностический инструмент для идентификации пациентов с заболеванием или отклонения от нормального состояния (например, контроль уровня глюкозы в крови);

· как инструмент установления заболевания (например, измерение антигена СА-125 для диагностики рака) или классификации степени заболевания (концентрация простато-специфичного антигена отражает степень роста опухоли или метастаз);

· как индикатор прогноза заболевания (например анатомическое измерение опухоли для предсказания некоторых видов рака);

· использование для предсказания и мониторинга клинического ответа на терапевтическое вмешательство (например, определение уровня холестерина и С-реактивного белка в мониторинге терапии сердечно-сосудистых заболеваний).

4. Молекулярная патология изучает молекулярные причины, приводящие к развитию болезни, и опирается на достижения патологической анатомии, молекулярной и клеточной биологии, генетики, использует арсенал биотехнологии и нанотехнологии. На стыке молекулярной патологии и эпидемиологии родилось направление молекулярно-патологическая эпидемиология.Она активно используется в популяционных исследованиях в онкологии и эпидемиологии инфекционных болезней.

. Подходы и результаты молекулярной эпидемиологии широко используются в превентивной медицине, в направлениях персонализированной медицины и вакцинологии; для поиска предикторов эффективности проведения дорогостоящих лечебных и профилактических мероприятий; в решении проблем персистентных вирусных инфекций, в молекулярнаой патофизиология инфекций; определении молекулярных мишеней и разработки и испытаниях средств таргетной терапии.

. В Беларуси, как и в других странах с высоким уровнем медицинской помощи и низкой неонатальной и перинатальной смертностью, организована система по скринингу и выявлению целого ряда наследственных заболеваний, начиная с пренатального периода развития. В Республике функционируют организации по оказанию медико-генетической помощи населению, разработке и внедрению новых методов диагностики, и совершенствованию медико-генетического консультирования, выполнению научных исследований по изучению наследственной и врожденной патологии. На всех этапах проведения лабораторных исследований используются современные достижения молекулярной биологии и генетики, применяются технологии на основе биомаркеров, широко проводятся молекулярноэпидемиологические исследования.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Артемчик, Т.А. Клинико-лабораторные характеристики врожденной цитомегаловирусной инфекции в неонатальном периоде / Т.А. Артемчик, И.М. Крастелева // Мед. журн. - 2014. - № 1. - С. 135 - 138.

. Березин, А.Е.Клиническое и прогностическое значение биологических маркеровв стратификации пациентов с кардиоваскулярными заболеваниями / А.Е. Березин // Врачебная практика. - 2010. - № 6. - С. 80 - 82.

. Бохман, Я.В. Руководство по онкогинекологии / Я.В. Бохман. - М.: Медицина, 2007. - 464 с.

4. Ветчинкина, Ю.В. Поиск биомаркеров церебральной гипоксии у новорожденных / Ю.В. Ветчинкина, А.П. Скоромец // Известия Коми научного центра УрО РАН. - №1. - 2013. - С. 14 - 16.

. Жербун, А.Б. Молекулярная, геномная, метагеномная эпидемиология: перспективы / А.Б. Жебрун // Инфекция и иммунитет. - 2013. - Т. 3, № 2. - С. 105 - 106.

. Ипатова, О. П. Трансляционная медицина - путь от фундаментальной биомедицинской науки в здравоохранение / О.П. Ипатова // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2012. - № 6. - С. 57 - 65.

. Магницкая, О. В. Определение метаболического отношения N-деметили- вабрадин/ивабрадин для оценки активности CYP3A4 / О.В. Магницкая, А.В. Кузнецов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2013. - № 3. - С. 51 - 54.

. Манак, Н.А. Персонализированная и трансляционная медицина: новые подходы к лечению / Н.А. Манак // Здравоохранение. - №9. - 2014. - С. 16 - 19.

. Мирошниченко, И.И. Биомаркерное значение болезни / И.И, Мирошниченко // Клин. Фармакокинетика. - №2. - 2015. - С. 35 - 39.

. Мирошниченко, И.И. Биомаркеры в современной медико-биологической практике / И.И. Мирошниченко, С.И, Птицина // Биомедицинская химия. - 2009. - №4. - С. 425 - 440.

. Ничаева, И.Д.Трофобластическая болезнь / И.Д. Ничаева. - М.: Медицина, 2006. - 160 с.

. Поляков, А.В. Молекулярная эпидемиология наследственной патологии в популяциях / А.В. Поляков // Медицинская генетика. - 2016. - №5. - С. 6 - 9.

13. Садвакас, А.ССовременные концепции идеальных биомаркеров в медицине // Современная медицина: актуальные вопросы. - №5. - 2014. - С. 22 - 25.

. Супоницкая, Е.В. Клиническое значение BAFF/BLyS и APRIL при системной красной волчанке и ревматоидном артрите / Е.В. Супоницкая // Научно-практическая ревматология. - 2014. - №5. - С. 545 - 552.

15. Сычев, Д. А. Фармакогенетические технологии персонализированной медицины: оптимизация применения лекарственных средств / Д.А. Сычев // TerraMedica. - 2011. - № 1. - С. 4 - 9.

16. Ткачев, М.С. Биомаркеры в современной медико-биологической практике / М.С. Ткачев // Биомедицинская химия. - 2009. - №4. - С. 425 - 440.

. Фергюсон, М.А. Биомаркеры при различных формах патологии / М.А. Фергюсон // Клиническая лабораторная диагностика. - № 11. - 2013. - С. 19 - 21.

18. Цырлина, Е.В. Хорионический гонадотропин как маркер трофобластической болезни / Е.В. Цырлина, Т.Е. Порошина // Практическая онкология. - № 3. - 2008. - С. 27 - 29.

. Шишимиров, И.Н. Персонализированная медицина: эволюция методологии и проблемы практического внедрения / И.Н. Шишимиров // Вестник волгГМУ. - 2016. - №7. - С. 25 - 27.

. Современное состояние здоровья детей: сборник материалов IV региональной научно-практической конференции с международным участием : (14-15 апреля 2016 года) [Электронный ресурс] / Н. С. Парамонова (отв. ред.). - Гродно: ГрГМУ, 2016.

21. Ogino, S. Molecular pathological epidemiology of epigenetics: emerging integrative science to analyze environment, host, and disease // Mod Pathol. - 2013. -№26. - Р. 465 - 484.

. Slattery, M.L. The science and art of molecular epidemiology // Journal of Epidemiology and Community Health. - 2002. - №10. - Р. 728 - 729.

. Slattery, M.L. The science and art of molecular epidemiology // Journal of Epidemiology and Community Health. - 2002. - №10. - Р. 728 - 729.

. Harris TJ, McCormick F (2010). "The molecular pathology of cancer". *Nat Rev ClinOncol*. **7** (5): 251-265.

. Ogino S, Stampfer M. Lifestyle factors and microsatellite instability in colorectal cancer: The evolving field of molecular pathological epidemiology. J Natl Cancer Inst 2010; 102: 365-7.

. Ogino S, Chan AT, Fuchs CS, Giovannucci E. Molecular pathological epidemiology of colorectal neoplasia: an emerging transdisciplinary and interdisciplinary field. *Gut* 2011; 60: 397-411.