

24. Falk M., Kelstrup M., Andersen J.B. et al. Improving the ketchup bottle method with positive expiratory pressure, PEP, in cystic fibrosis. Eur. J. Respir. Dis. 1984; 65: 423—432.
25. van der Schans C.P., van der Mark T.W., de Vries G. et al. Effect of positive expiratory pressure breathing in patients with cystic fibrosis. Thorax 1991; 46: 252—256.
26. McIlwaine P.M., Wong L.T., Peacock D. et al. Long-term comparative trial of conventional postural drainage and percussion versus positive expiratory pressure physiotherapy in the treatment of cystic fibrosis. J. Pediatr. 1997; 131: 570—574.
27. Oberwaldner B., Evans I.C., Zach M.S. Forced expirations against a variable resistance: a new chest physiotherapy method in cystic fibrosis. Pediatr. Pulmonol. 1986; 2: 358—367.
28. Prasad S.A., Main E. Finding evidence to support airway clearance techniques. Disabil. & Rehabil. 1998; 20 (6/7): 235—246.
29. Dodd M.E., Haworth C.S., Webb A.K. A practical approach to oxygen therapy in cystic fibrosis. J. Roy. Soc. Med. 1998; 91 (suppl.134): 30—39.
30. Selvadurai H.C., Van Asperen P.P., Cooper P.J. et al. A randomised controlled study of in-hospital exercise training programs in children with cystic fibrosis(CF). Pediatr. Pulmonol. 1999; suppl. 19: A433.
31. Bradley J.M., Howard J.L., Wallace E.S., Elborn J.S. The validity of a modified shuttle test in adult cystic fibrosis. Thorax 1999; 54: 437—439.
32. Balfour-Lynn I.M., Prasad SA, Laverty A. et al. A step in the right direction: Assessing exercise tolerance in cystic fibrosis. Pediatr. Pulmonol. 1998; 25: 278—284.
33. Gulman V.A.M., van Veldhoven N.H.M.J., de Meer K. et al. The six-minute walking test in children with cystic fibrosis: reliability and validity. Ibid. 1996; 22: 85—89.

Поступила 26.06.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК [616.24-003.4-004]-056.7

L.Romano¹, N.Kapranov², N.Kashirskaya², O.Zegarra-Moran³, L.J.V.Galietta³

КОРРЕЛЯЦИЯ ГЕНОТИПА С ФЕНОТИПОМ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ

¹ Cystic Fibrosis Centre — Gaslini Institute, Genoa (Italy);

² Научно-клинический отдел муковисцидоза МГНЦ РАМН, Москва (Россия);

³ Molecular Genetics Laboratory — Gaslini Institute, Genoa (Italy)

Муковисцидоз (МВ) — наиболее частое летальное наследственное заболевание кавказской популяции [1]. Ген, связанный с развитием МВ, был охарактеризован в 1989 г. [2—4]. Это большой ген, состоящий из 27 кодирующих регионов (экзонов), разграниченных не кодирующими участками (интронами), различной длины. Ген кодирует муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости (*Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* — *CFTR*), белок, находящийся в апикальной мембране секреторного эпителия, который функционирует, как АТФ-зависимый хлорный канал. Мутации муковисцидозсвязанного гена (*Cftr-ген*) реализуются недостаточной активностью *CFTR*, что приводит к аномальным концентрациям хлоридов в апикальной мембране эпителиальных клеток бронхолегочной системы, поджелудочной железы, протоков потовых желез, тонкого кишечника и семенного канатика. Вследствие указанных изменений развиваются прогрессирующее заболевание легких, дисфункция поджелудочной железы, повышается уровень электролитов в потовом секрете и формируется мужское бесплодие.

CFTR-белок, состоящий из 1480 аминокислотных остатков, сгруппированных в 2 повторяющихся мотива, разделенных большой цепью под названием “регуляторный домен” (*R*-домен). Каждый из этих двух мотивов состоит из 6 полипептидных последовательностей, которые распределены вдоль клеточной мембраны, за ними следует часть белка, который отвечает за взаи-

модействие с АТФ. 12 мембраносвязывающих доменов прилегают друг к другу и таким образом создают пару в клеточной мембране, в то время как *R*-домен и 2 нуклеотида, связывающих петли, остаются с внутренней стороны клеточной мембраны. Предполагаемая структура белка изображена на рис.1.

Клинические характеристики МВ, включая симптоматику, тяжесть и скорость прогрессирования поражения вовлеченных в заболевание органов, число и типы поражаемых органов, могут варьировать в широких пределах. На основании связанных с МВ симптомов у большинства пациентов диагноз заболевания устанавливается в первые годы жизни, хотя постепенно растет число пациентов с мягкими (“атипичными”)

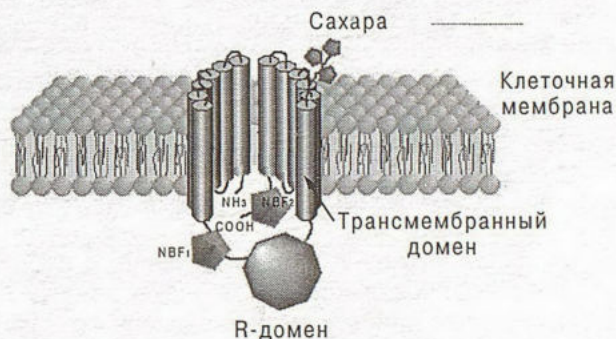


Рис.1. Предполагаемая конфигурация *CFTR* как мембранного канала для транспорта ионов хлора.

Распределение мутаций по молекулярному механизму повреждения МВТР

Класс мутаций	"Тяжелые"	"Мягкие"
I класс — нарушение продукции белка	G542X R553X 3905insT W1282X	
II класс — нарушение процессинга	ΔF508 ΔI507 N1303K	
III класс — нарушение регуляции	G551D	G551S
IV класс — нарушение транспорта ионов хлора		R374P R117H T338I
V класс — снижение синтеза нормально функционирующего белка		3849+10Kb C-T IVS 8-5T

Примечание. "Тяжелые" мутации — вызывающие недостаточность поджелудочной железы и "мягкие" мутации — без панкреатической недостаточности. "Мягкие" мутации всегда доминируют над "тяжелыми".

белка после его встраивания в апикальную мембрану. Замена аминокислот, происходящая в домене *NBFX* (таких, как G551D, G551S), допускает синтез *CFTR*, его внутриклеточный процессинг и присоединение *CFTR* к апикальной мембране, но нарушает взаимодействие *CFTR* с АТФ и затрудняет активацию каналов; класс IV — нарушение транспорта ионов хлора. Замещенные аминокислоты в *MS*-доменах нарушают аффинитет каналов к ионам хлора и их транспортную активность; класс V — снижение синтеза нормально функционирующего белка. Процессы синтеза, процессинга и миграции *CFTR* в апикальную мембрану, а также его активность в апикальной мембране остаются нормальными, однако количество белка катастрофически уменьшается. Дефект сплайсинга обычно связан с интронными мутациями. Эти мутации довольно своеобразны, так как активность *CFTR* сохраняется в широких пределах. При исследовании указанных мутаций были получены важные данные, способствующие пониманию роли *CFTR* в различных тканях.

Очевидно, что мутации класса I и II, сопровождающиеся выраженным дефицитом *CFTR*, связаны с наиболее тяжелыми проявлениями заболевания, тогда как мутации класса IV и V, приводящие лишь к частичным нарушениям активности *CFTR*, ассоциируются с более легкими формами МВ. Тем не менее, поскольку МВ характеризуется полиморфизмом клинических проявлений, представляется целесообразным оценивать генотип/фенотип корреляции на уровне отдельного органа.

Недостаточность функции поджелудочной железы

Хотя патология поджелудочной железы — типичный признак МВ практически у всех пациентов с этим

формами МВ, которые диагностируются в зрелом возрасте. Нарушения экзокринной функции поджелудочной железы обнаруживают существенные индивидуальные различия, причем у 10 — 15% больных МВ отчетливых клинических признаков мальдигестии вообще не регистрируется. Дыхательная недостаточность, связанная с прогрессирующим поражением легких, является наиболее частой причиной смертности больных МВ. Однако клинические проявления и тяжесть поражения бронхолегочной системы широко варьируют в зависимости от возраста пациентов с МВ [5—7].

Почти все больные МВ мужского пола становятся бесплодными из-за билатерального отсутствия семенных канатиков. Предполагается, что патогенетическими факторами отсутствия семенных канатиков являются хроническая обструкция, фиброз и дегенерация этих органов. Интересно отметить, что примерно у 3% мужчин с азооспермией бесплодие связано с врожденным билатеральным отсутствием семявыносящих протоков (*Congenital bilateral absence of the vas deferens — CBAVD*) — поражением, которое ранее не имело объяснения. Анализ ДНК больных с *CBAVD* выявляет высокую частоту *CFTR*-мутаций, что позволяет предполагать связь с МВ. Частыми клиническими проявлениями МВ у больных с *CBAVD* являются умеренно выраженные поражения бронхолегочной системы и повышение уровня электролитов пота, тогда как гастроинтестинальные нарушения не выявляются. Эти данные подтверждают предположение о том, что *CBAVD* относится к легким формам МВ [8—12].

По данным, представленным в *Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium* [13], после выделения *CFTR*-гена в 1989 г. было зарегистрировано более 900 мутаций, причем их число неуклонно растет. Установлено, что все варианты выделенных мутаций (нонсенс, миссенс, мутация сайта сплайсинга, мутация сдвига рамки, делеция, инсерция) являются причинными факторами развития МВ. Отдельные мутации характеризуются высокой распространенностью в определенных популяциях, однако большинство мутаций встречаются редко. Исследования по изучению генотип/фенотип корреляций могут быть оптимизированы с учетом молекулярных механизмов недостаточности белковой активности, включающих: класс I — блок синтеза белка. Нонсенс-мутации, мутации сдвига рамки и крупные делеции приводят к формированию усеченной или полностью аномальной полипептидной цепи, нестабильной и быстро деградирующей. В результате белок вообще не синтезируется; класс II — блок процессинга белка. Прежде чем синтезированный *CFTR* мигрирует в апикальную мембрану эпителиальных клеток, он подвергается контролю на качество и гликозилированию. Как наиболее частая (ΔF508), так и более редкие мутации сопровождаются синтезом почти полноценного *CFTR*, но не позволяют мутировавшему *CFTR* пройти внутриклеточный контроль и подвергнуться внутриклеточному процессингу. Мутировавший *CFTR* блокируется в аппарате Гольджи и остается практически полностью недоступным для апикальной мембраны; класс III — нарушение функции

заболеванием, 10 — 15% больных МВ не нуждаются в заместительной панкреатической терапии, т.е. у них состояние поджелудочной железы определяется как “без панкреатической недостаточности”. Конкордантность состояния панкреатической функции в семьях, установленная еще до клонирования *CFTR*-гена [14], позволяет предполагать, что на панкреатическом уровне проявления заболевания определяются генетическими факторами. В результате анализа гаплотипов было обнаружено, что различные мутации связаны с разным панкреатическим статусом [15,16]. В дальнейшем в исследовании молекулярных механизмов дефицитарности *CFTR* было показано, что мутации, при которых активность *CFTR* частично сохраняется, не приводят к панкреатической недостаточности (см. таблицу). Эти мутации обычно обозначают как “мягкие мутации” и дифференцируют от “тяжелых мутаций”, которые приводят к недостаточности функции поджелудочной железы. “Мягкие мутации” перекрывают действие “тяжелых мутаций”. Хотя пациенты с “мягкими мутациями” наряду с сохраненной панкреатической функцией характеризуются менее высокими уровнями хлоридов пота и более поздней клинической манифестацией заболевания, термины “мягкие” и “тяжелые” мутации относятся только к оценке панкреатического статуса и не имеют значения для определения клинического прогноза у каждого конкретного пациента.

Концентрация электролитов пота

Повышение концентрации электролитов пота — эталонный критерий диагностики МВ. До сих пор в большинстве случаев диагноз МВ устанавливается на основании позитивных результатов одного и более потовых тестов. Идентификации мутаций *CFTR*-гена позволяют подтвердить диагноз МВ у многих пациентов с атипичными (как правило, легкими) клиническими проявлениями и пограничными уровнями электролитов пота. На сегодняшний день очевидно, что некоторые мутации часто сопровождаются пограничными или даже нормальными концентрациями хлоридов пота (G551S, 2789+5G-A, 3849+10kb C-T, P67L, R117H, L206W, D1152H, A455E, R334W). Следовательно, генетический анализ показан пациентам с симптоматикой, вызывающей подозрение на МВ, даже при отрицательных результатах потовых проб. В таких случаях рекомендуется целенаправленный поиск мутаций, которые не сопровождаются отчетливым повышением электролитов пота.

Бронхолегочное поражение

Уровень и скорость прогрессирования бронхолегочного поражения являются наиболее информативными прогностическими факторами МВ. При моногенных заболеваниях, к которым предположительно относится МВ, фенотипический полиморфизм объясняется генетической гетерогенностью. Как уже упоминалось, при оценке панкреатического статуса мутации могут классифицироваться как “тяжелые” и “мягкие”. Однако, несмотря на то что больные с “тяжелыми” мутациями

обнаруживают более высокие концентрации хлоридов пота, более ранний возраст манифестации заболевания, более тяжелые нарушения нутритивного статуса чаще осложняются мекониальным илеусом в сравнении с “мягкими” мутациями, тяжесть бронхолегочного поражения по данным функциональных тестов, радиологических индексов и частоты колонизации *Pseudomonas aeruginosa* варьирует в значительной степени независимо от “тяжести” мутации. Более того, тяжесть бронхолегочного поражения может также варьировать и среди пациентов с одинаковым генотипом. Следовательно, генетическая гетерогенность не относится к факторам, определяющим клиническую неоднородность на бронхолегочном уровне [17,18]. Причины такого выраженного полиморфизма при одинаковых генотипах и, следовательно, сходных прогнозируемых уровнях дефекта *CFTR* пока не получили полного объяснения. Действительно, если патогенез панкреатической недостаточности и в меньшей степени повышение концентрации электролитов пота достаточно простой (снижение водно-бикарбонатного потока и энзимной преципитации в просвете, приводящих к обструкции и, как следствие к панкреатической недостаточности; снижение реабсорбции электролитов в протоках потовых желез, приводящее к повышению концентрации электролитов пота), то патогенез бронхолегочного поражения представляется намного более сложным процессом, включающим множество различных факторов: от особенностей структуры *CFTR* и его взаимодействия с другими мембранными электролитными каналами до взаимодействия поселяющегося микроорганизма с организмом хозяина, от факторов воспаления до соблюдения пациентами предписанного режима терапии.

Молекулярные механизмы полиморфизма заболевания

Известно, что некоторые генетические механизмы, как первичные (коррекция, сплайсинг, компенсация), так и вторичные, модулируют эффекты генных мутаций. Выраженный полиморфизм клинических проявлений МВ, возможно, связан с различными механизмами, каждый из которых может иметь разное значение в каждом конкретном случае.

Главный модулирующий механизм реализуется дополнительными изменениями в *CFTR*. Примером частичной коррекции может служить сочетание $\Delta F508$ -и R553Q-мутаций: у пациентов с двумя указанными мутациями в одном аллеле обнаруживаются менее высокие (или даже нормальные) концентрации хлоридов пота и более легкие проявления заболевания. Считается, что мутация R553Q у больных с мутацией $\Delta F508$ способствует прохождению мутировавшего *CFTR* внутриклеточного контроля качества. Соответственно, происходит процессинг и миграция белка в клеточную мембрану. В случае корректного позиционирования в клеточной мембране $\Delta F508$ *CFTR* обнаруживает частичную активность в каналах.

Ряд других аминокислотных остатков имеют критическое значение для внутриклеточного процессинга

CFTR. Можно предположить, что небольшие изменения в этих аминокислотных остатках способны влиять и, вероятно, поддерживать синтез $\Delta F508$ -*CFTR*. Такое предположение может подтвердиться и в отношении других мутаций класса II, связанных с нарушениями внутриклеточного процессинга белка.

Особый интерес представляют случаи с влиянием факторов сплайсинга на проявления заболевания. Известно, что некоторые мутации, включая класс V, влияют на корректный сплайсинг *CFTR*-*mRNA*. Такие мутации обычно относят к “мягким”, так как нормальный синтез *CFTR*, как правило, частично сохраняется. Аномальный сплайсинг на сниженном уровне — обычное явление в нормальных условиях, пока не получившее объяснения. Полиморфные аллели, влияющие на сплайсинг *CFTR*-*mRNA*, могут видоизменять фенотипические эффекты “мягких” мутаций *CFTR*. Полиморфизм 8-го интрона — один из вариантов влияния на сплайсинг. Число тиминовых остатков в акцепторной области интрона может составлять 5, 7 или 9: чем выше число тиминовых остатков, тем выше уровень нормального сплайсинга. При наличии аллеля 5Т частота нормального сплайсинга низкая (около 10%), тогда как большая часть происходящего сплайсинга приводит к вырезанию 9-го экзона. Можно предполагать, что фенотипические последствия “мягкой” мутации, обнаруженной в сочетании с аллелем 5Т, будут более тяжелыми, так как частично функционирующий мутировавший *CFTR* будет транслироваться на более низком уровне. Например, генотип $\Delta F508/R117H$ будет связан с “мягким” МВ (т.е. без панкреатической недостаточности), если R117H сочетается с аллелью 5Т либо с *CBAVD*, если R117H — с аллелями 7Т или 9Т [1]. Сходные варианты могут встречаться и при других мутациях класса III или IV.

Альтернативный сплайсинг представляет собой сложный регуляторный механизм, включающий различные факторы. Интрон-8-поли-Т-полиморфизм — пример варибельности консенсусной сплайсинговой после-



Рис.2. Уровни нормальных и мутировавших *CFTR*-транскриптов в назальном эпителии больных МВ, носителей мутации 3849+10Kb(C-T) (адаптировано из статьи *O.Chiba-Falek* и соавт. [20]).

довательности. Варибельность альтернативного сплайсинга может быть связана с трансактивными факторами, такими как белки, вовлеченные в регуляцию сплайсинга. Варианты аллелей в генах, кодирующих подобные факторы, могут также участвовать в модификации эффективности альтернативного сплайсинга у различных пациентов. Тем не менее, альтернативный сплайсинг — очень динамичный механизм, по разному протекающий в различных тканях. Вероятную варибельность альтернативного сплайсинга необходимо рассматривать на уровне одной ткани. По результатам применения количественных методов оценки сплайсинга в различных тканях, полученных от МВ эмбрионов, относящихся к компаунд-гетерозиготам по $\Delta F508$ - и 3849+10Kb(C-T)-мутациям, дефект сплайсинга коррелирует со степенью поражения органа [19]. Эти данные отражают прямые корреляции между поражением на уровне органа и синтезом активного *CFTR*, которые могут подтверждаться и на уровне дыхательной системы.

В количественных исследованиях *CFTR*-*mRNA* в назальном эпителии группы больных МВ, носителей 3849+10Kb(C-T)-сплайс-мутации установлены достоверные корреляции между уровнем нормальной транскрипции и легочной функции, по показателям ОФВ₁ в % от нормы (рис.2) [20].

Возможная роль резидуальной активности *CFTR* в определении болезненных проявлений была показана в ранних электрофизиологических исследованиях, выполненных на материале ректальной биопсии [21]. Ионная проводимость измерялась в камере Юссига (*Ussig chamber*) с применением карбахола для активации *CFTR*: секреция хлоридов, индуцированная карбахолом, варьировала в зависимости от различий в генотипах. Высокий уровень реакции на карбахол коррелировал с поздней манифестацией заболевания, которая обычно ассоциируется с легким уровнем или отсроченным развитием симптоматики при отсутствии признаков панкреатической недостаточности. Недавно сходные результаты были получены при оценке резидуальной активности *CFTR* в дыхательном эпителии по измерениям разности назальных потенциалов (*Nasal potential difference* — *NPD*). Реакция на перфузию раствора амилорида, хлорида низкой концентрации и изопrenalина в слизистую носа была более выраженной у пациентов — носителей “мягкой” мутации. Интересно отметить, что после разделения пациентов на 2 группы в соответствии с реакцией на перфузию раствора изопrenalина независимо от генотипа были установлены статистически достоверные различия между группами по показателям бронхолегочного статуса: у пациентов с реакцией на изопrenalин (т.е. больные с резидуальной активностью *CFTR*) клинический статус был лучше по показателям ОФВ₁ и рентгенологическому индексу грудной клетки [22].

Для того чтобы определить, можно ли оценивать резидуальную активность *CFTR* у пациентов с “тяжелыми” мутациями, мы измеряли реакцию на изопrenalин в группе больных МВ, гомозигот по $\Delta F508$ -мутации. Полученные результаты свидетельствуют о хороших положительных корреляциях между легочной

функцией и секрецией хлоридов в ответ на изопреналин у пациентов со сходным генотипом [23]. По нашим данным, резидуальную активность *CFTR* можно определить у ряда пациентов с “тяжелыми” мутациями. Мы также установили, что бронхолегочное поражение прогрессирует медленнее у пациентов, обнаруживающих резидуальную активность *CFTR* в респираторном эпителии. Полученные результаты представляются очень важными. Если полученные данные будут подтверждены на выборках большего объема, реакция *NPD* на изопреналин станет первым прогностическим тестом для оценки МВ.

Можно предполагать, что наряду с резидуальной активностью *CFTR* существуют и другие факторы, влияющие на клинические проявления МВ. МВ является комплексным заболеванием, многие патогенетические аспекты которого остаются неуточненными. Как и в случае любого другого комплексного заболевания, мы должны учитывать другие мощные генетические и, возможно, не генетические факторы, влияющие на проявления МВ. В целом, чем больше физиопатологических этапов в развитии заболевания, тем выше вероятность генетической модуляции. В соответствии с современным уровнем знаний мы можем считать, что *CFTR* имеет статус главного патогенетического фактора для панкреатической недостаточности, но не является таковым для бронхолегочного поражения: предполагается, что полиморфные аллели в других генах, например генах, кодирующих факторы воспаления, могут изменять поражение органа вследствие влияния на воспалительную реакцию.

Гены-модификаторы

Выполнена оценка ряда предполагаемых кандидатных факторов модификации. В нескольких публикациях сообщается о влиянии полиморфных факторов воспаления. Важные данные были получены в исследовании с мутантными мышами. “Нокаутные” мыши характеризуются сниженным уровнем выживаемости вследствие интестинальной обструкции сразу после рождения. Однако в результате тщательной оценки мутантных мышей было показано, что животные погибают в разном возрасте. Были выделены 3 группы мышей. Животные класса I погибали в первые дни жизни, класса II — к моменту отлучения от кормления материнским молоком, тогда как мыши класса III жили дольше. Установлена генетическая детерминированность выживаемости. При анализе сцепленности выявлен локус модификации, картированный в проксимальном регионе 7-й хромосомы мыши, ответственной за фатальное гастроинтестинальное поражение у мутантных мышей. Регион, в котором картирован ген-модификатор, соответствует длинному плечу 19-й хромосомы человека.

Вслед за наблюдениями за мышами было проведено большое совместное исследование человека на материале 185 sibлинговых пар, конкордантных или дискордантных по мекониальному илеусу. Выявленный генетический модификатор, связанный с мекониальным илеусом, картирован в длинном плече 19-й хромосомы и соответственно сопоставим с модификатором, обна-

руженным у мышей [24]. На сегодняшний день явного кандидатного гена в указанном регионе, связанного с мекониальным илеусом, не выявлено. Данный регион достаточно большой и содержит около 140 генов, большинство из которых не идентифицированы.

Необходимы большие исследования для определения локализации гена-модификатора 1 МВ (*CF Modifier gene 1, CFMI*), которые позволят провести систематический анализ кандидатных генов. Можно сказать, что “сезон охоты” на гены-модификаторы МВ официально открыт.

Заключение

Научные достижения в течение последних лет привели к революционным изменениям в наших знаниях, диагностике и терапии. Наряду с новыми терапевтическими перспективами, молекулярная медицина обеспечивает возможность ДНК-диагностики наследственных заболеваний. Изучение генотип/фенотип корреляций при различных расстройствах продолжается. Углубление знаний о взаимосвязи генотипа и фенотипа в рамках наследственных заболеваний сопряжено с новой информацией о физиологии и нормальной функции дефектных белков, открывающей путь к излечению. МВ не является исключением: несмотря на значительный прогресс после выделения *Cftr*-гена, многие патогенетические этапы заболевания остаются неуточненными, а собственно функции *CFTR* окончательно не установлены. Следовательно, дальнейшие исследования генотип/фенотип корреляций при МВ помогут понять патогенез этого заболевания. В соответствии с современными знаниями о МВ установленные границы между моногенным и полигенным заболеванием не всегда оказываются такими отчетливыми, как ожидалось. Дополнительные данные о механизмах формирования дефектного белка позволят улучшить и оптимизировать диагностику, а также разработать методы адекватной индивидуальной терапии. Уже сегодня благодаря уточнению знаний о генотип/фенотип корреляциях стало возможным исчерпывающее генетическое консультирование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Welsh M.J., Tsui L.-C., Boat T.F., Beaudet A.L. Cystic fibrosis. In: Scriver C.L. et al., eds. *The Metabolic basis of inherited disease*. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 1995. 3799—3876.
2. Rommens J.M., Iannuzzi M.C., Kerem B. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 245: 1059—1065.
3. Riordan J.R., Rommens J.M., Kerem B. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. *Ibid.* 1066—1072.
4. Kerem B., Rommens J.M., Buchanan J.A. Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic analysis. *Ibid.* 245: 1073—1080.
5. Gaskin K.J., Gurwitz D., Durie P. et al. Improved respiratory prognosis in patients with cystic fibrosis with normal fat absorption. *J. Pediatr.* 1982; 100: 857—862.
6. Gaskin K.J., Durie P.R., Lee L. et al. Colipase and lipase secretion in childhood-onset pancreatic insufficiency: delineation of patients with steatorrhea secondary to relative colipase deficiency. *Gastroenterology* 1984; 86: 1—7.

7. Corey M., Gaskin K.J., Durie P. et al. Improved prognosis in patients with normal fat absorption. *J. Pediatr. Gastroenterol.* 3. 1984; (suppl.1): S99—S105.
8. Anguiano A., Oates R.D., Amos J.A. et al. Congenital bilateral absence of the vas deferens: a primary genital form of cystic fibrosis. *J.A.M.A.* 1992; 267: 1794—1797.
9. Osborne L.R., Lynch M., Middleton P.G. et al. Nasal epithelial ion transport an genetic analysis in infertile men with congenital absence of the vas deferens. *Hum. Mol. Genet.* 1993; 2: 1605—1609.
10. Oates R.D., Amos J.A. The genetic basis of congenital absence of the vas deferens and cystic fibrosis. *J. Androl.* 1994; 15: 1—8.
11. Chillon M., Casals T., Mercier B. et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 1475—1480.
12. Mercier B., Verlingue C., Lissens W. et al. Is congenital bilateral absence of the vas deferens a primary form of cystic fibrosis? Analyses of the Cfr gene in 67 patients. *Am. J. Hum. Genet.* 1995; 56: 272—277.
13. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cfr>.
14. Corey M., Durie P., Moore D. et al. Familial concordance of pancreatic status in cystic fibrosis. *J. Pediatr.* 1989; 115: 274—277.
15. Kerem B., Buchanan J.A., Durie P. et al. DNA marker haplotype association with pancreatic sufficiency in cystic fibrosis. *Am. J. Hum. Genet.* 1989; 44: 827—834.
16. Ferrari M., Antonelli M., Bellini F. et al. Genetic differences in cystic fibrosis patients with and without pancreatic insufficiency. *Hum. Genet.* 1990; 84: 435—438.
17. Kerem E., Corey M., Kerem B. et al. The relationship between genotype and phenotype in cystic fibrosis: analysis of the most common mutation (DF508). *N. Engl. J. Med.* 1990; 323: 1517—1522.
18. The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *Ibid.* 1993; 329: 1308—1313.
19. Chiba-Falek O., Parad R.B., Kerem E., Kerem B. Variable levels of normal RNA in different fetal organs carrying a cystic fibrosis transmembrane conductance regulator splicing mutation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 159: 1998—2002.
20. Chiba-Falek O., Kerem E., Shoshani T. et al. The molecular basis of disease variability among cystic fibrosis patients carrying the 3849+10 kb C→T mutation. *Genomics* 1998; 53: 276—283.
21. Veeze H.J., Halley D.J., Bijman J. et al. Determinants of mild clinical symptoms in cystic fibrosis patients. Residual chloride secretion measured in rectal biopsies in relation to the genotype. *J. Clin. Invest.* 1994; 93: 461—466.
22. Ho L.P., Samways J.M., Porteous D.J. et al. Correlation between nasal potential difference measurements, genotype and clinical condition in patients with cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 1997; 10: 2018—2022.
23. Zielenski J., Corey M., Rozmahel R. et al. Detection of a cystic fibrosis modifier locus for meconium ileus on human chromosome 19q13. *Nat. Genet.* 1999; 22: 128—129.

Поступила 25.06.01

© RUDMANN M.A., 2001

УДК 615.361.37.03(091)

M.A. Rudmann

100 ЛЕТ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ; ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ ПРЕПАРАТА PANKREON® (ПАНКРЕОН®)

Отдел международного сотрудничества, Solvay Pharmaceuticals GmbH, Hannover, Germany

Группа фармацевтических компаний “Solvay” с гордостью отмечает 100-летний юбилей начала разработки и производства ферментных препаратов поджелудочной железы *Pankreon®* и *Creon®*.

Два химика *Franz Thomas* и *Wilhelm Weber* разработали технологию производства кислотоустойчивого препарата “панкреатин”. Их приоритет был закреплен патентом, действительным с 22 апреля 1900 г. Ученые работали в небольшой компании “*Chemische Fabrik Rhénania AG*” в Аахене (Германия), имевшей некоторый опыт в производстве панкреатина из поджелудочной железы свиней с 1897 г. Согласно описанию изобретения к патенту № 128419, первый кислотоустойчивый препарат фермента поджелудочной железы Панкреон® получили путем специальной обработки смеси панкреатина с танином.

Сегодня завод выпускает продукцию, экспортируемую в 70 стран мира, и работает в полном соответствии с международными стандартами производства (GMP), что удовлетворяет различные надзорные органы, например Управление по санитарному надзору за

качеством медикаментов и продуктов питания США (FDA).

Современные препараты ферментов поджелудочной железы должны удовлетворять требованиям качества, безопасности и экономической эффективности.

Производитель обязан обеспечить необходимое качество препаратов, т.е. отсутствие примесей, стабильность и достаточное содержание активного фермента (в соответствии с требованиями фармакопеи, применяемыми к большинству пищеварительных ферментов — липазы, амилазы и протеаз). Ферменты — это белковые соединения и их активность снижается под воздействием биологической среды. Поэтому во избежание снижения их активности при хранении в течение длительного времени или до конца срока годности панкреатин и другие препараты поджелудочной железы следует содержать в прохладном и сухом помещении.

Особые требования предъявляются к безопасности препаратов, поскольку их потребителями являются в основном новорожденные, дети и пожилые люди. Препараты ферментов поджелудочной железы счита-