

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ЭКОНОМИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНЫЕ АСПЕКТЫ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
3-ГО РОССИЙСКОГО КОНГРЕССА
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ –
ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»**

26-29 марта 2015 года

Под научной редакцией И.А. Максимцева, В.И. Ларионовой

**ИЗДАТЕЛЬСТВО
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
ЭКОНОМИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА
2015**

ББК 5
М90

М90 Мультидисциплинарные аспекты молекулярной медицины: сборник материалов 3-го Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное». 26-29 марта 2015 года / Под науч. ред. И.А. Максимцева, В.И. Ларионовой. – СПб.: Изд-во СПбГЭУ, 2015. – 205 с.

ISBN 978-5-7310-3157-8

Сборник содержит материалы о Е.И. Шварце, а также доклады и статьи участников 3-го Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное».

Молекулярная медицина является основой современной доказательной клинической медицины, появление которой стало возможным благодаря внедрению новых технологий.

Медицина и лабораторная диагностика должны быть готовы к стремительно развивающемуся мировому прогрессу в технологиях, что потребует соответствующих знаний в сфере экономики.

Сборник предназначен преподавателям и студентам медицинских, биологических, технических, экономических и юридических факультетов университетов, а также специалистам сферы здравоохранения.

ББК 5

Редакционная коллегия: д-р экон. наук, проф. И.А. Максимцев
д-р мед. наук, проф. В.И. Ларионова
канд. биол. наук Н.В. Ковалева

Рецензенты: д-р экон. наук, проф. А.Е. Карлик
д-р мед. наук, проф. А.В. Дмитриев

ISBN 978-5-7310-3157-8

© Коллектив авторов, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

Пчелина С.Н. Профессор Е.И. Шварц 1940–2003 гг.	9
Воспоминания учеников проф. Е.И. Шварца.....	15
Хальчицкий С.Е. Евгений Иосифович Шварц и первая ПЦР в СССР. Пионерские работы по изучению молекулярной основы моногенных заболеваний в лаборатории молекулярной генетики человека Ленинградского института ядерной физики АН СССР	25
Список диссертационных исследований выполненных под руководством проф. Е.И. Шварца	29
Khromov-Borisov N.N. Modern free software for the statistical analysis in molecular medicine and genetics	33
Pozdeev V.K. Metabolic therapy of metabolic disorders caused by chronic course of hepatitis C.....	35
Смолянинов А.Б., Адылов Ш.Ф. Применение клеточной терапии у онкологических больных после химиотерапии	37
Акулина Т.И. Кооперация врачей в медицинских учреждениях как условие повышения качества медицинской услуги	39
Алексеева Т.М. Аутоиммунные нервно-мышечные болезни: новый взгляд на проблему (по материалам XIII Международного конгресса по нервно-мышечным болезням, Ницца, Франция, 5-10 июля 2014 г.)	41
Андоскин П.А., Емельянов А.К., Николаев М.А., Якимовский А.Ф., Тимофеева А.А., Пчелина С.Н. Альфа-синуклеин крови как биомаркер болезни Паркинсона.....	43
Белаш В.А., Миронова Ж.А., Трофимов В.И., Зарайский М.И., Сазанов А.А., Улитина А.С. Роль α и β изоформ глюкокортикоидного рецептора при бронхиальной астме, хронической обструктивной болезни легких и перекрестном синдроме	45
Беленикин М.С. Высокопроизводительные исследования эпилептических энцефалопатий.....	46
Береснева О.Н., Парастаева М.М., Богданова Е.О., Иванова Г.Т., Галкина О.В., Каюков И.Г., Добронравов В.А. Почечная экспрессия белка α -Klotho ассоциирована с гипертрофией миокарда	48
Бутрович Г.М., Романова Ю.А., Мирлина Е.Д., Хабарова И.Г., Вострухина О.А. Неинвазивная диагностика колоректального рака	50
Варламов А.В., Пальцева Е.М., Секачева М.И., Скипенко О.Г. Влияние предоперационной цитотоксической терапии на экспрессию ферментов репарации ДНК в метастазах колоректальных аденокарцином в печени... ..	52
Васильев Ю.Н., Лаврик С.Ю., Домитрак С.В. Нарушения сна в структуре депрессивного расстройства: терапия агомелатином	54
Волгина С.Я. Болезнь Фабри. Мультидисциплинарные аспекты патологии	56
Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Зеленова М.А., Васин К.С., Сильванович А.П., Юров Ю.Б. «Вариом» при аутизме: обнаружение генов-кандидатов с помощью SNP- молекулярного кариотипирования и биоинформатического анализа	57

Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Воинова В.Ю., Демидова И.А., Куринная О.С., Юров Ю.Б. Синдром Ретта: проблемы диагностики атипичных форм.....	59
Гавран Н.А., Ледашева Т.А., Воронин Д.В. Голопрозэнцефалия: диагностический алгоритм.....	61
Глотов А.С., Глотов О.С., Баранов В.С. Научные возможности биобанков как ресурсных центров	63
Гринчик О.В., Федорова Л.А., Журавский С.Г. Полиморфизм A9V гена SOD2 как патогенетический фактор доречевой тугоухости при интранатальной гипоксии	64
Грицук А.И., Никитина И.А. Дыхательная активность тимоцитов и морфология их поверхности в условиях окислительного стресса: γ -облучение и пероксинитрит	65
Дробинцева А.О. Исследование кисспептинов в ткани яичника при синдроме поликистозных яичников женщин репродуктивного возраста...	67
Елшин Н.Д., Чухловин А.Б., Кузубова Н.А., Титова О.Н. Определение экспрессии генов CHRM3 и ADRB2 в лейкоцитах крови в процессе комплексного лечения хронической обструктивной болезни легких.....	69
Жинжило Т.А., Михайленко Д.С., Сафронова Н.Ю., Ковченко Г.А., Ефремов Г.Д. Экспрессия генов AURKA и MYCN на различных стадиях рака предстательной железы.....	70
Захарова Ф.М., Богословская Т.Ю., Муртазина Р.З., Татищева Ю.А., Дидио А.В., Липовецкий Б.М., Константинов В.О., Корнева В.А., Мандельштам М.Ю., Васильев В.Б. Спектр мутаций гена рецептора липопротеинов низкой плотности у больных семейной гиперхолестеринемией на Северо-Западе России: 20 лет исследований	72
Иванов Д.В. Правовое обеспечение создания биобанков в России.....	74
Иволгин Д.А., Смолянинов А.Б. Организация работы банка стволовых клеток по получению клеточного материала в регенеративной медицине	76
Исаев К.А., Ларионова В.И. Мукополисахаридозы глазами анестезиолога – реаниматолога.....	78
Смирнов А.В., Иванова Г.Т., Береснева О.Н., Парастаева М.М., Кучер А.Г., Зарайский М.И., Сиповский В.Г., Карунная А.В., Каюков И.Г. Экспрессии нуклеарного фактора транскрипции κB и трансформирующего фактора роста $\beta 1$ в почках крыс с односторонней обструкцией мочеточника, получавших соевую диету	79
Каюков И.Г., Парастаева М.М., Берсенева О.Н., Иванова Г.Т., Кучер А.Г., Карунная А.В., Зарайский М.И. Экспрессия нуклеарного фактора транскрипции κB в миокарде крыс с нефрэктомией, содержащихся на высокобелковых рационах	81
Ким М.В., Скорюкова С.А., Быстрова А.А., Баранова Е.И., Пчелина С.Н. Нарушения липидного обмена и эффективность терапии аторвастатином у больных сахарным диабетом 2 типа, проживающих в Санкт-Петербурге – носителей различных генотипов Q192R гена параоксоназы 1 (PON 1)	83
Колотий А.Д., Демидова И.А., Кравец В.С., Юров Ю.Б. Диагностика хромосомных микроперестроек с применением метода хромосомного анализа высокого разрешения и молекулярного кариотипирования	85

Кречмар М.В. Тестирование плода по ДНК в крови матери — новый алгоритм пренатальных исследований	87
Ледащева Т.А., Кинунен А.А. Нейрофиброматоз I типа: регистр, база данных	89
Ледащева Т.А., Крючкова А.Д., Василишина А.А., Гладкова Н.А., Котелевская Е.А., Двоеглазова М.О. Современные подходы к диагностике синдрома Беквита-Видемана	91
Ледащева Т.А., Жукова Е.А., Кинунен А.А., Насыхова Ю.А., Глотов А.С. Использование секвенирования следующего поколения в молекулярной диагностике нейрофиброматоза I типа	93
Липатова Л.В., Серебряная Н.Б., Сивакова Н.А., Капустина Т.В. Иммунопатологические изменения при эпилепсии и возможности иммуномодуляции регуляторными цитокинами	95
Мазикина Д.А., Журавский С.Г. Полиморфизмы генов глутатион-S-трансферазы, ассоциированные с развитием сенсоневральной тугоухости у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.....	97
Минайчева Л.И., Назаренко Л.П. Врожденные пороки развития челюстно-лицевой области: результаты медико-генетического обследования.....	100
Миронов К.О., Платонов А.Е., Дрибноходова О.П., Корчагин В.И., Дунаева Е.А., Максимова М.Ю., Иллариошкин С.Н., Шипулин Г.А. Комплексный подход к определению генетического риска развития ишемического инсульта	102
Мирошникова В.В., Пантелеева А.А., Демина Е.П., Баженова Е.А., Семенова И.А., Усенко Т.С., Николаев М.А., Беркович О.А., Баранова Е.И., Пчелина С.Н. Генетический контроль обмена холестерина в интраабдоминальной жировой ткани	104
Михайлова Г.Ф., Цепенко В.В., Скоропад В.Ю., Рухадзе Г.О., Шкаврова Т.Г., Голуб Е.В. Молекулярно-генетические нарушения гена AURKA у больных солитарным раком желудка и у больных раком желудка с первично-множественными опухолями.....	106
Мхеидзе М.О. Фенилкетонурии: неизбежность молекулярного диагноза	108
Мхеидзе М.О. Варианты наследственной гиперфенилаланинемии: неизбежность молекулярного диагноза	110
Мхеидзе М.О. Графическое оформление родословной: ошибки и возможные нововведения	111
Мхеидзе М.О. Наследственные дефекты гликозилирования – новая страница наследственных ошибок метаболизма	113
Нацвлишвили Т., Кадурина Т.И., Кигурадзе-Гогилашвили К., Цимбалистов А.В. Ассоциация del\del полиморфизма гена NF-KB1 с развитием агрессивного пародонтита.....	115
Некрасова А.С., Стельмах В.В., Козлов В.К. Иммунные нарушения в клеточном звене иммунитета у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом и метаболическим синдромом на разных стадиях заболевания.....	117
Николаев М.А., Усенко Т.С., Баженова Е.А., Неймарк А.Е., Хэ Чж., Беркович О.А., Баранова Е.И., Пчелина С.Н. Экспрессия генов PPAR γ , TNF α и Omentin 1 в интраабдоминальной жировой ткани.....	119

Нужный Е.П., Емельянов А.К., Андоскин П.А., Якимовский А.Ф., Салогуб Г.Н., Захарова Е.Ю., Пчелина С.Н. Экспрессия гена альфа-синуклеина в лимфоцитах пациентов с болезнью Гоше	120
Полякова А.А., Стрельцова А.А., Семернин Е.Н., Гудкова А.Я. Болезнь Фабри как одна из редких причин несаркомерной гипертрофической кардиомиопатии в российской популяции	122
Пушнова Е.А. Образовательная программа для биологических и медицинских ВУЗов: Новые технологии в области молекулярной биологии, биотехнологии и молекулярной медицины	124
Пушнова Е.А. Плазмидные ДНК-вакцины для иммунотерапии онкологических заболеваний	125
Пушнова Е.А. Молекулярно-генетическая диагностика для классификации и лечения психических расстройств	125
Пчелина С.Н., Нужный Е.П., Усенко Т.С., Николаев М.А., Захарова Е.Ю. Мутации в генах лизосомных болезней накопления – фактор высокого риска развития болезни Паркинсона: возможные молекулярные механизмы	126
Ронжина Н.Л., Майнскова М.А., Новикова С.Е., Згода В.Г., Белякова Н.В., Клейст О.А., Легина О.К., Пантина Р.А., Филатов М.В., Нарыжный С.Н. Протеом глиобластомных клеток	128
Саженова Е.А., Лебедев И.Н. Современные стратегии молекулярно-генетической диагностики болезней геномного импринтинга на примере синдромов Прадера-Вилли и Энгельмана	130
Селиверстова Е.Н., Гапархоева З.М., Башкина О.А., Стройкова Т.Р., Аверина И.А. Клинико-иммунологический мониторинг и прогнозирование рецидивирующего течения обструктивного бронхита у детей.....	132
Сергеева Е.Г., Ионова Ж.И., Горбач А.В. Полиморфизмы FokI и TaqI гена рецептора витамина D и дефицит витамина D у больных ишемической болезнью сердца	134
Сергеева Е.Г., Костарева А.А., Ионова Ж.И. Полиморфизм A603G гена тканевого фактора у больных ишемической болезнью сердца.....	136
Сироткина О.В., Вавилова Т.В. Фармакогенетика антиагрегантных препаратов: от поиска полиморфизмов к анализу РНК.....	138
Скорюкова С.А., Ким М.В., Быстрова А.А., Бабенко А.Ю., Баранова Е.И. Эффективность комбинированной терапии статинами и фенофибратом у больных сахарным диабетом 2 типа с различными генотипами S19W полиморфизма гена аполипопротеина A5	139
Смирнов А.В., Иванова Г.Т., Береснева О.Н., Парастаева М.М., Кучер А.Г., Зарайский М.И., Сиповский В.Г., Карунная А.В., Каюков И.Г. Экспрессии нуклеарного фактора транскрипции кВ и трансформирующего фактора роста $\beta 1$ в почках крыс с односторонней обструкцией мочеочника, получавших соевую диету	142
Смолянинов А.Б., Айзенштадт А.А., Багаева В.В., Золина Т.Л., Александрова Л.В., Енукашвили Н.И. Биологические особенности мезенхимных стромальных клеток, полученных из пупочного канатика человека: оценка перспективности их применения в регенеративной медицине	144

Смолянинов А.Б., Багаева В.В., Айзенштадт А.А., Александрова Л.В., Золина Т.Л. Направленная дифференцировка МСК в хондроциты. Подготовка биоимпланта для трансплантации	146
Соколова М.Г., Пенниайнен В.А. Исследования биомолекулярных механизмов компенсаторной реиннервации у больных спинальной мышечной атрофией 2 типа	148
Соловьева Л. Н., Шмони́н А.А. Асимметричный диметиаларгинин и высокочувствительный С-реактивный белок у пациентов с ишемическими инсультами	150
Статовская Е.Е., Кадурина Т.И. Ассоциация генетических полиморфизмов с клиническими проявлениями стоматологической патологии у больных с дисплазией соединительной ткани	152
Столбникова Е.В., Волкова М.О., Железова Л.И., Дмитриев А.В., Кветная А.С. Распространенность генов вирулентности в клинических изолятах <i>Moraxella catarrhalis</i>	154
Субботина Т.Н., Дунаева Е.А., Миронов К.О., Дрибноходова О.П., Васильев Е.В., Ольховский И.А. Определение мутаций в экзоне 12 гена JAK2 методом пиросеквенирования	156
Уквальберг М.Е., Гуменюк Е.Г., Кормакова Т.Л., Варламова Т.В., Дианова И.Н. Тактика ведения пациенток с синдромом Шерешевского-Тернера на современном этапе	158
Выявление мутаций известных рецессивных генов болезни	
Усенко Т.С., Якимовский А.Ф., Lesage S., Grice A., Пчелина С.Н. Паркинсона в Северо-Западном регионе России методом таргетного секвенирования	160
Хальчицкий С.Е., Шапошников А.М. Обмен птеринов при психоневрологических расстройствах	162
Хальчицкий С.Е., Мхеидзе М.О. Медико-генетическое консультирование семей с фенилкетонурией	164
Хромов-Борисов Н.Н., Рубанович А.В. Круглый стол: Парадоксы геномной медицины	166
Цоцонава Ж.М., Кантемирова Б.И. Современные возможности оптимизации фармакотерапии у детей с резистентными формами эпилепсии	168
Шавловский М.М., Грудинина Н.А., Соловьев К.В., Гудкова А.Я., Семернин Е.Н., Крутиков А.Н., Полякова А.А., Шляхто Е.В. Мутации гена транстиретина в группе пациентов с поражениями миокарда в Санкт-Петербурге	171
Щелочков А.М. Прогностическое значение молекулярно-генетической диагностики синдрома Жильбера у пациентов ВРТ и кандидатов в доноры ооцитов	173
Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Зеленова М.А., Колотий А.Д., Демидова И.А., Кравец В.С., Гордеева М.Л., Юров Ю.Б. Регулярные структурные хромосомные перестройки, приводящие к появлению мозаичных аномалий: доказательство существования локус-специфичной конституциональной хромосомной нестабильности	175

Юров И.Ю., Зеленова М.А., Ворсанова С.Г., Шаронин В.О., Юров Ю.Б. Анеуплоидия аутосом при заболеваниях головного мозга.....	177
Юров Ю.Б., Ворсанова С.Г., Лиер Т., Юров И.Ю. Организация и нестабильность генома в мозге при шизофрении	179
Январева О.К., Мхеидзе М.О. Наследственные болезни в офтальмологии: 30 лет наблюдения	181
Волкова И.А., Поляков Ю.И., Булатникова М.А. Клиническое наблюдение болезни Ниманна-Пика тип С, выявленной в условиях психиатрического отделения.....	182
Васильев Д.В., Васильева О.В. Подбор персонализированной терапии у больного с симптомной наследственной тромбофилией и гипергомоцистеинемией.....	184
Васин К.С., Ворсанова С.Г., Коростелев С.А., Колотий А.Д., Демидова И.А., Юров И.Ю. Возможности молекулярного кариотипирования: анализ мозаичных форм различных анеуплоидий	186
Зеленова М.А., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Балева Л.С., Сипягина А.Е., Юров И.Ю. Эффективность метода SNP array/молекулярного кариотипирования для выявления множественных аномалий генома.....	188
Куриная О.С., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Зеленова М.А., Колотий А.Д., Воинова В.Ю., Юров И.Ю. Случай дупликации короткого плеча хромосомы 3 у девочки со сниженным интеллектом, пороком сердца и микроаномалиями развития	190
Тадтаева З.Г. Болезнь Гоше (клиническое наблюдение).....	192
Федяков М.А., Ледащева Т.А. ЗМ-синдром	193
Хохова А.В., Ледащева Т.А. Метаболические заболевания: триметиламинурия	195
Смолянинов А.Б., Новицкий М.В., Адылов Ш.Ф. Регенеративная терапия при нейродегенеративных заболеваниях	197
Пирожков И.А., Смолянинов А.Б., Чечеткин А.В., Иволгин Д.А. Полиморфизм гена CCR5 и резистентность к инфицированию ВИЧ. Результаты молекулярно-генетического обследования общественного регистра пуповинной крови	200
Егоров В.И., Юркевич Ю.В., Смолянинов А.Б., Беседина Н.К., Ионов П.М., Акопов А.Л. Перспективы применения культивированных аллофибробластов в эндоскопическом лечении послеоперационных бронхиальных свищей	202
Савинцев А.М., Смолянинов А.Б. Багаева В.В., Малько А.В., Айзенштадт А.А. Клеточные технологии в оптимизации процессов регенерации костной, хрящевой и сухожильной тканей в ортопедо-травматологической практике.....	204



Профессор Е.И. Шварц

1940–2003 гг.

С.Н. Пчелина

Пчелина С.Н. – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова», Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", зав. лабораторией медицинской генетики отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ.

Памяти Е.И. Шварца

В марте 2015 года исполняется 75 лет со дня рождения доктора медицинских наук, профессора Евгения Иосифовича Шварца.

Евгений Иосифович родился в семье военного летчика 16 марта 1940 года. Отец погиб под Москвой в 1942 году. Евгений Иосифович закончил школу в Бобруйске и в 1961 году поступил в Ленинградский педиатрический медицинский институт, который закончил в 1967 году. С 1968 года работал в Институте Экспериментальной Медицины АМН СССР в группе члена-корреспондента АМН СССР, проф. Е.Ф. Давиденковой. В этом институте успешно защитил в 1971 году кандидатскую, а в 1982 году докторскую диссертации. Докторская диссертация «Метаболические основы иммунологических нарушений в клетках с трисомией по 21 хромосоме» явилась первым в мировой литературе фундаментальным исследованием метаболических основ иммунологических нарушений при одной из наиболее распространенных форм хромосомного дисбаланса у человека – болезни Дауна. Сформулирована гипотеза, объясняющая формирование иммунологических нарушений вследствие дефектной репарации ДНК, происходящей в клетках с аберрантным ге-

номом. Показано, что увеличение числа нерепарируемых повреждений и ускоренный катаболизм тканей, приводит к образованию в повышенном количестве дезоксинуклеозидов, что ингибирует Т-систему иммунитета и, в конечном счете, ведет к развитию метаболической иммунодепрессии.

С 1985 года Евгений Иосифович пришел на работу в Ленинградский институт ядерной физики им.Б.П. Константинова РАН («Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова», Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт") в лабораторию молекулярной генетики. Именно в эти годы в полной мере проявился его талант как выдающегося ученого и талантливого организатора. Вокруг Евгения Иосифовича быстро сформировалась рабочая группа, которая позднее, в 1992 году была выделена в отдельную лабораторию молекулярной генетики человека. Будучи по образованию врачом Евгений Иосифович всю жизнь занимался тем направлением, которое сейчас получило название трансляционная медицина, а именно стремился применить последние достижения молекулярной генетики в клинической практике. При этом его редкое научное чутье и энциклопедические знания позволяли внедрять последние достижения науки в медицину быстро и эффективно. Так метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) сегодня широко используется для диагностики заболеваний человека, вирусных инфекций, выявления патогенных штаммов, в судебной практике.

Коллектив, возглавляемый Евгением Иосифовичем, был первым в стране и одним из первых в мире, кто применил метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики мутационных повреждений ДНК. В 1989 получены первые результаты по природе мутационных повреждений при фенилкетонурии и β -талассемии. В 1990 разработан метод амплификации ДНК с кровяных пятен на фильтровальной бумаге, который в настоящее время получил широкое внедрение в практическую работу многочисленных лабораторий мира. В лаборатории Евгения Иосифовича разработаны оригинальные методы оценки мутационных повреждений ДНК, метод идентификации личности на основе RFLP и SSCP D-петли митохондрий. Под руководством Е.И.Шварца впервые в стране созданы карты мутационных повреждений ряда моногенных заболеваний – фенилкетонурии (описано 90% мутантных аллелей), муковисцидоза (75% мутантных аллелей), семейной гиперхолестеринемии, что сегодня легло в основу работы ряда медико-генетических центров России.

С именем Е.И.Шварца связано открытие одной из первых в стране кафедр медицинской генетики. В 1989 году им создана кафедра медицинской генетики в Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии. Евгений Иосифович возглавлял кафедру в течение 11 лет. Впервые в Санкт-Петербурге он начал читать уникальный курс лекции по молекулярной медицине для студентов медицинских ВУЗов. Слушателями этого курса являлись не только студенты ВУЗа, но и его преподаватели. Е.И. Шварц мог увлечь своим энтузиазмом, полетом научной мысли. Эта кафедра была создана в составе научно-учебного комплекса, включающего ла-

бораторию молекулярной генетики человека Петербургского института ядерной физики, благодаря чему студенты и аспиранты могли обучаться не только общей медицинской генетике и частным разделам молекулярной медицины, но и практическим молекулярно-генетическим методам. На базе этого комплекса уже в 1991 году были проведены одни из первых в стране курсов по ДНК-диагностике наследственных заболеваний для врачей. За этот период на базе кафедры и научно-исследовательской лаборатории при кафедре под руководством Евгения Иосифовича были выполнены десятки диссертационных исследований по смежным специальностям, включая молекулярную генетику.

В те годы коллектив Е.И. Шварца одним из первых в стране приступил к изучению наследственных основ мультифакторных заболеваний, где в основе развития заболевания лежит сложное взаимодействие наследственных и средовых факторов. Уже в начале 1990-х в лаборатории были начаты работы по основам наследственной предрасположенности к диабету первого типа, сердечно-сосудистым и тромботическим заболеваниям, бронхо-легочной патологии, болезни Паркинсона. Исследования проводились в сотрудничестве с выдающимися исследователями в области молекулярной генетики и кардиологии, такими как академиком РАМН В.А. Алмазовым, член-корр. РАМН В.С. Гайцхоки, член-корр. РАМН Е.В. Шляхто. Получен ряд уникальных результатов: выявлены новые мутации, ответственные за развитие семейной гиперхолестеринемии, впервые описана роль гипергомоцистеинемии в основе развития варикозного расширения вен, дана оценка роли гена Apo(a) в молекулярной генетике инфаркта миокарда, впервые выявлен кооперативный эффект генов субъединицы IIIa рецептора тромбоцитов и серотонинового транспортера в формировании наследственной предрасположенности к развитию инфаркта миокарда у мужчин молодого возраста, показана важная роль гипергомоцистеинемии в развитии нефропатии у детей с сахарным диабетом 1 типа, впервые показан вклад аллельного варианта гена параоксоназы 1 в формирование наследственной предрасположенности к болезни Паркинсона.

Основной сферой научных интересов Евгения Иосифовича являлось изучение основ предрасположенности к сердечно-сосудистой патологии, включая инфаркт миокарда, артериальную гипертензию, ишемический инсульт, а также венозные тромбозы различной локализации. Евгений Иосифович стоял у истоков зарождения молекулярной кардиологии в России. В лаборатории молекулярной генетики человека ПИЯФ РАН были созданы уникальные банки ДНК больных, перенесших инфаркт миокарда в молодом и пожилом возрасте, пациентов с ишемическим тромботическим инсультом, венозным тромбозом, варикозным расширением вен, артериальной гипертензией. Были выбраны гены кандидаты, и на вышеуказанных группах больных был исследован их вклад в развитие каждой из патологий. На основании этих исследований выбрана батарея генетических детерминант, определение которых позволяет прогнозировать тромботические осложнения различной

природы. Данный молекулярно-генетический анализ внедрен в повседневную клиническую практику.

Имя Е.И. Шварца и последние годы его жизни неразрывно связаны с Первым Санкт-Петербургским государственным медицинским университетом им. акад. И.П. Павлова. В 2001 году под его руководством при непосредственном участии ректора ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова академика Н.А. Яицкого и проректора по науке профессора Э.Э. Звартау был открыт отдел молекулярно-генетических технологий. За короткий срок на базе отдела был разработан алгоритм молекулярно-генетического обследования с целью диагностики наследственной тромбофилии, а также проведены пионерские в России исследования в области фармакогенетики. Показано влияние генотипов гена цитохрома CYP2C9 на начальную дозу варфарина. Все разработанные алгоритмы были переданы в клиническую практику и в настоящее время анализы генетической предрасположенности к развитию тромбофилии и чувствительности к антиагрегантам проводятся как на базе ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, так и в других диагностических центрах города.

Энергия Е.И. Шварца не ограничивалась учреждениями города Санкт-Петербурга. В 2000-х гг. Е.И. Шварц являлся сотрудником "Transgenomik Gaithersburg MD", США; в 2001–2003 активно содействовал развитию молекулярно-генетических исследований в области генетики человека в НИИ физико-химической медицины и Научном центре здоровья детей РАМН, Москва.

Евгений Иосифович являлся членом проблемной комиссии по молекулярной генетике человека МЗ СССР с 1987 по 1991 г., долгие годы был членом редколлегии международного журнала "Molecular Genetics and Metabolism". Им опубликовано около 200 печатных работ, более 50 в зарубежной печати. Под его руководством защищено несколько десятков кандидатских и докторских диссертации.

Евгений Иосифович был талантливым организатором и руководителем, прекрасным лектором, исключительно доброжелательным человеком с заразительным чувством юмора, всегда критически относящийся к собственным успехам. Этот был замечательный, яркий, творческий человек, который не работал, а жил работой. Е.И. Шварца нет с нами уже более 10 лет. Однако, его идеи, его преданность делу, научная школа живет. Свой энтузиазм Е.И. Шварц передал своим ученикам, которые работают сегодня во многих лабораториях мира. Все созданные им коллективы успешно работают в настоящее время. Многие его ученики уже сами стали профессорами и возглавляют научные коллективы в том числе в ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. В России стало традиционным проведение Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное», посвященного памяти Е.И. Швара. В марте 2015 года этот конгресс проводится в Санкт-Петербурге вот уже третий раз.

Ниже приведены воспоминания учеников Евгения Иосифовича, тех людей, кто был вовлечен в исследования в области молекулярной генетики

человека, выполнил под руководством Е.И. Шварца кандидатскую диссертацию, и успешно продолжает трудиться в области молекулярной генетики человека. Рамки настоящих воспоминаний, к сожалению, не охватывают целый пласт специалистов медиков, кто также выполнял свои диссертационные работы под руководством Евгения Иосифовича. Необходимо, однако, отметить, что в 1990-е годы им была воспитана целая плеяда врачей, специалистов в области молекулярной генетики. Приводится также, к сожалению неполный, список работ, защищенных под руководством профессора Е.И. Шварца. Однако даже этот перечень отражает широчайшее поле деятельности, которое мог охватить незаурядный талант Евгения Иосифовича Шварца.

Список диссертационных исследований, выполненных под руководством проф. Е.И. Шварца:

1. Потапова Ольга Юрьевна, к.б.н., 1994, «Молекулярно-генетический анализ кистозного фиброза в России», 03.00.04 – биохимия
2. Шевцов Сергей Петрович, к.б.н., 1995, «Аллельные распределения генов АРОВ, АРОСЗ и АРОЕ и липидные показатели у больных с инфарктом миокарда», 03.00.04 – биохимия
3. Барановская Светлана Станиславовна, к.б.н., 1996, «Молекулярно-генетический анализ фенилкетонурии в Санкт-Петербурге», 03.00.04 – биохимия
4. Васина (Ларионова) Валентина Ильинична, к.м.н., 1997, «Липиды крови и ДНК- полиморфизмы апопротеиновых генов у детей и подростков в оценке предрасположенности к развитию атеросклероза», 14.00.09 – педиатрия
5. Попов Валерий Витальевич, к.м.н., 1998, «Показатели углеводного и липидного обмена и полиморфизм ДНК в области гена ангиотензин-превращающего фермента и гена аполипопротеина СIII у пациентов молодого возраста с пограничной артериальной гипертензией», 14.00.06. – кардиология
6. Гуков Светлана Павловна, к.м.н., 1998, «Значение структурных особенностей ДНК в области генов ангиотензин-превращающего фермента и аполипопротеина E для развития инфаркта миокарда», 14.00.06. – кардиология
7. Образцова Галина Игоревна, к.м.н., 1998, «Структурные показатели миокарда и генетический полиморфизм ангиотезинпревращающего фермента у детей с нормальным и повышенным уровнем артериального давления», 14.00.09 – педиатрия
8. Фомичева Екатерина Викторовна, к.б.н., 1999, «Роль структурных полиморфизмов генов ренин-ангиотензинового каскада в развитии инфаркта миокарда», 03.00.04 – биохимия
9. Маркова Татьяна Геннадьевна, к.м.н., 1999, «Клиническое и молекулярно-генетическое исследование синдрома Ваарденбурга I типа», 14.00.04 – болезни уха, горла и носа, 03.00.15 – генетика

10. Пчелина Софья Николаевна, к.б.н., 2000, «Молекулярно-генетические основы предрасположенности к болезни Паркинсона», 03.00.15 – генетика
11. Волкова Мария Владимировна, к.б.н., 2000, «Вариабельность концентрации липопротеина (а) и ингибитора активатора плазминогена 1 типа в норме и при инфаркте миокарда», 03.00.04 – биохимия
12. Шуцкая Жанна Владимировна, к.м.н., 2000, «Клинико-генетические особенности развития диабетической нефропатии при сахарном диабете I типа у детей», 14.00.09 – педиатрия
13. Папаян Карина Альбертовна, к.м.н., 2000, «Патогенетические механизмы развития артериальных и венозных тромбозов у детей и лиц молодого возраста», 14.00.29 – гематология и переливание крови, 14.00.09 – педиатрия
14. Шейдина Анна Михайловна, к.б.н., 2000, «Молекулярно-генетические основы предрасположенности к варикозному расширению вен и тромботическим осложнениям», 03.00.04 – биохимия
15. Демидова Дина Валерьевна, к.м.н., 2001, «Роль структурных полиморфизмов генов липопротеиновой липазы и аполипопротеинов Е и СIII в предрасположенности к гипертриглицидемии и инфаркту миокарда», 03.00.04 – биохимия
16. Баженова Елена Анатольевна, к.м.н., 2002, «Функциональные изменения системы гемостаза и полиморфизмы генов этой системы у мужчин, перенесших инфаркт миокарда в молодом возрасте », 14.00.06. – кардиология
17. Беркович Ольга Александровна, д.м.н., 2002, «Состояние эндотелия сосудов и структурные полиморфизмы кандидатных генов у мужчин, перенесших инфаркт миокарда в молодом возрасте», 14.00.06. – кардиология, 03.00.15 – генетика
18. Сироткина Ольга Васильевна, к.б.н., 2003, «Молекулярно-генетические основы развития предрасположенности к артериальным тромбозам», 03.00.04 – биохимия
19. Янчина Елена Дмитриевна, к.м.н., 2004, «Вклад структурных полиморфизмов генов глутатион-S-ансфераз, матриксной металлопротеазы 9 и фенотипов сывороточного белка гаптоглобина в формирование наследственной предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких», 14.00.43-пульмонология, 03.00.15 – генетика
20. Ивчик Татьяна Васильевна, д.м.н., 2004, «Роль наследственных факторов в формировании и прогнозировании хронической обструктивной болезни легких», 14.00.43-пульмонология, 03.00.15 – генетика
21. Родыгина Татьяна Ивановна, к.м.н., 2007, «Молекулярная диагностика наследственной предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям: варианты генов параоксоназы 1 и кассетного транспортера ABCA1 как фактора риска», 03.00.04 – биохимия, 14.00.46 – клиническая лабораторная диагностика

Воспоминания учеников проф. Е.И. Шварца



Софья Пчелина (Ахмедова), д.б.н.

Работаю в лаборатории с момента ее основания в 1991 году, когда в эту лабораторию была выделена научная группа, возглавляемая Е.И.Шварцем. А на самом деле еще раньше. В рабочую группу Евгения Иосифовича пришла весной 1989 года будучи студенткой 3 курса Политехнического института. И жизнь моя в этой лаборатории была очень счастливой. Первые воспоминания – это конечно вдохновение наукой шефа (Е.И.Шварца). Он наукой жил. Не работал, а жил. Почти без отпуска, все субботы в читальном зале публичной библиотеки. Как он умел не только выхватывать самое интересное, чувствовать перспективное, но и мастерски умел доносить до собеседника важность задачи. Очень ярко помнятся его лекции студентам на базе кафедры медицинской генетики СПбГПМА. После каждой лекции народ выходил с горящими глазами. Хотелось заниматься именно этой патологией, изучать именно эти метаболические пути и т.д. И у многих запал сохранялся. Не даром под руководством Евгения Иосифовича выполнено несколько десятков кандидатских диссертаций.

А еще Евгений Иосифович любил девушек. Красивых. И наша лаборатория в основном формировалась из красавиц, ну и умниц и называлась «Лаборатория 8ого марта». А еще Евгений Иосифович любил жизнь, насыщенную, веселую. Наши объединенные застолья на Лесной с лабораторией В.А.Ланцова, уверена, помнят многие. Этот тонкий веселый легкий юмор двух таких замечательных людей. Это ярко. Это помниться. Это уровень уважения, доверия, простоты и легкости. Это мир, который привлекал и притягивал молодежь. Потом немного все изменилось. Евгений Иосифович настраивал народ на работу зарубежом, хотя сам вспоминал свой год работы «забугром» как худшее время в жизни, где тосковал по своей лаборатории. Коллектив лаборатории менялся, но та теплая уважительная атмосфера, богатая уютом и вниманием к каждому, сохранилась. В настоящее время я продолжаю трудиться в этой

же лаборатории, изучая молекулярные основы развития нейродегенеративных заболеваний.



Ольга Сироткина, д.б.н.

Я пришла работать к Евгению Иосифовичу Шварцу в 1998 году, сначала в также возглавляемую им в то время лабораторию молекулярной кардиологии института сердечно-сосудистых заболеваний СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, а в 2000 году перевелась в лабораторию молекулярной генетики человека ОМРБ Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова. Евгений Иосифович стал для меня и заведующим, и научным руководителем кандидатской диссертации, и самое главное Учителем с большой буквы, который показал пример бескорыстного, честного и абсолютно искренне радостного служения науке. В 2003 году под руководством профессора Шварца я защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук по теме «Молекулярно-генетические основы развития предрасположенности к артериальным тромбозам». Так случилось, что вскоре Евгения Иосифовича не стало. Но научные идеи, перспективы исследований, которые были сформулированы с ним вместе остались. На многие вопросы, которые задавал в свое время Евгений Иосифович, я смогла ответить уже в ходе выполнения самостоятельных исследований. В настоящее время я продолжаю изучение системы гемостаза и фармакогенетических подходов к назначению антитромботических лекарственных средств. Тесно сотрудничаю с клиницистами – кардиологами, неврологами, гематологами. На фото я на кардиологической конференции в Самаре.



Анастасия Тараскина, к.б.н.

Евгения Иосифовича я запомнила веселым, жизнерадостным человеком, полным энергией, рассказывающим анекдоты, подшучивающим над своими коллегами. Меня с ним познакомил мой научный руководитель Говорун Вадим Маркович, отрекомендовав, что он знает только одну лабораторию в Санкт-Петербурге, в которой серьезно занимаются наукой. А наукой надо заниматься либо серьезно, либо вообще на это не стоит времени тратить, так он считал. Так, с легкой руки Говоруна В.М., я оказалась в лаборатории Евгения Иосифовича. Поначалу Шварц относился ко мне очень насторожено, так как со мной он был практически не знаком, а в лабораторию его взять меня практически принудили, но достаточно быстро я влилась в коллектив, и Шварц меня уже считал своим «удачным приобретением». Сложнее было освоиться с генетикой человека... До момента перехода к Евгению Иосифовичу, я имела дело только с бактериями, занималась антибиотико-резистентностью микоплазм. Генетический аппарат микроорганизмов устроен несколько иначе, не имеет ядра, более мобильный, способный к горизонтальному переносу. Человек – другое дело: экзоны, интроны, сплайсинг... Жалко, что работа в лаборатории Молекулярной генетики человека ПИЯФ под руководством Евгения Иосифовича была недолгой...



Сергей Хальчитский, к.б.н.

В конце 1984 года мне позвонил Е.И. Шварц и пригласил во вновь создаваемую лабораторию в Ленинградском институте ядерной физики. Первоначально группа Шварца входила в состав лаборатории молекулярной генетики, которую возглавлял В.А. Ланцов. Молодыми специалистами, которым ставилась задача освоить методики и заниматься молекулярной генетикой человека были А. Гольцов и С. Хальчицкий. Е.И. Шварц поставил перед нами амбициозную задачу: в кратчайшие сроки сконструировать кДНКовую клонотеку из эмбриональной печени человека и в дальнейшем ее использовать для анализа экспрессирующихся генов печени. Поскольку в Санкт-Петербурге никто этими методиками не владел, предполагалось их осваивать на широких просторах Советского Союза. Первым этапом было научиться качественно выделять РНК. Этим вопросом в полной мере владели в лаборатории проф. Ф.Л. Киселева в Онкологическом центре в Москве. Пришлось много туда поехать и поучиться. Зато этот этап был освоен на хорошем методическом уровне. Далее встали вопросы освоения молекулярного клонирования, которые блестяще описаны в книге Маниатиса, но которыми мы также не владели. Здесь помогли коллеги из Москвы и Киева. В Москве – лаборатория генной инженерии Кардиологического научного центра (зав. проф. Р.Ш. Бибилашвили) и в Киеве – лаборатория молекулярной генетики Института молекулярной биологии и генетики (зав. проф. В.М. Кавсан). С помощью коллег из этих дружественных коллективов мы с Алексеем полностью освоили методологию молекулярного клонирования и к 1987 г. кДНКовая клонотека была создана. Был опубликован препринт ЛИЯФ, где подробно описывался ход создания библиотеки.

Наши планы в отношении использования клонотеки были перечеркнуты появлением новой революционной методики – полимеразной цепной реакции (ПЦР). Этот метод позволял гораздо быстрее и надежнее анализировать любой участок генома. Естественно, и в этом огромная заслуга Е.И. Шварца, что он тут же подхватил новую методику и мы принялись ее осваивать. К этому были свои предпосылки. Во-первых, у нас была термофильная ДНК-полимераза, которую выделял Олег Кабоев и которой не было ни в одной лаборатории СССР. Во-вторых, мы быстро синтезировали необходимые праймеры и зонды, в чем нам помогал проф. Ю.А. Берлин и его сотрудник Олег Плуталов из Института биоорганической химии в Москве. Таким образом, в нашей лаборатории впервые в СССР была освоена технология ПЦР. Ну а далее эту технологию мы быстро стали применять для анализа спектра мутаций при наследственной патологии. Первые статьи появились в престижных зарубежных журналах (NAR, Lancet) и были посвящены анализу мутационных повреждений при ФКУ и бета-талассемии.



Елена Пушнова, PhD

Моими знаниями о молекулярной генетике человека, молекулярной медицине и молекулярной диагностике я обязана профессору Евгению Иосифовичу Шварцу, руководителю лаборатории молекулярной-генетики человека ОМРБ, заведующему кафедрой медицинской генетики, руководителю и наставнику. Именно полученные на его кафедре знания и научно-преподавательский опыт позволяют мне продолжать и во многом развивать их вот уже в течение 20-ти лет. Евгений Иосифович был человеком широкой научной эрудиции, поистине любознательным, прекрасным генератором новых идей - в общем настоящим ученым в самом высоком смысле этого слова. А главное - он бескорыстно отдавал все, что знал и умел, своим ученикам и коллегам. Спасибо Вам, дорогой Евгений Иосифович.



Екатерина Фомичева, PhD

В мае 1988 года будучи студенткой биологического факультета университета, я набравшись храбрости подошла к Евгению Иосифовичу Шварцу и сказала ему, что хочу написать у него курсовую работу за 4 курс. Так как времени до защиты было мало, тему я предложила сама выбрав «Регуляцию работы лактозного оперона» . Летом этого же года я пришла на курсовую практи-

ку, где мне была поставлена задача сбора “буккального эпителия щек” у всех без исключения научных сотрудников ОМРБ. В это время в лаборатории Шварца только стартовало направление “Изучение спектра точечных мутаций в гене ФАГ у больных фенилкетонурией”. Носительство мутаций в гене ФАГ сопровождается умственной отсталостью, и шутник Шварц решил найти скомпенсированных носителей в научной среде или другими словами найти умственно отсталых ученых. Шутки Шварца и его крылатые выражения были одной из составляющих его яркой индивидуальности и даже сейчас повторяются при встречах его учеников. Так я, Аня Свердлова, Света Барановская и Маша Волкова были прозваны “Бандой четырех”. После защиты диплома по теме “Поиск мутаций в гене *aroB100* в группе больных гиперхолестеринемией IIa типа” я поступила в аспирантуру в Педиатрический институт. В октябре 1999 года я защитилась по теме “Роль структурных полиморфизмов генов ренин-ангиотензиновой системы в развитии инфаркта миокарда”. С мая 2002 по 2010 год я работала в университете Мичигана, занимаясь молекулярными механизмами кардиопротекции при гипоксии. А в феврале 2011 года я открыла компанию основным направлением которой является изучением механизмов адаптации к кислородному дефициту или гипоксии при различных заболеваниях. Важной прикладной целью нашего исследования является установление связи между распространенными заболеваниями человека такими как рак, ишемический инсульт, и инфаркт миокарда и последовательностями «мусорной ДНК», которые были выявлены у мышей, но присутствуют в разных комбинациях и у человека, что открывает новые перспективы для проекта «Геном человека». В настоящее время компания активно участвует в государственных конкурсах который выполняется при тесном сотрудничестве в бывшими коллегами Светланой Барановской “Agilent Technologies” и Аней Свердловой сотрудницей Sanford-Burnham Medical Research Institute.



Алексей Гольцов, PhD

Мне повезло познакомиться с Евгением Иосифовичем Шварцем в начале моей научной карьеры, в 1984 году, когда он предложил мне работу в лаборатории Молекулярной Генетики, где он был ко-директором, в Отделе Молекулярной и Радиационной Биофизики в ЛИЯФ. Благодаря широкому кругозору, оптимизму и организаторскому таланту Е.И. Шварца и при участии многих других талантливых сотрудников в течении нескольких лет лаборатории удалось разработать методику ПЦР-амплификации ДНК с помощью полимеразы из *Thermus Thermophilus*, а также проводить последующий анализ мутаций используя рестрикционный полиморфизм и секвенирование.

По сути его лаборатория была одной из первых в стране где сумели наладить практическую молекулярную диагностику многих наследственных и соматических заболеваний с помощью ПЦР. Шварц всегда шагал в ногу со временем, был в курсе последних научных достижений и шел на встречу любым разумным научным контактам. В его лабораторию приезжали ученые из разных уголков страны, чтобы овладеть этими современными методами, проанализировать образцы ДНК больных, написать статью, получить результаты для диссертации. Он также сумел завязать и поддерживать контакты со многими лабораториями за рубежом. Я благодарен судьбе за то, что мне посчастливилось работать с Евгением Иосифовичем Шварцем, и быть одним из его многочисленных учеников.



Алексей Кузьмин, PhD и Оксана Галенко

Бывают люди, которые меняют жизнь других людей, люди, открывающие другим возможность делать в жизни то, что они хотят делать то о чём они мечтают. Таким человеком был Евгений Иосифович Шварц. Он изменил жизнь многих людей, помог стать теми, кем они стали. Он верил в свою мечту и передавал веру другим. Мы никогда не забудем этого светлого человека.

Его оптимизм и вера в жизнь будут помогать нам всегда. Светлая память светлomu человеку.



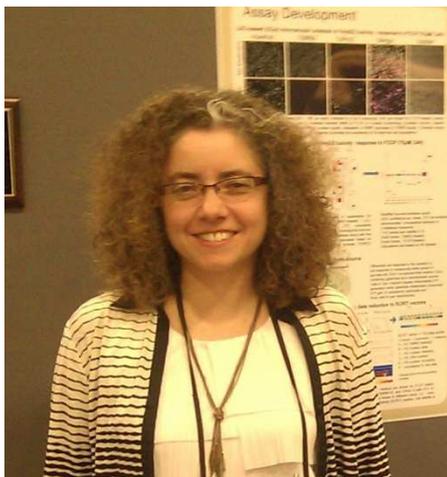
Светлана Барановская, PhD

В 1992 году, окончив Технологический институт, я поступила в аспирантуру Института ядерной физики к Евгению Иосифовичу Шварцу. Я помню свою первую встречу с ним. Евгений Иосифович сидел на кожаном диване, потирая свою голову руками, и смотрел на меня исподлобья и как-то скептически. Как я поняла позже, скептицизм был обусловлен тем, что лаборатории требовались серьёзные молодые люди, а не легкомысленно улыбающиеся молодые девушки. Стены лаборатории стали для меня вторым домом (а по времени, проведенным на Матросова пожалуй и первым). Лаборатория “восьмого марта”, заслушиваясь “сказками” Е. Шварца, работала до закрытия метро. Субботними утрами сотрудники должны были читать статьи в БАНе (Библиотеке Академии Наук), где можно было всегда застать профессора Шварца. Результатом четырех лет работы стала диссертация на тему “Спектр мутаций в гене ФАГ у больных фенилкетонурией в С.-Петербурге” (1996 год). Следующие три года в лаборатории были посвящены изучению вклада мутаций в генах коагуляционного каскада (Лейденовская мутация и мутации в гене протромбина в частности) в развитие инфаркта миокарда. В 1999 году я уехала в город мечты любого американца (по словам Евгения Иосифовича) Сан-Диего. С 1999 по 2008 год я работала в Sanford-Burnham Medical Research Institute, La Jolla, Калифорния, занимаясь молекулярными механизмами развития раков с микросателлитной нестабильностью. С 2008 года я работаю в компании “Agilent Technologies”, La Jolla, Калифорния, используя все мои знания для развития Microarray Technology and Next Generation Sequencing Technology.



Анна Шейдина (Свердлова), PhD

Я была студенткой четвертого курса физико-механического факультета Государственного Технического Университета, в то время я искала лабораторию для моей будущей карьеры. Моя однокурсница Маша Шерemet рассказала мне об одной из самых успешных лабораторий в Институте Ядерной физики. Мы пришли на собеседование, и были приятно удивлены манерой проведения интервью доктора Шварца. Он был очень дружелюбным, представительный, и с неподражаемым чувством юмора, но больше всего меня поразила атмосфера в лаборатории. Атмосфера была очень дружественная и поддерживающая, тем более необычна для женского коллектива. Я была очень горда тем, что прошла собеседование и должна признать что это были лучшие годы в лаборатории Евгения Иосифовича, где я защитила диплом и пятью годами позже кандидатскую диссертацию. В то время многие лаборатории переживали не лучшие времена, а в нашей было все наоборот - жизнь кипела. Я участвовала во многих проектах и приобрела опыт в идентификации и оценке генетических факторов риска в различных генетических заболеваниях, в тесном взаимодействии с врачами мы создавали банки различных заболеваний. Самое главное, что я приобрела за эти годы не только опыт и знания, но и проверенные временем и расстояниями дружеские отношения. Я покинула лабораторию в 2006 году и работала в Национальном институте по проблемам старения, НИИ, где я изучала роль фосфорилирования аденилатциклаз и транскрипционных факторов в частности ETS2 при старении и кардиологических патологиях. После чего решила сосредоточиться на анализе данных и работаю в лаборатории биоинформатики Sanford – Burnham Medical Research, San Diego.



Мария Ципер, PhD

Моя профессиональная карьера началась под руководством Е.И.Шварца в лаборатории молекулярной генетики человека ОМРБ ПИЯФ в 1991 году. Моя дипломная работа была посвящена вкладу генетических вариантов 21-гидроксилазы в риск инфаркта миокарда. Вместе с Сергеем Петровичем Шевцовым я занималась скринингом онднуклеотидных полиморфных вариантов в гене 21-гидроксилазы с целью оценить их влияние на риск развития заболевания. В 1993 году я покинула лабораторию, получив позиции в Отделе психиатрии Университета в Stony Brook, NY, USA, где использовала подобный подход для оценки влияния генетических вариантов трансакритина и белков пресенилинов в риск развития болезни Альцгеймера. Работу выполняла под руководством Александра Львовича Шварцмана, который несколько лет спустя возглавил лабораторию молекулярной генетики человека, когда не стало Е.И. Шварца. После защиты PhD по теме исследования внеклеточного матрикса, я продолжила свою карьеру в Университете (Purdue University), где разрабатываю платформы с использованием постгеномных технологий для исследования новых лекарственных мишеней, выявления маркеров апоптоза, митохондриальных дисфункций и дифференцировки нейронов.

Евгений Иосифович Шварц и первая ПЦР в СССР. Пионерские работы по изучению молекулярной основы моногенных заболеваний в лаборатории молекулярной генетики человека Ленинградского института ядерной физики АН СССР

Хальчицкий С.Е.

Российский научный центр радиологии и хирургических технологий МЗ РФ
Ленинградская ул. 70, пос. Песочный, Санкт-Петербург 197758, Россия
Тел. +7 9045539555, e-mail: s_khalchitski@mail.ru

Как известно, полимеразная цепная реакция в ее нынешнем виде была изобретена американским биохимиком Кэри Муллисом в 1983 г. Тем не менее, впервые идея амплификации ДНК с помощью пары коротких одноцепочечных молекул ДНК – синтетических праймеров была предложена в начале 1970-х годов в лаборатории Хара Гобинды Кораны – нобелевского лауреата по физиологии и медицине 1968 г. Тогда эта идея не была реализована достаточно совершенно, и только Кэри Муллис, используя ДНК-полимеразу из термофильных бактерий, придал этой идее изящный и технологичный вид, за что получил в 1993 г. Нобелевскую премию. Первая публикация по методу ПЦР появилась в ноябре 1985 года в журнале Science. Однако в описанном методе в качестве фермента использовался фрагмент Кленова ДНК-полимеразы I, что существенно снижало эффективность ПЦР, т.к. фермент инактивировался при высокой температуре, необходимой для разделения цепей ДНК, и его приходилось добавлять в реакционную смесь после каждого цикла. В 1988 году метод полимеразной цепной реакции был существенно улучшен. Было предложено использовать ДНК-полимеразу из термофильных бактерий. Этот фермент оказался термостабильным и был способен выдерживать множество циклов реакции. Это позволило упростить и автоматизировать проведение ПЦР.

В отделе молекулярной радиобиофизики (ОМРБ) Ленинградском институте ядерной физики в 1984 г. сформировалась группа молодых, амбициозных способных исследователей во главе с Е.И. Шварцем, которые были нацелены на решение актуальных задач в области молекулярной генетики человека. В 1985-86 гг. группа занималась конструированием кДНК-библиотеки генов печени на основе бактериофага λ gt10, и мы намеревались использовать ее для анализа генов, связанных с наследственными заболеваниями человека, в частности, фенилкетонурии [1].

Однако когда появились публикации в Science об изобретении метода ПЦР, Евгений Иосифович принял решение как можно быстрее освоить эту технологию и использовать ее для анализа мутационных повреждений человеческого генома. Надо отдать должное Е.И. Шварцу, он обладал колоссальной научной эрудицией, ни одна актуальная публикация по молекулярной генетике человека не оставалась без его внимания, своими знаниями он щедро делился со своими сотрудниками и учениками, постоянно устраивал се-

минары с обсуждением актуальных научных проблем, мы все были в курсе передовых технологий в области молекулярной генетики. Этому способствовало также прекрасное для того времени информационное обеспечение Ленинградского института ядерной физики. В отсутствие интернета нам еженедельно привозили в лабораторию выставку свежих поступлений в Библиотеки Академии наук, где из любого журнала можно было заказать фотокопию статьи и оперативно ее получить.

Итак, было принято решение освоить метод ПЦР. Для этого в нашей лаборатории уже были некоторые предпосылки, которые позволили максимально быстро это сделать. У Евгения Иосифовича были прекрасные отношения с сотрудниками института биоорганической химии, в частности с руководителем лаборатории проф. Ю.А. Берлиным. С помощью его сотрудников мы оперативно синтезировали необходимые олигонуклеотиды, что тогда было весьма непростым делом. Кроме того, непосредственно в нашей лаборатории работал О.К. Кабоев, который еще задолго до ПЦР работал с термофильными бактериями, привозил их культуры из горячих источников Курильских островов и собственноручно занимался выделением термофильной ДНК-полимеразы. Благодаря этим благоприятным обстоятельствам, мы максимально быстро освоили методологию ПЦР, в 1988 г. приступили к работам по анализу мутационных повреждений в β -глобиновом гене у больных талассемией и в гене фенилаланингидроксилазы у больных фенилкетонурией, и уже в 1989 г. появились первые публикации по этим темам в журнале «Биоорганическая химия» [2, 3].

Надо сказать, что несмотря на все благоприятные обстоятельства, работа по освоению ПЦР технологии была не так проста. Очевидно, так всегда бывает у первопроходцев. Это сейчас мы имеем для осуществления ПЦР прекрасную технику в виде автоматических термоциклеров и прочей вспомогательной аппаратуры. А тогда никаких термоциклеров в природе не существовало, и для того, чтобы провести 30-40 циклов ПЦР, ставились в ряд три водяные бани на температуру денатурации, отжига и элонгации, и наша лаборантка Людмила Фролова по секундомеру переносила штатив с пробирками из одной бани в другую. Такая ручная работа была весьма утомительна, но мы были полны энтузиазма и предвкушения грядущих успехов, которые не заставили себя ждать. Алексеем Гольцовым были определены первые мутации в β -глобиновом гене у больных из Азербайджана, где эта мутация обнаруживается наиболее часто, а для нашей питерской популяции началось доскональное изучение мутаций гена фенилаланингидроксилазы у больных фенилкетонурией. В этом деле нам помогали врачи-генетики из медико-генетической консультации, в частности, прекрасный доктор, энтузиаст Софья Петровна Максимова.

Слух о том, что Ленинградском институте ядерной физики освоен новый революционный метод диагностики, моментально разлетелся по Ленинграду и по всей стране. К нам потянулись коллеги из многих институтов для освоения этого метода. Одними из первых приехали тогда Татьяна Иващенко

и Михаил Асеев, которые на тот момент являлись молодыми сотрудниками лаборатории, возглавляемой В.С. Барановым. Из НИИ онкологии зачастил молодой доктор Евгений Имянитов. А дальше уже пошел шквал командированных из городов и весей нашей необъятной страны и из-за рубежа: Москва, Азербайджан, Новосибирск, Польша и т.д.

Открытие ПЦР, не побоюсь этого слова, явилось революционным событием в области молекулярной генетики. Те работы, которые мы задумывали совершить путем многотрудных экспериментов с помощью геномных и кДНКовых библиотек, с помощью ПЦР, совершались фантастически быстро. Достаточно было знать нуклеотидную последовательность интересующего участка генома, заказать праймеры и уже через несколько дней мы получали информацию о наличии мутаций и полиморфизмов у интересующего нас пациента.

Первые работы, как я уже говорил, начались с исследования мутаций при талассемии и фенилкетонурии. β -талассемия, как известно, тяжелое наследственное заболевание, связанное с мутациями в гене β -глобина. Оно распространено в странах Средиземноморья, Западной Азии и Северной Африки. В Советском Союзе очаги талассемии имелись в Азербайджане, где в равнинных районах гетерозиготная бета-талассемия наблюдается у 7—10 % населения.

Так получилось, что из гематологического центра в Москве к нам поступил биологический материал больных талассемией, и мы впервые в Советском Союзе определили спектр мутаций при этом заболевании. Эту работу блестяще провел молодой сотрудник Е.И. Шварца Алексей Гольцов. Также параллельно шла работа по выявлению спектра мутаций у больных фенилкетонурией. Фенилкетонурия распространена во всех европейских популяциях, в том числе и в России. Начало работы с фенилкетонурией связано с пионерскими работами С.А. Нейфаха и А.М. Шапошникова, которые в 1965 году «открыли» фенилкетонурию в Советском Союзе [4]. А.М. Шапошников и коллектив его лаборатории, где мне посчастливилось работать в 70-х гг., настойчиво и успешно изучали фенилкетонурию на биохимическом уровне. Были исследованы нарушения метаболизма фенилаланина и тирозина при этом заболевании, исследовалась активность фермента фенилаланин-гидроксилазы, проводился поиск больных ФКУ по различным лечебным учреждениям, внедрялись программы массового скрининга новорожденных [5,6]. В этом неоценимая заслуга проф. А.М. Шапошникова, который благодаря своим талантам ученого и организатора наладил массовый скрининг больных ФКУ в медико-генетической консультации Ленинграда с помощью врачей-клиницистов, среди которых большую роль сыграла деятельность доктора С.П. Максимовой.

Естественно, я, как молодой сотрудник, был увлечен идеей изучения фенилкетонурии, и, конечно, мечтал о том времени, когда появится возможность исследовать не только биохимические нарушения при фенилкетонурии, но и ее молекулярно-генетические основы. И это время пришло, когда я с

1984 г. стал работать в лаборатории Евгения Иосифовича. Поскольку уже были налажены связи с медико-генетической консультацией и другими лечебными учреждениями, с набором материала для исследований проблем не возникало. Через несколько месяцев работы появились первые публикации по молекулярно-генетическим основам фенилкетонурии. Это был 1989 год, и нам удалось опубликовать свои результаты в ведущих советских и зарубежных журналах: Биоорганическая химия, Lancet, Nucleic Acids Research, Human Heredity [3, 7-9]. Кроме того, мы придумали оригинальную идею о ПЦР на ДНК, иммобилизованной на различных носителях – тест-полоски Гатри, капроновые фильтры и т.д., - что значительно упростило сохранение и передачу биологического материала для последующего анализа. В этом тоже несомненный мировой приоритет лаборатории Е.И. Шварца [7,8].

Также Е.И. Шварц инициировал работы по созданию первых в СССР амплификаторов ДНК (термоциклеров). До этого, как я уже упоминал, ПЦР проводилась вручную, перемещением проб между тремя термостатами. Первые автоматические термоциклеры были разработаны в компании Cetus Corp., где тогда работал нобелевский лауреат Кэри Муллис, и для советских исследователей они были в то время недоступны. Пришлось создавать автоматические амплификаторы своими силами, и в этом большая заслуга ученых ЛИЯФ. По инициативе Евгения Иосифовича группа, возглавляемая талантливым исследователем Александром Третьяковым, создала первый советский амплификатор на элементах Пелтье. Конечно, первые приборы были весьма несовершенны, не всегда точно держали температуру, но это был огромный шаг вперед в облегчении нашей работы. Затем последовали более совершенные модели, а через пару лет у нас появился, наконец, и первый импортный амплификатор фирмы Cetus. Тематика наших исследований расширялась, привлекались новые сотрудники для решения новых, амбициозных задач.

Была начата работа по изучению генов, определяющих сердечно-сосудистую патологию, другие заболевания, и расскажут об этих достижениях лаборатории Е.И. Шварца его сотрудники, непосредственно участвовавшие в этих программах.

Список цитированных работ

1. Хальчицкий С.Е., Ищенко И.Д., Гольцов А.А., Качурин А.Л., Кавсан В.М., Ланцов В.А., Шварц Е.И. Конструирование и характеристика кДНКовой клонотeki эмбриональной печени человека на основе бактериофага λ gt10 // Препринт ЛИЯФ АН СССР, 1987. - С. 1-19.
2. Гольцов А.А., Сурин В.Л., Лукьяненко А.В., Алексеев А.А., Кабоев О.К., Виноградов С.В., Соловьев Г.Я., Берлин Ю.А., Шварц Е.И. Характер двух мутационных повреждений β -глобинового гена при β^0 -талассемии в Азербайджане // Биоорганическая химия, 1989, т. 15, № 7. – С. 1001-1002

3. Скрыбин Б.В., Ковальчук Л.А., Хальчицкий С.Е., Гольцов А.А., Кабоев О.К., Плуталов О.В., Берлин Ю.А., Шварц Е.И. Определение природы мутационного повреждения в 12-м экзоне фенилаланингидроксилазного гена у больных фенилкетонурией // Биоорганическая химия, 1989, т. 15, №12. – С. 1690-1692.
4. Нейфах С.А., Шапошников А.М. Биохимико-генетические представления о фенилпировиноградной олигофрении // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 1965, т. 65, № 7. – С. 1104-1113.
5. Шапошников А.М., Хальчицкий С.Е. Наследственные нарушения обмена фенилаланина (фенилкетонурия) // В кн. Наследственные болезни обмена веществ у детей, Л., Медицина, 1978. – С. 41-55.
6. Шапошников А.М., Барашнев Ю.И., Хальчицкий С.Е., Корнейчук В.В., Окатьев В.С. Активность фенилаланингидроксилазы печени при классической форме фенилкетонурии // Вопросы охраны материнства и детства, 1978, т. 23, №6, - С. 42-47.
7. Schwartz E.I., Khalchitsky S.E., Eisensmith R.C. and Woo S.L.C. Polymerase chain reaction amplification from dried blood spots on Guthrie cards // The Lancet, 1990, v. 336, Issue 8715. - P. 639-640.
8. Skryabin B.V., Khalchitsky S.E., Kuzjmin A.I., Kaboev O.K., Kalinin V.N. and Schwartz E.I. A crude lysate of cells immobilized on solid support can serve as a matrix for enzymatic DNA amplification // Nucleic Acids Research, 1990, v. 18, No. 14. P. 4289.
9. Charikova E.V., Khalchitsky S.E., Antoshechkin A.G., Schwartz E.I. Distribution of some point mutations in the phenylalanine hydroxylase gene of phenylketonuria patients from the Moscow region // Human Heredity, 1993, v.43, №4. - P. 244-249.

**Список диссертационных исследований выполненных
под руководством проф. Е.И. Шварца**

Редкие заболевания:

Пионерские работы по применению ПЦР для изучения молекулярно-генетической основы наследственных (моногенных) болезней:

1. Гольцов Алексей Анатольевич, к.б.н., 1990

"Мутационные повреждения β -глобинового гена человека, определяющие развитие некоторых форм β -талассемии в Азербайджане",

2. Джони Одай, к.м.н., 1994,

"Молекулярные основы фенотипической вариабельности при фенилкетонурии у детей",

3. Барановская Светлана Станиславовна, к.б.н., 1996,

"Молекулярно-генетический анализ фенилкетонурии в Санкт-Петербурге»,
03.00.04 – биохимия

4. Потапова Ольга Юрьевна, к.б.н., 1994,

"Молекулярно-генетический анализ кистозного фиброза в России», 03.00.04
– биохимия

5. ШакирХалид, к.б.н., 1999

Спектр мутационных повреждений гена рецептора липопротеидов низкой плотности в популяции больных семейной гиперхолестеринемией г. Санкт-Петербурга

Молекулярная педиатрия и липидология**1. Васина (Ларионова) Валентина Ильинична, к.м.н., 1997**

«Липиды крови и ДНК- полиморфизмы апопротеиновых генов у детей и подростков в оценке предрасположенности к развитию атеросклероза»,
14.00.09 – педиатрия

2. Образцова Галина Игоревна, к.м.н., 1998,

«Структурные показатели миокарда и генетический полиморфизм ангиотезинпревращающего фермента у детей с нормальным и повышенным уровнем артериального давления», 14.00.09 – педиатрия

Молекулярная оториноларингология**Маркова Татьяна Геннадьевна, к.м.н., 1999,**

«Клиническое и молекулярно-генетические исследование синдрома Ваарденбурга I типа», 14.00.04 – болезни уха, горла и носа, 03.00.15 – генетика

Молекулярные основы сердечно - сосудистых заболеваний**1.Шевцов Сергей Петрович, к.б.н., 1995,**

«Аллельные распределения генов АРОВ, АРОС3 и АРОЕ и липидные показатели у больных с инфарктом миокарда», 03.00.04 – биохимия

2. Попов Валерий Витальевич, к.м.н., 1998,

«Показатели углеводного и липидного обмена и полиморфизм ДНК в области гена ангиотензин-превращающего фермента и гена аполипопротеина СIII у пациентов молодого возраста с пограничной артериальной гипертензией», 14.00.06. – кардиология

3. Гукова Светлана Павловна, к.м.н., 1998,

«Значение структурных особенностей ДНК в области генов ангиотензин-превращающего фермента и аполипопротеина E для развития инфаркта миокарда», 14.00.06. – кардиология

4. Фомичева Екатерина Викторовна, к.б.н., 1999,

«Роль структурных полиморфизмов генов ренин-ангиотензинового каскада в развитии инфаркта миокарда», 03.00.04 – биохимия

5. Волкова Мария Владимировна, к.б.н., 2000,

Вариабельность концентрации липопротеина (а) и ингибитора активатора плазминогена 1 типа в норме и при инфаркте миокарда», 03.00.04 – биохимия

6. Папаян Карина Альбертовна, к.м.н., 2000,

«Патогенетические механизмы развития артериальных и венозных тромбозов у детей и лиц молодого возраста», 14.00.29 – гематология и переливание крови, 14.00.09 – педиатрия

7. Шейдина Анна Михайловна, к.б.н., 2000,

«Молекулярно-генетические основы предрасположенности к варикозному расширению вен и тромботическим осложнениям», 03.00.04 – биохимия

8. Демидова Дина Валерьевна, к.м.н., 2001,

Роль структурных полиморфизмов генов липопротеиновой липазы и аполипопротеинов E и СIII в предрасположенности к гипертриглицидемии и инфаркту миокарда», 03.00.04 – биохимия

9. Баженова Елена Анатольевна, к.м.н., 2002,

«Функциональные изменения системы гемостаза и полиморфизмы генов этой системы у мужчин, перенесших инфаркт миокарда в молодом возрасте», 14.00.06. – кардиология

10. Беркович Ольга Александровна, д.м.н., 2002,

«Состояние эндотелия сосудов и структурные полиморфизмы кандидатных генов у мужчин, перенесших инфаркт миокарда в молодом возрасте», 14.00.06. – кардиология, 03.00.15 – генетика

11. Сироткина Ольга Васильевна, к.б.н., 2003,

«Молекулярно-генетические основы развития предрасположенности к артериальным тромбозам», 03.00.04 – биохимия

12. Ларионова Валентина Ильинична, д.м.н., 2005

" Клинико-генетический анализ предраспооженности к развитию атеросклероза у детей и подростков", 14.00.09 – педиатрия, 03.00.15 – генетика

13. Родыгина Татьяна Ивановна, к.м.н., 2007

«Молекулярная диагностика наследственной предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям: варианты генов параоксоназы 1 и кассетного транспортера ABCA1 как фактора риска», 03.00.04 – биохимия, 14.00.46 – клиническая лабораторная диагностика

Молекулярная неврология:

1. Пчелина Софья Николаевна, к.б.н., 2000,

«Молекулярно-генетические основы предрасположенности к болезни Паркинсона», 03.00.15 – генетика

Молекулярная эндокринология:

1. Шуцкая Жанна Владимировна, к.м.н., 2000,

«Клинико-генетические особенности развития диабетической нефропатии при сахарном диабете I типа у детей», 14.00.09 – педиатрия

Молекулярная пульмонология:

1. Янчина Елена Дмитриевна, к.м.н., 2004,

«Вклад структурных полиморфизмов генов глутатион-S-ансфераз, матриксной металлопротеазы 9 и фенотипов сывороточного белка гаптоглобина в формирование наследственной предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких», 14.00.43-пульмонология, 03.00.15 – генетика

2.Ивчик Татьяна Васильевна, д.м.н., 2004,

«Роль наследственных факторов в формировании и прогнозировании хронической обструктивной болезни легких», 14.00.43-пульмонология, 03.00.15 – генетика

Исследования, проведенные сотрудниками кафедры медицинской генетики в начале 90-х годов:

Пушнова Е.А. (США, Россия)

1. Работы по изучению митохондриальной ДНК

ДНК - дактилоскопия анализом митохондриальной ДНК

2. Работы по изучению молекулярных основ иммунопатологии человека

Поиск генетических ассоциаций с аутоиммунными заболеваниями

3. Работы по изучению основ болезни Паркинсона

Modern free software for the statistical analysis in molecular medicine and genetics

Khromov-Borisov N.N.

Vreden Russian Research Institute of Traumatology and Orthopedics
Vyazemsky lane, 6-196, St. Petersburg 197022, Russian Federation
+7 952 204 8949; Nikita.KhromovBorisov@gmail.com

Key words: free software, statistical software, data analysis, biomedical statistics, genetic association studies, population genetics

This list is dedicated to practical acquaintance with the modern nonprofit software for statistical analysis in molecular medicine and population genetics.

General Purpose Programs

R - free software environment for statistical computing and graphics and RStudio - powerful and productive user interface for R. <http://www.r-project.org/>
<http://www.rstudio.com/>

WinBUGS and OpenBUGS – statistical software for Bayesian analysis Markov chain Monte Carlo methods. <http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/software/bugs/>

PAST – free software for scientific data analysis. <http://folk.uio.no/ohammer/past/>

Instat+: general statistical package. http://www.reading.ac.uk/ssc/n/n_instat.htm

ESCI – Exploratory Software for Confidence Intervals. Accompanies the book Cumming G. *Understanding The New Statistics: Effect Sizes, Confidence Intervals, and Meta-Analysis*. - New York: Routledge, 2012. – 535 p.

<http://www.latrobe.edu.au/psy/research/cognitive-and-developmental-psychology/esci>

Resources to calculate confidence intervals for proportions and related quantities, and display appropriate plots. Accompanies the book: Newcomb R.G. Confidence Intervals for Proportions and Related Measures of Effect Size. - CRC Press, 2012. – 468 p.

<http://medicine.cf.ac.uk/primary-care-public-health/resources/>

LePAC - Program for the Analysis of Comparisons – a statistical software for the analysis of experimental data, especially devoted to Bayesian inference – and

LePrep (Probabilities of replication). <http://lmrs.univ-rouen.fr/Persopage/Lecoutre/ErisA.html>

G*Power - Statistical power analyses for many different tests.

<http://www.gpower.hhu.de/>

Harold Kaplan's statistics pages. <http://www.printmacroj.com/statistics.htm>

John C. Pezzullo's StatPages – comprise a powerful, conveniently-accessible, multi-platform software package. <http://statpages.org/>

Population Genetics Software

GENEPOP and **GENEPOP on the Web** – population genetics software.

<http://kimura.univ-montp2.fr/~rousset/Genepop.htm> and

<http://genepop.curtin.edu.au/>

GenAIEx 6.5 – Genetic Analysis in Excel.

<http://biology.anu.edu.au/GenAIEx/Welcome.html>

GDA – Genetic Data Analysis.

<http://www.eeb.uconn.edu/people/plewis/software.php>

Accompanies the book: **Weir B.S. *Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data.*** - Sinaur Associates, 1996. – 376 p.

PowerMarker – a comprehensive set of statistical methods for genetic marker data analysis. <http://statgen.ncsu.edu/powermarker/>

Arlequin – an integrated software for population genetics data analysis.

<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/>

SNPStats – Web tool for SNP analysis.

<http://bioinfo.iconcologia.net/snpstats/start.htm>

SNPstat - program for genetic association analysis.

<http://www.jurgott.org/linkage/SNPstat.html>

S2 ABOestimator – a program to estimate the allele frequencies of the ABO blood group system.

<http://webpages.fc.ul.pt/~pjns/Soft/ABOestimator/>

Tests for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium and tests for association in the case-control studies. <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>

Assotest and **Web-Assotest** – a program for the analysis of the genetic associations. <http://www.ekstroem.com/software.php>

Reference Value Advisor – a set of macroinstructions for Excel that compute reference intervals. <http://www.biostat.envt.fr/spip/spip.php?article63>

Forensic Genetics

Familias - a free software for probability calculations when inferring paternity and identification based on DNA data. <http://familias.no/english/>

Forensic Software Resources. <http://www.isfg.org/Software>

Educational Software

WinStats – tutorial program for the problems in probability theory and statistics. <http://math.exeter.edu/rparris/winstats.html>

SUStats - Software for Understanding Statistics - a suite of Java programs designed to support the teaching of some statistical concepts in non-mathematical introductory statistics courses

<http://www.jsc.nildram.co.uk/examples/sustats/SUStats.html>

An Alphanumeric List Genetic Analysis Software.

<http://www.jurgott.org/linkage/ListSoftware.html>

Original Program

DiagStat.xls - statistical quality control of diagnostic tests with the binary outcomes. Available from the author upon request.

**Metabolic therapy of metabolic disorders caused by chronic course
of hepatitis C**

Pozdeev V.K.

Research Institute of Influenza of Ministry of Public Health of the Russian Federation

Prof. Popov street 15/17, St. Petersburg, 197376, Russian Federation

Tel. +7(911)984-17-52, e-mail: vkpozdeev@mail.ru

Key words: aminothiols, amino acids, plasma, HPLC, hepatitis C, metabolic therapy

Introduction: The pathogenesis of hepatitis C is defined as the disorder of hepatic function caused by an infectious process leading to hyperhomocysteinemia, glutamate excitotoxicity, taurine deficiency [1] and hepatic encephalopathy. On the other side, the therapy with pegylated interferon- α leads to a severe drug-related toxicity that results in a cumulative effect. Hepatitis C is also associated with overlap syndrome that occurs in 40-65% of patients, thyroid disorders in 5.2-12.5% of patients [2], insulin resistance, fatty infiltration, fibrosis, increase in lipid peroxidation, and active oxygen radicals formation [3]. The metabolic therapy may markedly decrease negative effect of metabolic derangements and increase the effectiveness of hepatitis C therapy with peg-interferon plus ribavirin.

Materials and methods: The levels of total homocysteine (tHCy), total cysteine (tCys), total glutathione (tGSH) and free amino acids (Asp, Asn, Glu, Gln, Tau, Ser) were studied in plasma of 55 patients with hepatitis C and 14 healthy volunteers (control group) by HPLC method [1].

Results: Statistical analysis showed that hepatitis C is associated with hyperhomocysteinemia (2.5-fold increase in the level of tHCy, $15.9 \pm 4.7 \mu\text{M}$ vs $6.2 \pm 2.4 \mu\text{M}$ in controls), hypercysteinemia (1.5-fold increase in the level of tCys, $252.8 \pm 49.7 \mu\text{M}$ vs $172.3 \pm 31.5 \mu\text{M}$ in controls), glutamate excitotoxicity (2.75-fold increase in the level of Glu, $32.2 \pm 16.9 \mu\text{M}$ vs $11.7 \pm 7.1 \mu\text{M}$ in controls), taurine deficiency (1.4-fold decrease in its content, $29.2 \pm 8.8 \mu\text{M}$; $40.9 \pm 13.2 \mu\text{M}$ in controls), and 1.56-, 1.75-, 1.32-, 1.4-fold increase in the levels of Gln ($821.0 \pm 134.0 \mu\text{M}$ vs $524.5 \pm 96.2 \mu\text{M}$ in controls), Asp ($2.8 \pm 0.8 \mu\text{M}$ vs $1.6 \pm 0.6 \mu\text{M}$ in controls), Asn ($64.7 \pm 15.8 \mu\text{M}$ vs $49.0 \pm 10.3 \mu\text{M}$ in controls), Ser ($105.7 \pm 21.1 \mu\text{M}$ vs $75.2 \pm 21.7 \mu\text{M}$ in controls), respectively ($p < 0.001$). The analysis by constructing polygons of the frequencies of tGSH, tCys и Gln levels in plasma showed heterogeneity of

hepatitis C pathochemistry; however, the levels of tHCy, Glu и Asp remained high relative of the levels of other compounds indicating, that hyperhomocysteinemia and glutamate excitotoxicity. In patients with higher levels of tGSH ($11.8 \pm 2.6 \mu\text{M}$ vs $8.2 \pm 1.4 \mu\text{M}$ in controls, $p < 0.001$) and Gln ($1114.0 \pm 84.6 \mu\text{M}$ vs $524.5 \pm 96.2 \mu\text{M}$ in controls, $p < 0.001$) glutamate excitotoxicity was less obvious - levels of Glu ($22.6 \pm 10.8 \mu\text{M}$ and $22.5 \pm 10.7 \mu\text{M}$, respectively) and Asp ($2.7 \pm 0.8 \mu\text{M}$ and $2.8 \pm 0.7 \mu\text{M}$, respectively) were increased with lesser degree. There was a positive correlation between the levels of tGSH, Gln, tCys, and Ser ($r = 0.521$, $p = 0.003$). In contrast, in patients with low levels of tGSH ($6.6 \pm 1.4 \mu\text{M}$) and Gln ($705.8 \pm 46.6 \mu\text{M}$) glutamate excitotoxicity was most obvious, with levels of Glu ($32.5 \pm 13.3 \mu\text{M}$ and $31.4 \pm 13.2 \mu\text{M}$, respectively) and Asp ($3.2 \pm 0.8 \mu\text{M}$ and $2.7 \pm 0.8 \mu\text{M}$, respectively) increased to a greatest degree.

Discussion: According to the data from literature, it is possible to enhance a positive effect of pegylated interferon- α plus ribavirin and to prevent metabolic disorders by using metabolic therapy which includes following steps. (4) Correction of cholesterol synthesis and fatty acid metabolism with modulators (pitavastatin 2 mg/day and eicosapentaenoic acid 1.8 mg/day) reduces fatty infiltration and HCV virus replication [4]. (2) Decrease in insulin resistance by insulin sensitizers metformin and thiazolidinediones [3]. (3) Controlled therapy with vitamins decreasing a negative effect of hyperhomocysteinemia that activates homocysteine catabolism: by trans-sulfation into cystathionine with the help of cystathionine- β -synthase and vitamin B₆ (40-80 mg of pyridoxal phosphate 2-5 times/day for 1-2 months); by re-methylation into methionine by activated methionine synthase (vitamin B₁₂ is administered intramuscularly at a dose of 100 mg every other day for 1-1,5 months) and methylenetetrahydrofolate reductase (folic acid from 100-200 to 400 mcg/day by mouth for 1-2 months) [1]. (4) Non-enzymatical reducing active oxygen species by classic antioxidants, vitamins A, C, E, carotenoids: α -tocopherol from 100-300 mg/day intramuscularly or by mouth for 2-3 weeks (in non-diabetic adults); vitamin A – 100 000-300 000 ME/day by mouth for 1-2 months; vitamin C – 300-500 mg by mouth 2 times/day for 1-2 months [1]. (5) Patients with vitamin D deficiency should ingest foods high in vitamin D, such as fishes and mushrooms [5]. (6) Control of blood level of selenium [1]. (7) Taurine therapy is administered by 400 mg 1-2 times/day by mouth after meals for 2 months [1]. (8) Administration of N-acetyl-cysteine by mouth to increase the level of GSH for patients with hypocysteinemia. (9) In the case of flow cholestasis, take ursodeoxycholic acid by mouth 250 mg 2-4 times/day until complete resolution [4]. (10) Control of consumption of proteins to decrease the formation of ammonia in the gut [5]. (11) Homocysteine and mercaptans (metabolites of methionine) contribute significantly to hepatic encephalopathy and, therefore, methionine is contraindicated in hyperhomocysteinemia [1].

References:

1. Pozdeev V.K., Pozdeyev N.V. 2013. Neurochemical methods of investigations in the clinic. Saint-Petersburg: Renome, 312 p.

2. Leuschner U. 2001. Overlap syndromes. Atypical manifestations of autoimmune hepatitis. Dr Fal. Pharma GmbH, 44 p.
3. Zekry A. et al. 2005. Insulin resistance and steatosis in hepatitis C virus infection. Gut Jul, 54: 903-906.
4. Enjoji M. et al. 2012. Metabolic disorders and steatosis in patients with chronic hepatitis C: metabolic strategies for antiviral treatments. Int J Hepatol, 2012: Article ID 264017, 7 p.
5. Yasutake K. et al. 2014. Dietary habits and behaviors associated with nonalcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol, 20: 1756-1767.

Применение клеточной терапии у онкологических больных после химиотерапии

Смолянинов А.Б.^{1,2}, Адылов Ш.Ф.¹

¹ «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург, Россия

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: стволовые клетки, клеточная терапия, пуповинная кровь

Cell therapy using in cancer patients after chemotherapy

Smolianinov A.B.^{1,2}, Adilov Sh. F.¹

¹ Stem cell bank Pokrovsky, Ltd, St. Petersburg, Russian Federation

² Mechnikov's Northwestern State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Keywords: stem cells, cell therapy, umbilical cord blood

Введение: В последние годы трансплантация стволовых клеток (СК) пуповинной крови получает все более широкое применение в комплексных схемах лечения злокачественных новообразований, в частности сочетании с рентгено- и химиотерапией [1-3]. Тем не менее, должного практического опыта использования СК пуповинной крови для восстановления гемо- и иммунопоэза у онкологических пациентов, проходящих курсы цитостатической терапии пока недостаточно [2, 3].

Материалы и методы: Двадцать клинических наблюдений трансплантации СК пуповинной крови пациентам с солидными опухолями III-IV стадии на фоне лучевой и химиотерапии. Возраст больных от 25 до 70 лет, средний возраст – 52,5 лет. Мужчин - 9, женщин - 11. Регенеративная терапия проводилась на базе Медицинского Центра Покровский «Покровского банка стволовых клеток» (Санкт-Петербург) и НИЛ клеточных технологий Северо-Западного Государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова. Использовалась моноклеарная фракция пуповинной крови из Общественного регистра доноров стволовых клеток пуповинной крови. Средний объем клеточного концентрата для трансплантации составлял 25 мл, об-

щее количество ядродержащих клеток $1600 \times 10^6/\text{л}$, CD34+ клеток $4,0 \times 10^6/\text{л}$, жизнеспособность ядродержащих клеток перед трансплантацией 85%. Подбор образцов СК пуповинной крови осуществляли по группе крови и резус-фактору. Мононуклеарную фракцию пуповинной крови вводили внутривенно капельно через 2-3 суток после сеанса химиотерапии. Применяли пятикратный курс химиотерапии и введений мононуклеарной фракции пуповинной крови.

Результаты: После введения мононуклеарной фракции у пациентов через 2-3 суток наблюдалось значительное улучшение общего состояния, повышение аппетита. Ни в одном случае не наблюдались тошнота и рвота. Уменьшилась слабость. Пациенты начинали прибавлять в весе. Качество жизни по опроснику SF 36 до введения СК пуповинной крови составляло 74-40 баллов (средний уровень), после лечения - 97-75 баллов (хороший уровень). Установлена положительная динамика показателей периферической крови. После проведения пятикратного курса химиотерапии и трансплантаций СК пуповинной крови пациентам с колоректальным раком содержание эритроцитов увеличивалось в среднем с $3,33 \times 10^{12}/\text{л}$ до $4,2 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобина с 81 г/л до 110 г/л, лейкоцитов с $2,24 \times 10^9/\text{л}$ до $5,1 \times 10^9/\text{л}$. При проведении комбинированной терапии пациенту с мелкоклеточной карциномой печени наблюдалось также значительное снижение содержания в крови АЛТ с 106 Ед/л до 27 Ед/л, АСТ с 179,0 Ед/л до 16 Ед/л, щелочной фосфатазы с 152,0 Ед/л до 66 Ед/л, альфафетопротеина с 45-68 МЕ/мл до 3,17-9 МЕ/мл.

Заключение: Таким образом, результаты применения мононуклеарной фракции аллогенной пуповинной крови свидетельствуют о целесообразности проведения данного вида клеточной терапии для активации восстановительных процессов в органах и тканях онкологических больных, получающих цитостатическое противоопухолевое лечение. Есть все основания полагать, что трансплантация СК пуповинной крови может позволить увеличить химиотерапевтическую дозу противоопухолевых препаратов без развития выраженных побочных цитостатических эффектов.

Список литературы:

1. Broxmeyer H.A. 2011. Public cord blood banking. In: Broxmeyer H.A., ed. Cord blood, biology, transplantation banking and regulation. Bethesda, Maryland, AABB Press, p. 596-600.
2. M de Lima¹, J McMannis¹, A Gee et al. Transplantation of ex vivo expanded cord blood cells using the copper chelator tetraethylenepentamine: a phase I/II clinical trial // Bone Marrow Transplantation. – 2008. – P.1–8.
3. Tony Peled,¹ Efrat Landau,¹ Eugenia Prus et al. Cellular copper content modulates differentiation and self-renewal in cultures of cord blood-derived CD34+ cells // British Journal of Haematology. – 2002. – N 116. – P. 655–661.

**Кооперация врачей в медицинских учреждениях
как условие повышения качества медицинской услуги**

Акулина Т.И.

Санкт-Петербургское отделение ВШЭ, Россия
+ 7-921-996-93-64, akulinati@yandex.ru

Ключевые слова: кооперация, специализация, врач, медицинский работник, медицинская организация, труд, конфликт интересов, автономия, пациент

**Cooperation of physicians at medical institutions as a condition of improving
medical service quality**

Akulina T.I.

St. Petersburg branch of the Research University "Higher School of Economics"
Tel.: + 7-921-996-93-64, akulinati@yandex.ru

Key words: cooperation, specialization, doctor, medical professional, medical organization, work, conflict of interest, autonomy, patient

Специализация медицинской помощи, связанная с внедрением научных достижений в области медицины с одной стороны, и с невозможностью отдельным врачом-специалистом их использовать с другой стороны, порождает на практике весьма серьезные юридические вопросы, связанные с качеством медицинской услуги. Рост медицинской специализации привел к возникновению проблем, часть которых вызвана отсутствием необходимой кооперации в сфере медицинского труда, позволяющей сбалансировать существующую в данной сфере специализацию.

На основе кооперации врачебного труда у отдельного медицинского работника появляется возможность доступа ко всему массиву знаний и умений, которым обладает медицинское сообщество в целом. Такой доступ представляет собой инструмент достижения наиболее важных для медицинского работника и пациента целей – выбора и использования наиболее эффективных способов предупреждения и лечения заболеваний и повышения качества медицинской услуги. В настоящее же время во многих случаях (особенно при лечении пациента в больницах), отсутствие кооперации и непрерывности (преемственности) оказания медицинской помощи может привести к причинению существенного вреда жизни и здоровью пациента. Такая ситуация создает существенный риск не только чрезмерных назначений пациенту и расходов, но также несоответствующей маршрутизации помощи и ее ненадлежащего качества.

В российском законодательстве содержится значительное число норм, гарантирующих кооперацию в сфере врачебного труда (подп. 3 п. 5 ст. 19, п. 4 ст. 22, п. 3 ст. 26, п. 8 ст. 35, п. 2 ст. 70, п. 1 ст. 71 (далее – Основы), ч.ч. 1, 2 ст. 41 Конституции РФ).

Вместе с тем, кроме врачебной кооперации, осуществляемой исключительно в интересах пациента (позитивная кооперация), существует и врачебная кооперация, которая сопровождается конфликтом интересов врача и пациента (негативная кооперация). В целях предотвращения возникновения конфликта интересов в сфере медицинского труда законодатель предусмотрел в нормах подп. 1- 6 п. 1 ст. 75 Основ гарантии, которые ограничивают свободу профессиональных действий медицинских работников и руководителей медицинских организаций, препятствуя возникновению подобного конфликта. Вместе с тем представляется, что врач обязан сообщать о существующем конфликте интересов не только руководителю организации или уполномоченному органу, но и в первую очередь тому, на чью жизнь и здоровье может отрицательно повлиять этот конфликт, то есть - пациенту. В связи с ситуацией конфликта интересов следует отметить, что необходимость координации врача с другими лицами может вступать в конфликт с автономией медицинского работника, которая также относится к традиционной особенности медицинского труда. Автономия медицинского работника предполагает его самостоятельность, то есть его подотчетность (по общему правилу) в данной сфере только самому себе и коллегам в медицинской профессии, а также самостоятельное разрешение ситуации конфликта интересов посредством ее недопущения.

В настоящее время медицинский работник подотчетен, и, соответственно, фактически обязан координировать (прямо или косвенно) свои действия с пациентом, зачастую не выполняющим его назначения, и иными лицами, в том числе со своим работодателем (с медицинской организацией), с органами, лицензирующими медицинскую деятельность, с частными и публичными лицами, осуществляющими контроль медицинского работника (в частности, с судами и страховыми организациями). Необходимость подобной координации предполагает существование ситуации, в которой медицинский работник обязан проявлять так называемую «двойную приверженность» - приверженность одновременно и объективным интересам пациента в сфере охраны его здоровья и интересам других публичных и частных лиц [1]. «Двойная приверженность» фактически представляет собой юридически дозволенный конфликт интересов в сфере медицинского труда.

Отказ законодателя от надлежащего учета и обеспечения действия существенного в настоящее время для медицинской профессии и пациентов принципа кооперации может во многом обесценить содержание конституционного права на охрану здоровья и медицинскую помощь и отрицательно повлиять на качество медицинской услуги даже в том случае, когда каждый отдельный врач будет искренне стремиться оказать помощь пациенту наилучшим образом.

Литература

1. Williams J. R. Medical Ethics Manual. 2nd edition. World Medical Association, 2009. P. 66 - 68.

**Аутоиммунные нервно-мышечные болезни: новый взгляд на проблему
(по материалам XIII Международного конгресса по нервно-мышечным
болезням, Ницца, Франция, 5-10 июля 2014 г.)**

Алексеева Т.М.

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Меч-
никова

ул. Кирочная, д.41, Санкт-Петербург 191015, Россия

Тел.: +7 911 139 55 59, e-mail: atmspb@mail.ru

*Ключевые слова: аутоиммунные нервно-мышечные болезни, патогенез, им-
мунотерапия*

**Autoimmune neuromuscular diseases: a new look at the problem
(according to the materials of XIII International Congress
on neuromuscular diseases, Nice, France, July 5-10, 2014)**

Alekseeva T.M.

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

Kirochnaja, 41, St. Petersburg 191015, Russian Federation

Tel.: +7 911 139 55 59, e-mail: atmspb@mail.ru

*Key words: autoimmune neuromuscular disease, pathogenesis, immuno-
therapy*

В июле 2014 г. во Франции, в Ницце состоялся XIII Международный конгресс по нервно-мышечным болезням (НМБ), на котором были представлены современные научные достижения в области патофизиологии, диагностики и лечения НМБ. Основные аутоиммунные НМБ включают заболевания периферических нервов, такие как острая воспалительная полиневропатия, хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия, мультифокальная моторная невропатия с блоками проведения; заболевания нервно-мышечного синапса (миастения гравис, синдром Ламберта-Итона) и воспалительные миопатии (полимиозит, некротизирующий аутоиммунный миозит, дерматомиозит и миозит с включениями). В последние годы патогенез многих иммунозависимых заболеваний стали связывать с дефектами внутриклеточных информационных путей в клетках врожденного иммунитета. С этой точки зрения на конгрессе рассматривалось большинство нейроиммунологических заболеваний, и были представлены современные исследования различных факторов и путей передачи внутриклеточного импульса. Было продемонстрировано значение этих механизмов в патогенезе аутоиммунных НМБ и возможности использования новых знаний в лечебных мероприятиях. Так были представлены лекарственные препараты, которые являются по сво-

ей сути моноклональными антителами животного и человеческого происхождения, которые могут изменить активность дефектных путей передачи.

Были показаны механизмы их влияния на те транскрипционные факторы, молекулы, адапторные белки и т.д., которые функционируют в клетках врожденного иммунитета. Для лечения этой группы заболеваний в настоящее время используют неспецифические иммуносупрессивные или иммуномодулирующие препараты и процедуры, применяемые изолированно или в комбинации друг с другом: глюкокортикостероиды, цитостатические препараты (азатиоприн, метотрексат, циклоспорин, циклофосфамид, микофенолата мопетил), плазмаферез и внутривенные иммуноглобулины (IVIg). Разумное использование иммуносупрессивных препаратов позволяет контролировать аутоиммунный процесс, но их длительное применение вызывает неприемлемые побочные эффекты. Кроме того, они оказываются не всегда эффективными. Достижения в области биотехнологии привели к появлению нового класса препаратов, в основном в форме моноклональных антител или гибридных белков, которые могут быть использованы в качестве мишень-специфической иммунотерапии. Прогресс в изучении иммунопатологии нервно-мышечных заболеваний позволил установить наиболее важные мишени для иммуномодулирующей терапии, к которым относятся в первую очередь ключевые молекулы клеточной поверхности иммунокомпетентных клеток (Т и В - лимфоцитов), играющие фундаментальную роль в развитии иммунного ответа, внутриклеточные сигнальные пути, связанных с их активацией, система комплемента и провоспалительные цитокины (IL-6, IL-17) и их рецепторы.

Поиск путей преодоления резистентности к иммуносупрессивной терапии у больных с аутоиммунными НМБ остается актуальной проблемой. Использование биологических агентов или генно-инженерных биологических препаратов является одним из перспективных направлений фармакотерапии этой тяжелой группы заболеваний. Перспективы применения этих препаратов обсуждаются в контексте патогенеза каждого аутоиммунного заболевания и с учетом основных патогенетических иммунных факторов. Их эффективность и профиль безопасности будут установлены в ближайшем будущем на основании проводимых многочисленных многоцентровых контролируемых исследований.

Литература

1. Abstracts of the 13th International Congress on Neuromuscular Diseases (ICNMD XIII). Journal of Neuromuscular Diseases. 2014. Vol. 1, No.S.1. 370 P.

Альфа-синуклеин крови как биомаркер болезни Паркинсона

Андоскин П.А.^{1,2*}, Емельянов А.К.^{1,2}, Николаев М.А.², Якимовский А.Ф.¹,
Тимофеева А.А.¹, Пчелина С.Н.^{1,2}

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова

²Санкт-Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова,
Россия

ул. Льва Толстого, 6-8, корп. 28, Санкт-Петербург 197000, Россия

*Тел.: +7-812-347-55-46, e-mail: andoskinpavel@gmail.com

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, альфа-синуклеин

Alpha-synuclein as a biomarker of Parkinson's disease

P. A. Andoskin^{1,2*}, A. K. Emelyanov^{1,2}, M. A. Nikolaev², A. F. Yakimovsky¹,
A. A. Timofeeva¹, S. N. Pchelina^{1,2}

¹First Pavlov's State Medical University of St. Petersburg, Russian Federation

*Lev Tolstoy str., 6-8, bld. 28, St. Petersburg 197000, Russian Federation

Tel: +7-812-347-55-46, e-mail: andoskinpavel@gmail.com

²Petersburg Nuclear Physics Institute, Russian Federation

Key words: Parkinson's disease, alpha-synuclein

Введение: Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное нейродегенеративное заболевание. Предполагается, что в основе патогенеза БП лежит агрегация пресинаптического белка альфа-синуклеина, агрегаты которого обнаруживаются в мозге у пациентов с БП. Цель – исследовать возможность использования оценки уровня альфа-синуклеина крови в качестве маркера риска развития БП.

Материал и методы: В исследование были включены группа пациентов с БП (n=18, ср. возраст 67±8.7 лет, от 56 до 82 лет), не получающих лечение препаратами Л-ДОФА, и соответствующая по возрасту и полу контрольная группа (n=23, от 44 до 86 лет средний возраст 65,67±11,27).

Плазма была получена из цельной венозной крови, собранной в вакутейнеры с ЭДТА путем центрифугирования 20 мин, 3000 g. Выделение CD45+ клеток проведено методом магнитного сортирования с использованием магнитного ручного сепаратора MACS (MiltenyiBiotec, США) и колонок miniMACS типа MS (MiltenyiBiotec, США) из незамороженной периферической крови. Далее осуществлялся лизис клеток с использованием набора TotalProteinExtractionKit (Chemicon (Millipore), США). Использованы образцы клеточных лизатов, выравненные по концентрации общего белка (по 6 мкг в образце). Оценка уровня общего и олигомерного альфа-синуклеина проводилась методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием

набора Human alpha-synuclein ELISA kit (Invitrogen, США) и Human Synuclein OLIGO kit (ajRoboscreen, Германия) соответственно, на планшетном спектрофотометре ELx800. Исследования каждого образца проводились в трех повторах. Определение уровня мРНК гена *SNCA* проводилось методом количественной ПЦР в режиме реального времени с использованием смеси Sso Advanced SYBR Green supermix (США) на приборах (CFX96 Real-Time, BioRad, США). Оценка экспрессии гена *SNCA* и референсного гена была проведена с использованием метода $2^{-\Delta\Delta C_t}$. В качестве референсного был использован конститутивно экспрессирующийся в клетках ген *GNB2L1* (guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 2-like). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы SPSS версия 12.0.

Результаты: Оценка общего альфа-синуклеина (в группе пациентов с БП медиана - 3,9 (мин. – 1,62; макс. – 51,11) нг/мл; в группе контроля медиана – 3,88 (мин. – 1,26, макс. – 23,24) нг/мл. $p=0,8$), а также олигомерного альфа-синуклеина (в группе пациентов с БП медиана - 3,6; мин. – 0,73; макс. – 40,94 пкг/мл, в группе контроля медиана – 4,5; мин. – 1,05; макс. – 129,19 пкг/мл, $p=0,65$) в плазме периферической крови у пациентов с БП и в контроле статистически значимых различий не выявила. Было показано некоторое увеличение уровня общего альфа-синуклеина CD45+ клеток крови в группе пациентов с БП по сравнению с контрольной группой (у пациентов с БП– медиана составила: 9,59 (мин – 2,23; макс – 36,80) нг/мл, в группе соответствующего возрастного контроля медиана - 4,81 (мин – 1,21; макс – 28,1) нг/мл), $p=0,04$), в то время как относительный уровень мРНК гена *SNCA* между группами не различался (у пациентов с БП медиана – 0,27 (мин.-0,0006, макс.- 2,74), в контрольной группе медиана – 1,12 (мин.- 0,01, макс.- 7,71), $p>0.05$).

Заключение: Получены предварительные данные, свидетельствующие о возможном увеличении уровня общего альфа-синуклеина CD45+ клеток крови при отсутствии увеличения экспрессии гена *SNCA* у пациентов, что могло бы свидетельствовать о нарушении деградации белка в клетке при БП. Предполагается, что в случае подтверждения полученных данных на большей выборке, уровень общего альфа-синуклеина CD45+ клеток крови можно будет рассматривать в качестве потенциального маркера развития заболевания.

Исследование поддержано грантами РФФИ №13-04-01510; №14-04-31665.

Роль α и β изоформ глюкокортикоидного рецептора при бронхиальной астме, хронической обструктивной болезни легких и перекрестном синдроме

*Белаш В.А. *, Миронова Ж.А., Трофимов В.И., Зарайский М.И., Сазанов А.А., Улитина А.С.*

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

ул. Льва Толстого, 6/8, Санкт-Петербург 197022, Российская Федерация

*Тел.: +7 921 928 22 38, e-mail: vasobelash@rambler.ru

Ключевые слова: изоформы глюкокортикоидного рецептора, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, перекрестный синдром

Role of glucocorticoid receptor alpha and beta isoforms in bronchial asthma, chronic obstructive pulmonary disease and overlap-syndrome

*Belash V.A. *, Mironova Zh.A., Trofimov V.I., Zaraisky M.I., Sazanov A.A., Ulitina A.S.*

Pavlov First St. Petersburg State Medical University

6/8 Lev Tolstoy str., St. Petersburg 197022, Russian Federation

*Tel.: +7 921 928 22 38, e-mail: vasobelash@rambler.ru

Key words: glucocorticoid receptor isoforms, bronchial asthma, chronic obstructive pulmonary disease, overlap-syndrome

Введение: Изоформы глюкокортикоидного рецептора (ГР) α и β являются функциональными антагонистами и имеют ключевое значение в развитии воспаления, но малоизучены у пациентов с бронхиальной астмой (БА), хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и перекрестном синдромом БА+ХОБЛ (ПС).

Цель исследования: Оценить роль экспрессии ГР α и ГР β при БА, ХОБЛ и ПС.

Материалы и методы: Обследованы 89 человек в возрасте $63,4 \pm 10,7$ года: 22 пациента с БА, 21 – с ХОБЛ, 26 – с ПС в фазе обострения и 20 здоровых добровольцев (группа контроля). Методом ПЦР в реальном времени определены уровни мРНК изоформ ГР по отношению к уровню мРНК гена GNB2L1 (эндогенный контроль).

Результаты: В группе контроля уровень мРНК ГР β был ниже, чем уровень мРНК ГР α : [1,516 (0,660; 3,249)] и [9,190 (5,657; 11,314)], соответственно ($U=3,621$; $p=0,001$). Активность изоформ ГР (соотношение ГР α /ГР β) различалась у мужчин и женщин: [4,01 (2,01; 4,52)] и [8,57 (4,92; 28,70)], соответственно ($U=9,000$; $p=0,009$). У пациентов с БА, ХОБЛ и ПС уровни мРНК ГР α ([1,111 (0,407; 1,943)], [0,574 (0,149; 0,842)] и [0,812 (0,574; 1,866)], соответственно) были выше уровней мРНК ГР β

([0,421 (0,149; 1,235)], [0,189 (0,071; 0,250)] и [0,233 (0,117; 0,574)], соответственно) ($Z=-2,572$, $p=0,010$; $Z=-2,329$, $p=0,020$ и $Z=-3,511$, $p<0,001$, соответ-

ственно). Не выявлено различий активности изоформ ГР между группами БА, ХОБЛ и ПС. Исключение составила изоформа ГР β , экспрессия которой у больных БА была в 2 раза выше, чем у больных ХОБЛ: [0,421 (0,149; 1,235)] и [0,189 (0,071; 0,250)], соответственно ($U=87,000$; $p=0,042$).

Увеличение активности ГР α было связано с более благоприятным течением заболеваний, тогда как ее уменьшение обратно коррелировало с дозами ингаляционных глюкокортикостероидов ($r=-0,701$, $p=0,011$) и было ассоциировано с развитием терапевтически резистентной БА ($U=383,000$, $p=0,017$), увеличением числа сопутствующих заболеваний ($r=0,383$, $p=0,001$), снижением качества жизни ($r=0,326$, $p=0,033$). Отмечены положительные корреляции ГР α с концентрациями лейкоцитов ($r=0,713$, $p=0,009$) и нейтрофилов ($r=0,692$, $p=0,013$) в крови в фазе обострения. При ПС были выявлены аналогичные закономерности, характерные как для БА и ХОБЛ, так и для объединенной группы БА+ХОБЛ+ПС.

Заключение: Изоформа ГР α играет протективную роль в течении БА, ХОБЛ и ПС. Увеличение активности ГР β ассоциировано с эозинофильным типом воспаления, а уменьшение – с нейтрофильным типом воспаления.

Высокопроизводительные исследования эпилептических энцефалопатий

Беленикин М.С.

Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗ

РНИМУ им. Н.И.Пирогова

Ул. Авиаторов, д. 38, Москва 119620, Россия

Тел.: +7 925 3795766, e-mail: genetics.npcmpd@gmail.com

Ключевые слова: эпилепсия, эпилептические энцефалопатии, высокопроизводительное секвенирование

High-throughput sequencing of epileptic encephalopathy

Belenikin M.

Research Center for Children Medical Care

Pirogov Russian National Research Medical University

Aviatorov str. 38, Moscow 119620, Russian Federation

Tel.: +7 925 3795766, e-mail: genetics.npcmpd@gmail.com

Key words: epilepsy, epileptic encephalopathy, high-throughput sequencing

Введение: Большое разнообразие неспецифических и перекрывающихся синдромальных и несиндромальных фенотипов эпилепсий усложняет поста-

новку клинического диагноза и проведение генетического тестирования. В процессы эпилептогенеза вовлечено большое число генов. Наиболее информативным и экономически целесообразным является изучение целевых наборов генов при обследовании сфокусированных групп пациентов. В данном исследовании с помощью высокопроизводительного секвенирования мы изучали гены, ассоциированные с эпилептической энцефалопатией, согласно литературным данным. Особое внимание мы уделяли пациентам первых лет жизни с эпилептической энцефалопатией, резистентной к антиэпилептическим препаратам. Задача исследования заключалась в оценке структуры распределения найденных мутаций по генам, а также в поиске не описанных в базах данных миссенс-мутаций с целью их дальнейшего изучения.

Материал и методы: Всего были обследованы 90 человек. Выделение геномной ДНК проводили с использованием протокола выделения на магнитных частицах на станции MagNA Pure LC 2.0, качественную и количественную оценку выделенной ДНК проводили с помощью NanoDrop2000 и Promega QuantiFluor-ST, отбор белок-кодирующих областей проводили с помощью набора олигонуклеотидных зондов NimbleGen, секвенирование - с помощью секвенатора Roche 454 GS Junior. Все этапы пробоподготовки и секвенирования проводили в соответствии с протоколами производителя оборудования и реагентов.

Результаты: Из числа анализируемых генов наибольшее число вариантов было найдено в гене *SCN1A* - 10 (15 чел), из них 3 - нонсенс-мутации; 9 из 10 найденных мутаций не описаны в литературе и базах данных. В других генах были найдены следующие миссенс-мутации (указаны только миссенс-мутации с частотой минорного аллеля менее 0,5%): *SCN1B* - 1 (3 чел), *SCN2A* - 2 (2 чел), *SCN9A* - 1, *NRXN1* - 4 (8 чел), *ZEB2* - 1 (2 чел), *TREX* - 1, *CNTNAP2* - 2 (3 чел), *DLGAP* - 5 (6 чел), *SPTAN1* - 2 (2 чел), *GRIN2A* - 4 (4 чел), *GRIN2B* - 1, *RNASEH2A* - 1, *RNASEH2B* - 2 (3 чел), *CDKL5* - 1, *PCDH19* - 1, *UBE3A* - 1 (2 чел). У трех пациентов в генах *SCN1A* и *NRXN1* были найдены делеции размером более 70 нт и инверсии размером более 300 нт.

Выводы: Анализ небольших по размеру наборов генов может являться достаточно информативным при обследовании сфокусированных групп пациентов и в большинстве случаев достаточным для подтверждения клинического диагноза. Работа проведена при финансовой поддержке Департамента здравоохранения Москвы. Автор выражает благодарность Жилиной С.С., Мещеряковой Т.И., Ананьевой Т.В., Айвазяну С.О. за участие в формировании целевых групп пациентов.

Почечная экспрессия белка α Klotho ассоциирована с гипертрофией миокарда

*Береснева О.Н.¹, Парастаева М.М.¹, Богданова Е.О.¹, Иванова Г.Т.²,
Галкина О.В.¹,
Каюков И.Г.^{1*}, Добронравов В.А.¹.*

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

* Л. Толстого ул. 17, Санкт-Петербург 197022, Российская Федерация
Тел.: +7 9818153949, e-mail: kvaka55@mail.ru

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Российская Федерация
Ключевые слова: дисфункция почек, артериальная гипертензия, индекс массы миокарда, α Klotho, фактор роста фибробластов 23

Renal α Klotho expression is expression is associated with myocardial hypertrophy in spontaneously hypertensive rats

*Beresneva O.N.¹, Parastaeva M.M.¹, Bogdanova E.O.¹, Ivanova G.T.²,
Galkina O.V.¹,
Kayukov I.G.^{1*}, Dobronravov V.A.¹*

¹First Pavlov St. Petersburg State Medical University

* L. Tolstoy str. 17, St. Petersburg 197022, Russian Federation
Phone: +7 9818153949, e-mail: kvaka55@mail.ru

²Institute of Phisiology named after I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation
Key words: renal dysfunction, arterial hypertension, myocardial mass index, α Klotho, fibroblast growth factor 23

Введение: Пациенты с хронической болезнью почек (ХБП) подвержены высокому риску развития сердечно-сосудистых заболеваний, являющихся преобладающей причиной смерти на терминальной стадии ХБП [1,2]. Формирование дисбаланса неорганического фосфата (Pi) является характерной чертой метаболических нарушений при прогрессировании дисфункции почек (ДП). В экспериментальных и клинических исследованиях последнего десятилетия описана связь комплекса факторов, отражающих нарушения метаболизма Pi, с сердечно-сосудистыми рисками: кальцификацией аорты, коронарных артерий и периферических сосудов, гипертрофией левого желудочка и смертностью у пациентов с ХБП [2]. В течение последней декады представления об эндокринной регуляции обмена Pi и её нарушениях при ХБП существенно расширились благодаря открытию фосфотонической системы, включающей фактор роста фибробластов 23 (FGF23) и его корцептор - белок α Klotho [3, 4]. В основном цитируемые исследования выполнены на экспериментальном и клиническом материале с выраженной ДП, в то время как почечные и системные изменения обмена Pi и его регуляции возникают уже на ранних стадиях хронического повреждения почек. Целью данного исследования была экспериментальная проверка гипотезы о наличии возможной

связи между изменениями в системе фактор роста фибробластов 23 (FGF23) / α Klotho и прогрессированием гипертрофии миокарда на ранних стадиях формирования дисфункции почек.

Материал и методы: Для моделирования ДП выполняли резекцию 3/4 (3/4NE; n=9) и 5/6 (5/6NE; n=9) почечной ткани у самцов крыс линии SHR (масса тела 190-230 г), срок эксперимента – 2 месяца. В качестве контроля (К) использовали ложнооперированных животных (n=9). Перед завершением эксперимента у животных измеряли артериальное давление (АД). Анализировали индекс массы миокарда (ИММ, соотношение массы органа к массе животного (мг/г)), содержание белка α Klotho в тубулярном эпителии (иммуногистохимия), концентрации FGF23, интактного паратиреоидного гормона (iPTH) в сыворотке крови (иммуноферментный анализ), а также неорганического фосфата (Pi), креатинина в сыворотке крови и моче. (ДП).

Результаты: Реализованные модели соответствуют клиническим стадиям 1-3 хронической болезни почек. По мере увеличения тяжести хронического повреждения почек относительный прирост креатинина в опытных группах по сравнению с контрольными составлял от 30 до 60%. Содержание Pi в сыворотке крови животных с НЭ(3/4NE: $2,24 \pm 0,20$, $p=0,01$; 5/6 NE: $2,14 \pm 0,23$ mmol/l, $p < 0,001$) снижалось относительно К($2,64 \pm 0,36$ mmol/l) группы, а почечная экскреция Pi (UPi24) статистически значимо увеличивалась (К: $0,49 \pm 0,02$ mmol; 3/4NE: $0,98 \pm 0,13$ mmol, 5/6NE : $1,04 \pm 0,11$ mmol, все $p < 0,001$). Отмечен закономерный рост АД в группах НЭ животных(3/4NE: 204 ± 17 , $p=0,043$; 5/6NE: 210 ± 10 , $p=0,001$) по сравнению с К (190 ± 10 мм рт.ст.). По мере нарастания степени повреждения почек и увеличения ИММ (К: $4,19 \pm 0,07$; 3/4 NE: $4,4 \pm 0,29$, $p=0,044$; 5/5NE: $4,61 \pm 0,25$ mg/g, $p < 0,001$) существенные изменения концентраций FGF23 и iPTH в сыворотке крови не выявлены, в то время как содержание белка α Klotho в почке статистически значимо снижалось (К: $0,22 \pm 0,08$; 3/4NE: $0,21 \pm 0,03$, $p=0,71$; 5/6NE: $0,13 \pm 0,02$, $p=0,007$; p между 3/4 и 5/6 NE $< 0,001$). Мультивариантный анализ показал статистически значимую обратную связь между ИММ и содержанием α Klotho в почке, независимая от влияния других исследуемых факторов, включая уровень артериального давления и степень снижения функции почек.

Заключение: Содержание белка α Klotho в тубулярном эпителии почки ассоциировано с ИММ, что позволяет предполагать участие α Klotho в механизмах ремоделирования миокарда в условиях артериальной гипертензии и дисфункции почек.

Список литературы:

1. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ et al. 1998. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. Am J Kidney Dis, 32: 112 – 119.
2. London G, Alain P, Sylvain J. 2003. Arterial media calcification in end-stage renal disease:

- impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant*, 18: 1731–1740
3. Добронравов ВА. 2011. Современный взгляд на патофизиологию вторичного гиперпаратиреоза: роль фактора роста фибробластов 23 и Klotho. *Нефрология*, 15:11–20
 4. Добронравов ВА, Богданова ЕО. 2014. Патогенез нарушений обмена фосфатов при хронической болезни почек: все ли так ясно, как кажется? *Нефрология*, 18: 42–46.

Неинвазивная диагностика колоректального рака

Бутрович Г.М.^{1,3}, Романова Ю.А.^{1,3}, Мирлина Е.Д.^{1,3}, Хабарова И.Г.², Вострухина О.А.^{1,3}*

¹ПНИЯФ им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Россия

²СПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России

³СПб Политехнический университет, Россия

* г. Гатчина, Орлова роща, Ленинградская обл. 188300, Россия

Тел. +7(905)2592963, e-mail: oavostr@bpc.spbstu.ru

Ключевые слова: неинвазивная диагностика, колоректальный рак, плазма крови, протеомный анализ, протяженные фрагменты, фекальная ДНК

Noninvasive diagnostics of colorectal cancer

Butrovich G.M.^{1,3}, Romanova Y.A.^{1,3}, Mirlina E.D.^{1,3}, Khabarova I.G.², Vostrukhina O.A.^{1,3}*

¹National Research Centre "Kurchatov Institute" FSBI "St. Petersburg Nuclear Physics Institute B.P. Konstantinov", Russian Federation

²First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Russian Federation

³Saint Petersburg State Polytechnical University, Russian Federation

*Gatchina, Leningrad Oblast 188300, Russian Federation

Tel. +7(905)2592963, e-mail oavostr@bpc.spbstu.ru

Key words: noninvasive diagnostics, colorectal cancer, plasma of blood, proteomic analysis, long DNA fragments, fecal DNA

Введение: Онкозаболевание излечимо только в случае его обнаружения в начальной стадии, поэтому на первый план выходит ранняя неинвазивная диагностика опухоли. В последние годы западные и российские исследователи стали изучать возможность выявления и анализа биомаркеров онкологических заболеваний в различных секретах и выделениях человека. Целью данного исследования является разработка алгоритма неинвазивной диагностической процедуры для раннего выявления колоректального рака человека (КРР), основанного на использовании наиболее информативных биомаркеров. Предусматривается рассмотрение двух подходов к решению задачи: 1)

масс-спектрометрический анализ белков плазмы крови, 2) молекулярно-генетический анализ фекальной ДНК.

Материалы и методы: 1) Для поиска биомаркеров КРР в плазме крови человека образцы крови отбирали в вакуумные пробирки с цитратом натрия (3.8%) и центрифугировали при 4000g. Очистка от мажорных белков (альбумин и иммуноглобулины) включала два последовательных хроматографических этапа с использованием следующих носителей: сефароза Cibacron blue и белок-А-сефароза [1]. Далее образцы подвергали двумерному электрофоретическому разделению (2DPAGE), на основе которого проводили сравнение белковых профилей образцов плазмы, полученной от здоровых людей и пациентов с выявленным КРР. 2) Метод протяженных фрагментов ДНК основан на работах Boynton, который продемонстрировал, что фрагменты ДНК, выделенные из стула больных с колоректальными опухолями, имели большую молекулярную массу нежели фрагменты, полученные из стула здоровых индивидуумов [2].

Выделение ДНК из образцов стула пациентов проводили с использованием кита «ДНК-сорб-В» (АмплиСенс) [3]. Для оценки качества выделенной геномной ДНК проводили амплификацию двух коротких фрагментов длиной менее 200 н.п. в дуплексном режиме. Для анализа целостности ДНК были выбраны два фрагмента длиной 800 н.п. (фрагмент гена *TP53*), и 2340 н.п. (фрагмент гена *MLH*).

Результаты: 1) сравнительный анализ полученных двумерных карт контрольных и опытных образцов плазмы крови выявил различия в их белковых профилях, 2) фрагменты ДНК длиной 800 н.п. и/или 2340 н.п. были обнаружены в стуле 27 из 37 пациентов с колоректальным раком, тогда как в контрольной группе такие фрагменты ДНК в стуле отсутствовали.

Выводы: 1) разработана процедура подготовки образцов плазмы крови для последующего сравнения их протеомных профилей после 2DPAGE, 2) разработан метод неинвазивной ПЦР-диагностики колоректального рака на основе анализа целостности ДНК из стула пациента, чувствительность и специфичность метода составили соответственно 73% и 100%.

Список литературы

1. Boynton KA, Summerhayes IC, Ahlquist DA, Shuber P. 2003. DNA integrity as a potential marker for stool-based detection of colorectal cancer. *Clin Chem* 49: 1058-1065.
2. Gianazza E. 1982. A general method for fractionation of plasma proteins. Dye-ligand affinity chromatography on immobilized Cibacron Blue F3-GA. *Biochem J* 201: 129-136.
3. <http://www.interlabservice.ru/catalog/reagents/index.php?sid=1402&id=8693>

Влияние предоперационной цитотоксической терапии на экспрессию ферментов репарации ДНК в метастазах колоректальных аденокарцином в печени

*Варламов А.В. *, Пальцева Е.М., Секачева М.И., Скипенко О.Г.*

Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского

* Абрикосовский пер, д. 2, Москва, Россия

Тел. +7 499-246-89-88, e-mail: andrewvarlamov@rambler.ru

Ключевые слова: метастазы колоректальных аденокарцином в печени, цитотоксические препараты, препараты платины, XPD, ERCC1

Effect of preoperative cytotoxic therapy on the expression of DNA repair enzymes in colorectal adenocarcinoma liver metastases

*Varlamov A.V. *, Paltseva E.M., Sekacheva M.I., Skipenko O.G.*

B.V. Petrovsky Russian Surgery Research Center

* Abrikosovsky lane 2, Moscow 119991, Russian Federation

Tel. +7 499246-89-88, e-mail: andrewvarlamov@rambler.ru

Key words: liver colorectal adenocarcinoma metastases, cytotoxic drugs, platinum drugs, XPD, ERCC1

Введение: В настоящее время в состав схем предоперационного лечения метастазов колоректальных аденокарцином в печени входят цитотоксические препараты, в том числе на основе платины, действие которых основано на нарушении синтеза ДНК [1]. Однако распознавание и устранение данных повреждений возможно благодаря системе эксцизионной репарации нуклеотидов, NER (Nucleotide excision repair) [2]. В её состав входят 16 белков, в том числе ERCC1 и XPD (ERCC2), в отношении которых показана прогностически значимая роль для больных колоректальным раком, получавших терапию препаратами на основе платины [3, 4]. Повышенная экспрессия белков XPD и ERCC1 ассоциирована с отсутствием эффективности повреждающих ДНК цитотоксических препаратов-производных платины [5], а также предполагается, что применение данных препаратов может вызвать повышение их содержания в тканях опухолей. Целью настоящего исследования явилась оценка экспрессии данных белков в метастазах колоректальных аденокарцином в печени у пациентов, получавших предоперационную терапию цитотоксическими препаратами на основе платины.

Материал и методы: Исследован операционный материал метастазов колоректальных аденокарцином в печени от 51 пациента. Пациенты разделены на 2 группы: получавшие терапию препаратами платины по схеме FOL-FOX6 (21 пациент) и не получавшие какую-либо предоперационную терапию (30 пациентов, контрольная группа). Экспрессия белков ERCC1 и XPD ис-

следована иммуногистохимическим методом. Результаты оценивали полуколичественным методом при помощи световой микроскопии. Статистическая обработка данных проводилась с помощью точного метода Фишера.

Результаты: В группе пациентов, получавших предоперационную терапию препаратами платины, экспрессия XPD наблюдалась у 71% пациентов, отсутствие – у 29% больных. В контрольной группе экспрессия XPD наблюдалась реже (57%), различие между группами статистически не значимо, $p=0,38$. Изучение содержания белка ERCC1 выявило примерно одинаковое количество случаев с наличием и отсутствием экспрессии в группе леченых пациентов (48% и 52% пациентов, соответственно). В контрольной группе экспрессия ERCC1 наблюдалась у 33% пациентов и не была выявлена у 67% (различия между группами статистически не значимы, $p=0,39$). При оценке соотношения сильной и слабой экспрессии XPD и ERCC1 в двух группах пациентов также не получено статистически значимых отличий ($p=0,72$ и $0,67$, соответственно).

Заключение: Применение предоперационной терапии препаратами платины у пациентов с метастазами колоректальных аденокарцином в печени не влияет на экспрессию белков ERCC1 и XPD в опухолевых клетках. Следовательно, путь репарации ДНК NER не задействован в восстановлении структуры ДНК опухолевых клеток после воздействия препаратов на основе платины.

Список литературы:

1. Переводчикова Н.И. (под ред.). 2011. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. 3-е изд. Издательский дом Практическая медицина. Стр. 33-34.
2. Reed E. 2005. ERCC1 and clinical resistance to platinum-based therapy. Clin Cancer Res, 11: 6100-6102.
3. Park DJ, Stoehlmacher J, Zhang W et al. 2001. A xeroderma pigmentosum group D gene polymorphism predicts clinical outcome to platinum-based chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. Cancer Res, 61: 8654-8658.
4. Huang M-Y, Wang J-Y, Huang M-L et al. 2013. Polymorphisms in XPD and ERCC1 associated with colorectal cancer outcome. Int J Mol Sci, 14: 4121-4134.
5. Uchida K, Danenberg PV, Danenberg KD, Grem JL. 2008. Thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase, ERCC1, and thymidine phosphorylase gene expression in primary and metastatic gastrointestinal adenocarcinoma tissue in patients treated on a phase I trial of oxaliplatin and capecitabine. BMC Cancer, 8: 386-395.

**Нарушения сна в структуре депрессивного расстройства:
терапия агомелатином**

Васильев Ю.Н.^{1}, Лаврик С.Ю.², Домитрак С.В.²*

¹ Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России
*Красного Восстания ул., 1, Иркутск, Российская Федерация, 664003

Тел.: +7 9149106441; e-mail: yura.v72@mail.ru

² Клиники Иркутского государственного медицинского университета Минздрава России

Ключевые слова: инсомния, депрессия, антидепрессанты

Sleep disorders in the structure of depressive disorder: agomelatine therapy

Vasiliev YU.N¹, Lavrik S.Y.², Domitrak S.V.²*

¹ Irkutsk State Medical University of Russian Ministry of Health

* Red Rebellion str., 1, Irkutsk, Russian Federation, 664003

Tel.: +7 9149106441; e-mail: yura.v72@mail.ru

² Clinic of Irkutsk State Medical University, Ministry of Health of Russia

Key words: insomnia, depression, antidepressants

Введение: Известно, что депрессия является одним из наиболее частых синдромов при поражении центральной нервной системы, а также самостоятельным заболеванием. Актуальность изучения механизмов патогенеза депрессии и способов ее коррекции неоспорима. Одними из основных симптомов депрессии являются различные нарушения сна. Кроме того, доказано, что инсомния – это значимый фактор риска манифестации и рецидива депрессии. Одной из важных повседневных функций организма является цикл сон-бодрствование. Его основным регуляторным механизмом являются вырабатываемые внутри тела и синхронизируемые под действием внешних стимулов циркадианные ритмы [1,4]. Однозначный факт, что депрессия сопровождается нарушениями циркадианных ритмов. Антидепрессант нового поколения агомелатин соответствует требованиям к лечению депрессии и инсомнии, т.к. является агонистом мелатонинергических рецепторов MT1 и MT2, а также антагонистом серотонинергических рецепторов 5-HT2C, и не обнаруживает значимого аффинитета к рецепторам и переносчикам других нейротрансмиттеров [2]. Мелатонинергические рецепторы оказывают благоприятное влияние на сон, а антагонизм к 5-HT2c рецепторам стимулирует медленно-волновой сон. Кроме того, антагонизм к 5-HT2c рецепторам определяет антидепрессивные свойства [3]. По данным многих авторов, нарушения цикла сон-бодрствование у больных депрессией выявляются при полисомнографии как нарушения непрерывности сна, уменьшение количества медленно-волнового сна и активация REM сна, включая сокращение REM латентности [5]. Цель исследования - оценить показатели ночного сна у пациентов с различной выраженностью депрессии в динамике терапии агомелатином.

Материалы и методы: На базе факультетской клиники нервных болезней Иркутского ГМУ им. профессора Х.Г. Ходоса были обследованы и пролечены агомелатином 87 пациентов в возрасте 23-64 лет, из них 52 женщины и 35 мужчин. Агомелатин назначался в дозе 25 мг на ночь. Курс лечения варьировал от 3 до 12 мес. Средний возраст больных составил $43 \pm 12,3$ лет. Всем больным проводилась оценка степени выраженности депрессии по шкале Гамильтона (HDRS), анкеты балльной оценки субъективных характеристик сна; полисомнография (ПСГ) до и после лечения была проведена у 36 чел.

Результаты: Показано, что выраженность депрессии до лечения: тяжелая степень ($20 \pm 0,8$ баллов) отмечалась у 45,8%, средняя ($15 \pm 0,73$ балла) - у 37,5%, легкая степень ($11 \pm 1,33$ балла) - у 8,2% больных. После 3 месяцев терапии отмечалось достоверное ($p < 0,01$) уменьшение выраженности основных симптомов депрессии: 62,5% - отсутствие депрессии, 33,3% - субклиническая ($8 \pm 0,96$) и 4,2 - легкая степень депрессии ($10 \pm 1,54$ балла) по шкале HDRS. При этом начальный этап терапии не сопровождался свойственным другим антидепрессантам обострением тревожно-депрессивной симптоматики первые 2 недели, не отмечалось проявлений поведенческой токсичности, дневной сонливости, развития зависимости к препарату.

Выводы: Агомелатин обладает рядом преимуществ, например, стойкое и выраженное антидепрессивное и анксиолитическое действие уже с первой недели приема препарата, а также качественное улучшение основных параметров сна, объективно подтвержденное данными ПСГ, в частности, увеличение его длительности и глубины, укорочение латентного периода отхождения ко сну. Таким образом, включение антидепрессанта агомелатина в схему терапии инсомнии у депрессивных больных позволяет существенно улучшить их качество жизни за счет нормализации сна, уровня дневной активности и общего фона настроения.

Список литературы:

1. Turek F, Gillette M. 2004. Melatonin, sleep and circadian rhythms: rationale for the development of specific melatonin agonists. *Sleep Med.* 5: 526-532.
2. Bourin M, Mocaer E, Porsolt R. 2004. Antidepressant-like activity of S-20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. *Rev Psychiatr Neurosci.* 29: 126-133.
3. Emsley R. Efficacy and safety of agomelatine (25 mg/50 mg), a melatonin and specific serotonergic antidepressant, in the treatment of major depressive disorder: a randomized, double blind, placebo-controlled study. *Int J Neuropsychopharm.* 7 (suppl 1): P02.174.
4. Левин Я.И. 2009. Фармакотерапия инсомнии и отмена длительно применяемых снотворных препаратов. Москва, 21 с.
5. Лаврик С.Ю., Домитрак С.В. 2009. Лечебно-диагностические возможности лаборатории сна. Иркутск, 61 с.

Болезнь Фабри. Мультидисциплинарные аспекты патологии*Волгина С.Я.*

Казанский государственный медицинский университет
 Бутлерова ул., 49, Казань 420055, Республика Татарстан, Россия
 Тел. +79046711659, e-mail: Volgina_Svetlana@mail.ru

*Ключевые слова: болезнь Фабри, дети, подростки***Fabry disease. Multidisciplinary aspects of the pathology***Volgina S.J.*

Kazan State Medical University
 Butlerov str., 49, Kazan 420055, Republic of Tatarstan, Russian Federation
 Tel. +79046711659, e-mail: Volgina_Svetlana@mail.ru

Keywords: Fabry disease, children, adolescents

Болезнь Фабри (БФ) – редкая X-сцепленная лизосомальная болезнь накопления, причиной которой является врожденный дефицит α -галактозидазы А (α -galA). В результате формируется неспособность к катаболизму гликофинголипидов, которые накапливаются в лизосомах, способствуя развитию лизосомальных и клеточных дисфункций, что, в свою очередь, вызывает каскад ишемии, воспаления, фиброза тканей и апоптоз клеток. БФ диагностируется с частотой 1:1250 - 117000 живых новорожденных мальчиков во всем мире. Она обусловлена мутациями в гене GLA, находящегося на длинном плече Xq22, который кодирует фермент α -галактозидазу А, тип наследования – X-сцепленное.

Клинические проявления. Международная база данных по БФ помогает в изучении клинических проявлений заболевания и проведения катамнеза. За последние 6 лет она значительно пополнилась и содержит информацию примерно о 1200 пациентах. БФ – это мультидисциплинарная проблема, и в постановке диагноза могут принимать участие многие специалисты. Следует отметить, что при данном заболевании поражаются многие органы и системы. Наблюдаются изменения со стороны центральной и периферической нервной системы, почек, сердца, кожи, органов дыхания. Также выявляются желудочно-кишечные расстройства, офтальмологические нарушения и нарушения слуха, гипогидроз. У ряда больных регистрируются атипичные формы, которые появляются позднее и ограничиваются поражением одного или нескольких органов.

Возможно проведение пренатальной диагностики заболевания путем оценки активности фермента α -галактозидазы А или методами ДНК-анализа в ворсинах хориона, амниотической жидкости или крови плода. Пол плода определяют цитогенетическими или молекулярно-генетическими методами. После установления диагноза БФ биохимическими, молекулярно-генетическими методами, необходимо проведение генетического консультирования всех членов семьи. Диагноз БФ у лиц мужского пола подтвер-

ждается биохимическим методом – определением активности фермента α -галактозидазы А, а также обнаружением мутации в гене GLA. ДНК-диагностика крайне необходима для подтверждения гетерозиготного носительства.

Лечение болезни Фабри осуществляется с помощью проведения фермент-заместительной терапии, целью которой является восстановление физиологического уровня фермента, уменьшение накопления Gb3 в тканях и нормализация функции внутренних органов. В настоящее время в России лицензированы два препарата для лечения БФ: агалзидаза альфа (Реплагал) в дозе 0,2 мг/кг и агалзидаза бета (Фабразим) в дозе 1 мг/кг внутривенно каждые две недели. Участие мультидисциплинарной команды в лечении данного заболевания имеет важное значение. Эмоциональная поддержка и семейное консультирование должны стать неотъемлемой частью ухода за пациентами.

«Вариом» при аутизме: обнаружение генов-кандидатов с помощью SNP-молекулярного кариотипирования и биоинформатического анализа

Ворсанова С.Г.^{1,2,3}, Юров И.Ю.^{1,2,4}, Зеленова М.А.^{1,2,3}, Васин К.С.^{1,2,3}, Сильванович А.П.², Юров Ю.Б.^{1,2,3}

¹ Обособленное структурное подразделение РНИМУ им. Н.И. Пирогова Научно-исследовательский клинический институт педиатрии Минздрава России

² Научный центр психического здоровья, Россия

³ Московский городской психолого-педагогический университет, Россия

⁴ Российская Медицинская Академия Последипломного Образования ул. Талдомская, 2, Москва 127412, Россия.

Тел.: +74954841948, e-mail: svorsanova@mail.ru

Ключевые слова: вариом, аутизм, SNP-молекулярное кариотипирование, биоинформатика

«Variome» of autism: detection of candidate genes by SNP-molecular karyotyping and bioinformatic analysis

Vorsanova S.G.^{1,2,3}, Iourov I.Y.^{1,2,4}, Zelenova M.A.^{1,2,3}, Vasin K.S.^{1,2,3}, Silvanovich A.P.², Yurov Y.B.^{1,2,3}

¹ Pirogov Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Russian National Research Medical University

² Mental Health Research Center, Russian Federation

³ Moscow State University of Psychology and Education, Russian Federation

⁴ Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Federation Taldomskaya str., 2, Moscow 127412, Russian Federation

Tel.: +74954841948, e-mail: svorsanova@mail.ru

Keywords: variome, autism, SNP-molecular karyotyping, bioinformatics

Введение: Несмотря на значительные успехи в области биоинформатики и геномики, анализ обобщенных данных о вариациях числа копий (CNV) или «вариоме», направленный на обнаружение генов-кандидатов, по-прежнему представляет собой сложную задачу [1-3].

Цель работы: Идентифицировать гены, участвующие в патогенезе аутизма, используя подход, основанный на оценке «вариома» при данном нарушении психики.

Материалы и методы: Анализ был выполнен с применением высоко-разрешающего SNP молекулярного кариотипирования и биоинформатических технологий. Биоинформатический анализ представляет собой комплексную оценку CNV при помощи моделирования транскрипционной, интерактивной и метаболомной активности генов-кандидатов с использованием имеющихся геномных, транскриптомных и протеомных баз данных [4]. Были исследованы 38 детей с аутизмом из Российской когорты (N = 212).

Результаты и обсуждение: Выявлены шесть хромосомных перестроек: делеции 6p11.2 (*PRISM2*), 9q21.13 (*GDA*, *ZFAND5*, *TMC1*), 8p23.3p23.1 (46 генов), Xp22.12 (*RPS6KA3*, *CNKSR2*) и дупликации Yq11.223q11.23. Кроме того, биоинформатический анализ CNV и моногенных делеций/дупликаций определил следующие гены-кандидаты аутизма: *CBARA1*, *KRT83*, *RBFOX1*, *NDP*, *ATP6V1E1*, *CNKSR2*, *ATP1A2*, *FBXO21*, *ACSL3*, *ATP2B3*, *IMPA1*, *CNTNAP4*. Выявление данных генов позволяет рассуждать о молекулярных геномных сетях, связанных с нестабильностью генома, запрограммированной смертью клеток и аксональным наведением как о потенциальных молекулярных геномных сетях при аутизме. Успешное определение генов-кандидатов с помощью обобщенного анализа вариома позволяет говорить о данном методе как о значимом инструменте при исследованиях аутизма [1-4]. Наши данные подтверждают идею о том, что дополнительные биоинформатические технологии способны дать более полное представление о патогенезе заболевания. Таким образом, «вариом» при заболевании определяется SNP-высокоразрешающим сканированием генома и анализируется с помощью оригинальной биоинформатической технологии [4]. Определение «вариома» индивидуумов с заболеваниями психики является актуальной проблемой в настоящее время, и подлежит рассмотрению в дальнейших исследованиях генома.

Исследование осуществлено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-35-00060).

Список литературы:

1. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Сильванович А.П., Демидова И.А., Юров И.Ю. 2013. Современные представления о молекулярной генетике и геномике аутизма. Фундаментальные исследования, № 4(часть 2), С.356-367.
2. Yurov Yu. B., Vorsanova S.G., Iourov I.Yu., Demidova I.A., Beresheva A.K., Kravets V.S., Monakhov V.V., Kolotii A.D., Voinova-Ulas V.Yu., Gorbachevskaya N.L. 2007. Unexplained autism is frequently associated

- with low-level mosaic aneuploidy. *Journal of Medical Genetics*, Vol. 44, P.521 – 525.
3. Vorsanova S.G., Voinova V.Yu., Yurov I.Yu., Kurinnaya O.S., Demidova I.A., Yurov Yu.B. 2010. Cytogenetic, molecular-cytogenetic, and clinical-genealogical studies of the mothers of children with autism: a search for familial genetic markers for autistic disorders. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, V.40, №7, P.745-756.
 4. Iourov, I. Y., Vorsanova, S. G., Yurov, Y. B. 2014. In silico molecular cytogenetics: a bioinformatic approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research. *Molecular cytogenetics*, 7(1), 1-11.

Синдром Ретта: проблемы диагностики атипичных форм

*Ворсанова С.Г.^{1,2,3}, Юров И.Ю.^{1,2,4}, Воинова В.Ю.^{1,2,3}, Демидова И.А.^{1,2,3},
Куринная О.С.^{1,2,3*}, Юров Ю.Б.^{1,2,3}*

¹ Обособленное структурное подразделение — НИКИ педиатрии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

² Научный центр психического здоровья, Россия

³ Московский городской психолого-педагогический университет, Россия

⁴ Российская Медицинская Академия Последипломного Образования ул. Талдомская, 2, Москва 127412, Россия

*Тел.: +74954841948, e-mail: svorsanova@mail.ru

Ключевые слова: синдром Ретта, молекулярное кариотипирование

Rett syndrome: problems of diagnosis of atypical forms

*Vorsanova S.G.^{1,2,3}, Iourov I.Y.^{1,2,4}, Voinova V.Y.^{1,2,3}, Demidova I.A.^{1,2,3},
Kurinnaya O.S.^{1,2,3*}, Yurov Y.B.^{1,2,3}*

¹ Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Federation

² Mental Health Research Center, Russian Federation

³ Moscow State University of Psychology and Education, Russian Federation

⁴ Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Federation Taldomskaya str., 2, Moscow 127412, Russian Federation

*Tel.: +74954841948, e-mail: svorsanova@mail.ru

Keywords: Rett syndrome, molecular karyotyping

Введение: Синдром Ретта (РТТ) - один из распространенный генетических синдромов аутистических расстройств у девочек. Этиология этого заболевания связана с мутациями в гене *MECP2*. Однако известно много случаев заболевания, при которых отмечается отсутствие мутаций гена *MECP2* [1].

Цель работы: В настоящей работе исследовали микроаномалии хромосом и вариаций числа копий ДНК генома у девочек с РТТ без мутаций в гене

MECP2 с использованием современных технологий (молекулярного кариотипирования) [2,3].

Материалы и методы: Обследованы 35 девочек с РТТ, у которых не обнаружены мутации гена *MECP2*, но клинические проявления соответствовали критериям различных форм РТТ. Для молекулярного кариотипирования была использована серийная сравнительная геномная гибридизация на ДНК-микрочипах, содержащих 135 тыс. олигонуклеотидных проб, позволяющих сканировать геном с разрешением 20 000 пн и менее. Патогенность обнаруженных вариаций генома оценивали с использованием оригинальной биоинформатической технологии. Для выявления субмикроскопических изменений последовательности ДНК <100 000 пн был разработан алгоритм обработки данных соотношения интенсивности гибридизационных сигналов проб донора и пациента.

Результаты и обсуждение: В 10 случаях были обнаружены аномалии генома. У 5 девочек с клиническими проявлениями болезни обнаружены микроделеции в участке Xq28, затрагивающие ген *MECP2*. У девочек с микроделециями в участке Xq28 наблюдается особый подтип РТТ, проявляющийся в виде клинически более легких форм этого моногенного синдрома. В одном случае атипичная форма РТТ была ассоциирована с геномными аномалиями, затрагивающими ген *CDKL5* и критический участок микроделеционных синдромов Прадера–Вилли и Ангельмана (15q11.2). Помимо этого, представлены данные о вариациях генома в участках 3p13, 3q27.1 (по одному случаю) и 1q21.1-1q21.2 (2 случая). Предполагается, что эти участки генома могут содержать новые гены, этиологически связанные с РТТ фенотипом. В 23 проанализированных случаях патологически значимые нарушения и вариации генома не выявлены. Согласно полученным данным, отсутствие мутаций в гене *MECP2* у девочек с умственной отсталостью и аутизмом не является исключающим критерием для диагноза РТТ. Во избежание ошибок при диагностике РТТ необходима комплексная генетическая диагностика с привлечением молекулярно-цитогенетических методов (array CGH, или молекулярное кариотипирование).

Работы выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-35-00060).

Список литературы:

1. Vorsanova S.G., Iourov I.Y., Yurov Y.B. 2004. Neurological, genetic and epigenetic features of Rett syndrome. *Journal of Pediatric Neurology*, V.2, N4, P.179-190.
2. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Воинова В.Ю., Юров Ю.Б. 2014. Проблемы диагностики синдрома Ретта у девочек без мутаций в гене *MECP2*: использование мелекулярного кариотипирования. *Молекулярная медицина*, №3, С.39-41.
3. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Voinova V.Y., Kurinnaia O.S., Zelenova M.A., Demidova I.A., Yurov Y.B. 2013. Xq28 (*MECP2*) microdeletions are com-

mon in mutation- negative females with Rett syndrome and cause mild subtypes of the disease. *Mol Cytogenet* 6(1):53

Голопроэнцефалия: диагностический алгоритм

Гавран Н.А.^{2}, Ледащева Т.А.^{1,2}, Воронин Д.В.²*

¹СЗГМУ им. И.И. Мечникова

²СПб Диагностический центр (медико-генетический)

ул. Тобольская, 5, Санкт-Петербург 194044, Российская Федерация

*Тел.: + 7 812 294 7002; e-mail: n.gavran@mail.ru

Ключевые слова: голопроэнцефалия, пренатальная диагностика, хромосомные аномалии, врожденные пороки развития

Holoprosencephaly: diagnostic algorithms

Gavran N.A.^{2}, Ledashcheva T.A.^{1,2}, Voronin D.V.²*

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg

²St. Petersburg Centre of Medical Genetics

*Tobolskaya str. 5, St. Petersburg 194044, Russian Federation

Tel.: +7 812 294 7002; e-mail: n.gavran@mail.ru

Keywords: holoprosencephaly, prenatal diagnosis, chromosomal abnormalities, congenital malformations

Введение: Голопроэнцефалия (ГПЭ) (МКБ: Q04.2) – врожденный порок развития (ВПР) головного мозга, обусловленный неполным разделением эмбрионального переднего мозга в сочетании с дефектами лица. Частота среди новорождённых составляет 1:6000-1:16000, увеличиваясь до 1:250 в случаях самопроизвольных абортс [1]. У женщин, страдающих сахарным диабетом, риск ГПЭ у плода повышается в 200 раз [2]. ГПЭ - этиологически гетерогенное состояние. Большинство случаев - спорадические. ГПЭ обнаруживается в составе клинических проявлений хромосомного дисбаланса (трисомии 13 и 18, делециях 13q, 18p, дупликации 3p и др.), а также может вызываться мутациями отдельных генов. К настоящему времени картированы до 10 локусов, ответственных за развитие ГПЭ. Чаще обнаруживаются мутации в гене SHH, ответственном за развитие аутосомно-доминантной формы ГПЭ (ОММ: 142945). Продукт данного гена работает в раннем эмбриогенезе [2].

Пренатальная диагностика (ПД) ГПЭ в настоящее время основана на выявлении характерных изменений при ультразвуковом исследовании (УЗИ) головного мозга плода в I триместре. Выделяют 3 формы ГПЭ: 1. Алобарная - передний мозг не разделен на полушария, лобные доли отсутствуют/гипоплазированы, мозолистое тело, столбы свода, обонятельные луковицы и зрительные тракты не развиты, желудочки представлены единой полостью. 2. Семилобарная - на фоне слитных лобных долей отмечается частичное разделение полушарий в теменной и затылочной областях. 3. Лобарная – имеется межполушарная щель и неразделение подкорковых структур, желу-

дочки уменьшены [3]. В 25-40% случаев ГПЭ сочетается с ВПР и в 33-55% является симптомом хромосомных аномалий (ХА) [1]. Эмпирический риск ГПЭ составляет около 5-6% [1]. Цель исследования: Анализ частоты ГПЭ в составе МВПР в результате ХА, МВПР без нарушений кариотипа и изолированного варианта в популяции Санкт-Петербурга. Разработка диагностического алгоритма для выявления ГПЭ.

Материал и методы: Методом УЗИ в Медико-генетическом центре Санкт-Петербурга в 2005-2014 гг. были выявлены 102 случая ГПЭ у плодов на различных сроках беременности. Проанализированы 41 медико-генетическая карта и проведен сравнительный анализ частоты различных форм ГПЭ в исследованных группах.

Результаты: Частота изолированной ГПЭ составляла 10% (4 из 41), ГПЭ в составе МВПР в результате ХА - 44% (18 из 41), и ГПЭ в составе МВПР - 46% (19 из 41). В последней группе доля плодов с нормальным кариотипом составила 26% (5 из 19), а в остальных случаях (14 из 19) кариотипирование не проводилось. Таким образом, частота ГПЭ хромосомной этиологии несколько выше, чем частота ГПЭ с нормальным кариотипом. Эти результаты сопоставимы с данными литературы [1]. УЗИ плода являлось скрининговым методом диагностики, и при выявлении ГПЭ уточнение диагноза проводилось методом магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга плода. По нашим данным, в 6,8 % (3 из 41) случаев результаты УЗИ не подтвердились данными МРТ.

Любые формы ГПЭ являются неблагоприятными факторами в отношении витального прогноза. При выявлении ГПЭ до 22 недели беременности рекомендована ее элиминация по медицинским показаниям. Дети с ГПЭ нежизнеспособны. При подозрении на моногенное наследование необходимо обследовать родителей больных детей для выявления у них стертых проявлений болезни (единственный резец, отсутствие уздечки верхней губы и/или носовой перегородки).

Заключение: Диагностический алгоритм для выявления любой формы ГПЭ включает: 1) УЗИ головного мозга плода в I триместре либо на момент обращения беременной, 2) уточнение диагноза методом МРТ, 3) проведение инвазивной ПД с целью поиска хромосомных аномалий, 4) медико-генетическое консультирование семьи по прогнозу потомства, 5) проведение прямой ДНК-диагностики для определения мутаций в гене SHN методом секвенирования при подозрении на ГПЭ (ОМIM: 142945).

Список литературы:

1. Медведев МВ. 2012. Пренатальная эхография. Дифференциальный диагноз и прогноз. М.: Реал Тайм, с. 35-39.
2. Голопрозэнцефалия. info@dnalab.ru
3. Барашнев ЮИ, Бахарев ВА. Эмбриофетопатии. Диагностика и профилактика аномалий центральной нервной системы и скелета. 2010. М.: Триада-Х, с. 123-134.

Научные возможности биобанков как ресурсных центров

Глотов А.С.^{1,2*}, Глотов О.С.¹, Баранов В.С.^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург 199034, Россия

*+7 328-98-09, anglotov@mail.ru

² НИИАГиР им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: биобанк, трансляционная медицина, генетика

Scientific potentials of biobanks as resource centres

Glotov A.S.^{1,2*}, Glotov O.S.¹, Baranov V.S.^{1,2}

¹ St. Petersburg State University

Universitetskaya 7/9, St. Petersburg 199034, Russian Federation

*Tel: +78123289809, e-mail: anglotov@mail.ru

² Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after

D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation

Key words: biobank, translation medicine, genetic

После триумфальной расшифровки генома человека дальнейшее развитие подходов к анализу индивидуальных биологических особенностей и факторов риска требует развития таких направлений, как индивидуальная и популяционная геномика, транскриптомика, и протеомика. Совокупность этих подходов позволяет перейти к генетической паспортизации и персонализированной медицине. Критическим элементом для такого исследования является наличие большой выборки индивидуальных проб документированного происхождения, доступных для молекулярно-генетического и биохимического анализа высокой разрешающей способности. Базу для этого создают национальные биобанки. Подобные биобанки созданы в разных странах, таких как Великобритания, Австрия, Канада, Нидерланды, Финляндия, Эстония.

Необходимость создания аналогичного биобанка (в перспективе, сети биобанков) в России назрела давно, но на настоящий момент существуют только различные специализированные банки (ДНК, РНК, стволовых клеток и др.), которые зачастую представлены разрозненным и однократно собранным биоматериалом, не всегда в полной мере документированным и не имеющим реальной медицинской и научной значимости, без перспектив его практического использования в будущем. Создание Биобанка для решения задач трансляционной медицины является ключевой точкой роста. При сотрудничестве СПбГУ, СПб ГБУЗ «Городская больница №40» и НИИАГиР им. Д.О. Отта и других организаций мы планируем систематизировать анкетную и медицинскую информацию о биообразцах, осуществлять длительное хранение и исследование образцов крови, тканей, клеток, ДНК, РНК, белков на эпидемиологическом, геномном и протеомном уровнях.

Работа поддержана грантом РФ №14-50-00069 и РЦ «Биобанк» СПбГУ.

Полиморфизм A9V гена SOD2 как патогенетический фактор доречевой тугоухости при интранатальной гипоксии

Гринчик О.В.¹, Федорова Л.А.², Журавский С.Г.³

¹ Детская областная больница Калининградской области
Донского ул., 23, Калининград, Россия

Тел. +79216125664, e-mail: gr241280@mail.ru

² Детская городская больница №17 Святителя Николая Чудотворца,
Санкт-Петербург, Россия

³ Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: прелингвальная глухота, интранатальная гипоксия, SOD2, полиморфизм A9V гена SOD2

Gene polymorphism A9V SOD2 how pathogenetic factors prelingval hearing loss at intranatal hypoxia

Grinchik O.V.¹, Fedorova L.A.², Zhuravskii S.G.³

¹ Pediatric Regional Hospital of Kaliningrad region
Donskogo str., 23, Kaliningrad, Russian Federation

Tel. +79216125664, e-mail: gr241280@mail.ru

² St. Nicholas Pediatric State Hospital №17, St. Petersburg, Russian Federation

³ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Key words: prelingval deafness, intranatal hypoxia, SOD2, gene polymorphism A9V SOD2

Введение: Мутационные изменения ДНК могут являться не только облигатным этиологическим фактором генетической тугоухости (мутация 35delG гена GJB2) [1], но и лежать в основе патогенеза приобретенных ее форм с фенотипом экзогенного повреждения, как, например, при аминокликозидном или шумовом воздействии [2, 3].

Цель исследования: Выявить молекулярные факторы генетически-детерминированной чувствительности к повреждению слуховой системы в условиях интранатальной гипоксии плода.

Материал и методы: Обследованы 77 пациентов из числа жителей Северо-Западного региона РФ с глубокой СНТ, ассоциированной с гипоксическим повреждением ЦНС в родовом периоде (показатели Апгар при рождении менее 5/6 баллов). Методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом проведен скрининг аллельных вариантов генов NOS3(Glu298Asp), GSTM1(0/0), GSTT1(0/0), SOD2(Val(-9)Ala). Результаты сравнивали с известными показателями распространенности носителей изучаемых генетических детерминант среди здоровых [4]. Полученные результаты обработаны методами параметрической статистики.

Результаты: Из всех изучаемых генетических полиморфизмов от соответствующих данных в группе сравнения статистически значимо отличалась только частота носителей аллельного варианта гена SOD2Val(-9), приводящего к изменению структуры лидерного пептида, нарушающего транспорт SOD2 к митохондриям. Носители гомозиготного генотипа Val/Val гена SOD2 обнаруживаются среди пациентов с СНТ в 10 раз чаще, чем в здоровой популяции Московской области (24.7% и 2.4%, $p < 0.001$).

Выводы: Распространенный в европейской популяции полиморфизм A9V гена SOD2 представляется молекулярно-генетическим фактором повышенной чувствительности слухового анализатора к повреждению в условиях интранатальной гипоксии, а также основанием для совершенствования патогенетической слухосохраняющей терапии.

Список литературы:

1. Apps SA, Rankin WA, Kurmis AP. Connexin 26 mutations in autosomal recessive deafness disorders: a review. *Int J Audiol* 2007, 46:75-81.
2. Fischel-Ghodsian N. Genetic factors in aminoglycoside toxicity. *Pharmacogenomics* 2005, 6: 27-36.
3. Konings A, Van Laer L, Van Camp G. Genetic studies on noise-induced hearing loss: a review. *Ear Hear* 2009, 30: 151-159.
4. Chistyakov DA, Savost'anov KV, Zotova EV, Nosikov VV. Polymorphisms in the Mn-SOD and EC-SOD genes and their relationship to diabetic neuropathy in type 1 diabetes mellitus. *BMC Med Genet* 2001, 2:4.

Дыхательная активность тимоцитов и морфология их поверхности в условиях окислительного стресса: γ -облучение и пероксинитрит

*Грицук А.И. *, Никитина И.А.*

Гомельский государственный медицинский университет

Ланге ул. 5, Гомель, Беларусь

*Тел.: +375232746833, e-mail: Gritsuk@inbox.ru

Ключевые слова: атомно-силовая микроскопия, пероксинитрит, ионизирующее излучение, тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование, морфология тимоцитов

Respiratory activity of thymocytes and their surface morphology under conditions of oxidative stress: γ -irradiation and peroxy nitrite

*Gritsuk A.I. *, Nikitina I.A.*

Gomel State Medical University

Lange str. 5, Gomel, Belarus

*Tel. +375232746833, e-mail: Gritsuk@inbox.ru

Keywords: atomic force microscopy, peroxy nitrite, ionizing radiation, tissue respiration and oxidative phosphorylation, thymocytes morphology

Введение: Расширение масштабов и направлений использования ионизирующих излучений вызывает необходимость дальнейших исследований радиационных эффектов в организме человека, в том числе и радиационно-индуцированной иммунодепрессии. Тимоциты очень чувствительны к действию ионизирующего излучения (ИИ) и окислительного стресса (ОС) различного генеза.

Ведущим механизмом реализации эффектов ионизирующего излучения является нарушение в клетке редокс-гомеостаза с последующим увеличением производства активных форм кислорода и азота. Ионизирующее излучение стимулирует экспрессию индуцибельной NO-синтазы, повышает в тканях уровень NO и пероксинитрита – сильного окислителя, являющегося продуктом взаимодействия NO с $O_2^{\cdot-}$. Пероксинитрит, как элемент сигналинга, синтезируется стромальными клетками тимуса, принимая участие в негативной селекции тимоцитов. В случае чрезмерной продукции, он вызывает повреждение клеточных структур, определяя выбор пути гибели клетки – апоптоз или некроз.

Цель данного исследования – оценка связи изменений параметров тканевого дыхания и морфологии тимоцитов в условиях ОС, индуцированного действием ИИ и пероксинитрита.

Материал и методы: Белых крыс массой 150 г однократно облучали на установке «ИГУР-1», γ -источник ^{137}Cs в дозе 1 Гр, мощность дозы 0,92 Гр/мин. Выделенные тимоциты обрабатывали пероксинитритом в концентрации 30, 50, 100 и 300 мкМ. Дыхательную активность тимуса исследовали полярографическим методом (установка «Record-4» ИТЭБ РАН, Пущино, Россия). Топологию поверхности изолированных тимоцитов изучали методом АСМ-анализа (атомно-силовой микроскоп «НТ-206», «МикроТестМашина», Беларусь). Исследования проводили на 3 сутки после облучения. Данные представлены в формате: медиана (нижний – верхний квартиль).

Результаты: Установлено, что общее γ -облучение животных и обработка изолированных тимоцитов ONO_2^- существенно изменяет морфологию клеток, адгезированных к стеклу. Преинкубация тимоцитов с 30, 50, 100 и 300 мкМ ONO_2^- вызывает зависимое от концентрации уменьшение высоты, объема и площади свободной поверхности, не контактирующей с подложкой. Так, высота тимоцитов при обработке 100 мкМ пероксинитрита уменьшается до 1,46 (1,29-1,84) мкм против 2,66 (2,53-2,67) мкм в контроле. Объем клеток в этом случае снижается с 59,84 (49,52-67,34) мкм³ до 25,99 (21,00-31,66) мкм³, а площадь свободной поверхности с 56,43(52,50-60,97) мкм² до 35,36 (30,79-38,99) мкм². На 3-и сутки после облучения животных в дозе 1 Гр высота тимоцитов уменьшается более чем в три раза, их объем – в четыре раза, а площадь свободной поверхности – в два раза. Уменьшение индекса объема (площадь поверхности/объем клетки) и индекса площади (площадь свободной поверхности клетки/площадь ее контакта с подложкой) тимоцитов на 3 сутки после γ -облучения и после их обработки 50–100 мкМ пероксинитрита свидетельствует об общности механизмов действия данных

факторов и отражает возрастание степени адгезии тимоцитов и увеличение обменных мембранных потоков вещества, энергии и информации.

Наряду с этим в тканях тимуса снижается, более чем в два раза, их дыхательная активность, составляющая после облучения 3,1 (2,46-3,99) нмоль O_2 /мин * мг белка против 6,6 (5,61-8,10) нмоль O_2 /мин * мг белка.

Заключение: Изменения морфологии тимоцитов крыс на 3 сутки после общего γ -облучения (1 Гр) и после обработки изолированных клеток пероксинитритом (30-300 мкМ) идентичны и характеризуются уменьшением их объема, высоты и площади свободной поверхности, что отражает общие механизмы действия ионизирующего излучения и активных форм азота на клетки тимуса. Радиационно-индуцированные изменения морфологии тимоцитов сопряжены с более чем 50-процентным снижением их дыхательной активности.

Исследование кисспептинов в ткани яичника при синдроме поликистозных яичников женщин репродуктивного возраста

Дробинцева А.О.

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии

им. Д.О. Отта

Менделеевская линия д.3., Санкт-Петербург 199034, Россия

Тел.: +7 (812)328-98-60, e-mail: anna.durnova@gmail.com

Ключевые слова: кисспептины, синдром поликистозных яичников, бесплодие.

A study of kisspeptins in ovarian tissue of women of reproductive age with polycystic ovary syndrome

Drobintseva A.O.

The research Institute of obstetrics, gynecology and reproductology named after D.O. Ott

Mendeleev line 3, St. Petersburg 199034, Russian Federation

Tel.: +7 (812)328-98-60, e-mail: anna.durnova@gmail.com

Key words: kisspeptins, polycystic ovary syndrome, infertility

Введение: Синдром поликистозных яичников (СПЯ) представляет собой одну из наиболее распространенных форм эндокринопатий, которая приводит к гиперандрогении и ановуляторному бесплодию. По данным литературы, на сегодня СПКЯ болеют 5-10 % женщин репродуктивного возраста, 30 % пациенток гинекологов-эндокринологов. Известно, что кисспептины играют важную роль в наступлении пубертатного периода и овуляции. Мутации в генах рецепторов к кисспептинам приводят к гипогонадизму, нарушению полового созревания и бесплодию. Кисспептины кодируются геном Kiss1, который является активным в ЦНС, яичниках,

яичках, поджелудочной железе, тонкой кишке и передней доле гипофиза и играют существенную роль в регуляции функционирования гипоталамо-гипофизарной оси, связанной с репродуктивной системой человека [1]. Показана возможность применения синтетического кисспептина при подготовке к процедуре ЭКО, при этом нет риска гиперстимуляции яичников [2].

Цель данной работы – найти зависимости между экспрессией кисспептинов и синдромом поликистозных яичников.

Материалы и методы: Материалом для исследования являлась ткань яичников 36 женщин с диагнозом СПЯ из 3-х возрастных групп: пациентки 19-25 лет (n=12), пациентки 26-30 лет (n=13) и пациентки 31-35 лет (n=11). Также была исследована группа контроля, в которую вошли 10 здоровых женщин. Иммуногистохимическая реакция с антителами к маркерам KISS1 (Abcam, 1:150) и KISS1R (Abcam, 1:300) проведена авидин-биотиновым иммунопероксидазным методом. Площадь экспрессии оценивали на системе компьютерного анализа микроскопических изображений «Видеотест-Морфология 5,2» с применением t-критерия Стьюдента ($p < 0,05$). Статистическую обработку данных и проверку на нормальность проводили в программе «Статистика 7.0» с помощью критерия Шапиро-Вилка.

Результаты: В группе 20-25 лет средняя относительная площадь экспрессии кисспептинов составляла $34,69 \pm 13,64$, в группе 26-30 лет – $45,14 \pm 17,29$; в группе 31-35 лет из 10 препаратов положительная реакция была выявлена только в одном. Значение средней относительной площади в контрольной группе было $9,83 \pm 4,91$ ($p < 0,05$ по сравнению с основными группами). Из этого видно, что у здоровых женщин уровень кисспептинов в ткани яичника в несколько раз ниже, чем у женщин с синдромом поликистоза яичников.

Выводы: По мере старения репродуктивной системы уровень кисспептинов значительно снижается с возрастом, что подтверждается почти полным отсутствием реакции у пациенток старшей возрастной группы. У молодых пациенток с СПЯ в ткани яичника верифицируется большее количество кисспептина, чем в норме. Таким образом, кисспептин может играть роль в патогенезе этого заболевания.

Список литературы:

1. Pinilla L., Aguilar E., Dieguez C., Millar R. P., Tena-Sempere M. 2012. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms // *Physiol Rev* 92: P.1235–1316
2. Jayasena CN, Abbara A, Comminos AN, et al., 2013. Kisspeptin-54 administration stimulates pulsatile luteinising hormone secretion in women with hypothalamic amenorrhea, 29th Annual Meeting of the European-Society-of-Human-Reproduction-and-Embryology (ESHRE), Publisher: OXFORD UNIV PRESS, Pages: 110-110

Определение экспрессии генов *CHRM3* и *ADRB2* в лейкоцитах крови в процессе комплексного лечения хронической обструктивной болезни легких

*Елишин Н.Д.**, Чухловин А.Б., Кузубова Н.А., Титова О.Н.

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова Ул. Л.Толстого, д.6/8, Санкт-Петербург 197022, Россия

*Тел.: +7 950 0040767, email: Nikita.Yolshin@gmail.com

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, экспрессия генов, CHRM3, ADRB2, лейкоциты, бронхолитическая терапия

Quantitation of *CHRM3* и *ADRB2* gene expression in blood leukocytes during combined treatment of chronic obstructive lung disease

*Yolshin N.D.**, Chukhlovin A.B., Kuzubova N.A., Titova O.N.

First St.Petersburg State I.Pavlov Medical University

L.Tolstoy Str 6/8, St. Petersburg 197022, Russian Federation

*Phone: +7 950 0040767, email: Nikita.Yolshin@gmail.com

Key words: chronic obstructive lung disease, gene expression, CHRM3, ADRB2, leukocytes, broncholytic therapy

Введение: Патогенез хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) связан с локальными и системными воспалительными явлениями, что проявляется в активации каскада провоспалительных цитокинов и активации протеазных систем. Лечение больных ХОБЛ в фазе обострения состоит в применении комбинированных схем лечения с применением ингаляций М-холинолитиков, бета-агонистов адренорецепторов и глюкокортикостероидов (ГКС). Цель исследования заключалась в анализе относительных уровней экспрессии генов рецепторных белков, регулирующих фармакологические эффекты данных препаратов.

Материалы и методы: Оценка активности генов *GR*, *COX-2*, *ADRB2* и *CHRM3* в лейкоцитах крови определялась, в целом, у 41 пациента с обострениями ХОБЛ (II-III стадия, группа D по GOLD) проходивших 2-недельный курс лечения с применением ингаляций тиотропия бромид, формотерола, глюкокортикостероидов (ГКС) и парэнтеральной антибактериальной терапии. До и после лечения определяли содержание мРНК генов адрено- и холинорецепторов, циклооксигеназы-2 и рецепторов ГКС (*ADRB2*, *CHRM3*, *COX2*, *GR*) в лейкоцитах крови больных с применением методики ПЦР в реальном времени. Относительные уровни мРНК нормализовали по референс-гену (*GAPDH*).

Результаты: Средние уровни экспрессии изученных генов не различались статистически значимо в сроки до и после лечения. Однако значительная индивидуальная вариабельность генной экспрессии позволила провести анализ корреляций с клиническими и лабораторными показателями пациентов. Прежде всего, были выявлены высоко достоверные корреляции между

изменениями экспрессии генов *ADRB2* и *CHRM3*, что предполагает общую направленность их регуляции при системном воспалительном процессе у пациентов с ХОБЛ. При сопоставлении с клиническими данными мы выявили положительную корреляцию между снижением экспрессии гена *CHRM3* и возрастанием дыхательного показателя ОФВ1 после курса терапии ($r = -0,662$; $n = 16$; $p = 0,003$ по критерию Спирмена), что можно связать с применением тиотропия бромида – ингибитора *CHRM3*. Одним из важных показателей эффективности противовоспалительной терапии является снижение уровней С-реактивного белка (С-РБ) в сыворотке после лечения. По нашим данным, уровни С-РБ были ниже у больных с более высокими показателями экспрессии мРНК рецепторов ГКС ($r = -0,79$; $P < 0,0001$ по критерию Спирмена), что, возможно, отражает повышенный противовоспалительный ответ на ГКС у этой группы пациентов. Аналогичная обратная корреляция показана между изменением уровня С-РБ в сыворотке крови и возрастанием экспрессии гена *COX-2* в лейкоцитах ($r = -0,55$; $P = 0,01$). Таким образом, повышенная активность гена циклооксигеназы коррелировала с менее выраженным эффектом противовоспалительного лечения. Показана также отрицательная корреляция между повышением уровней экспрессии гена м-холинорецептора (*CHRM3*) и снижением концентраций С-реактивного белка в процессе терапии ХОБЛ ($r = -0,60$; $p = 0,006$). Аналогичная обратная зависимость отмечалась при сопоставлении уровней экспрессии гена *ADRB2* и изменениями уровней сывороточного С-РБ после курса лечения ($r = -0,63$; $n = 16$; $p = 0,006$).

Выводы: Показана информативность оценки экспрессии фармакогенов в лейкоцитах пациентов с ХОБЛ в качестве количественных маркеров системного воспалительного процесса. Средние показатели экспрессии фармакогенов не изменялись статистически значимо после курса комбинированной терапии. Однако были обнаружены статистически значимые связи между улучшением клинических показателей после комплексной лекарственной терапии ХОБЛ и индивидуальными уровнями экспрессии вышеуказанных генов.

Экспрессия генов *AURKA* и *MYCN* на различных стадиях рака предстательной железы

Жинжило Т.А.^{1}, Михайленко Д.С.^{1,2}, Сафронова Н.Ю.¹, Ковченко Г.А.¹,
Ефремов Г.Д.¹*

¹НИИ урологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФМИЦ им. П.А. Герцена
3-я Парковая ул., д. 51, к. 4, Москва 105425, Россия

*Тел.: +79037806017, e-mail: tatyana-zhinzhilo@yandex.ru

²Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

Ключевые слова: рак простаты, нейроэндокринная дифференцировка, экспрессия онкогенов

AURKA and MYCN genes expression at various stages of prostate cancer

Zhinzhilo T.A.^{1*}, Mikhaylenko D.S.^{1,2}, Safronova N.U.¹, Kovchenko G.A.¹,
Efremov G.D.¹

¹N.A. Lopatkin Research Institute of Urology – branch of the P.A. Herten Federal
Medical Research Center

3rd Parkovaya st. 51/4, Moscow 105425, Russian Federation

* Tel.: +79037806017, e-mail: tatyana-zhinzhilo@yandex.ru

²Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

Key words: prostate cancer, neuroendocrine differentiation, expression of oncogenes

Введение: Рак предстательной железы (РПЖ) – частое онкоурологическое заболевание [1]. Стандартные схемы лечения метастатического РПЖ эффективны в течение 1-2 лет. Наступающая со временем резистентность к гормональным препаратам в части случаев объясняется нейроэндокринной дифференцировкой (НЭД) РПЖ. Повышение концентрации сывороточного хромогранина А (ХгА) – один из первых признаков НЭД, однако он может быть использован только в скрининговых целях [2]. В связи с этим, актуальна разработка системы молекулярных маркеров НЭД при РПЖ, позволяющая оценить прогноз заболевания. При НЭД в опухоли в части случаев наблюдаются гиперэкспрессию гена киназы клеточного цикла Aurora kinase A (*AURKA*) и/или транскрипционного фактора N-мус (*MYCN*) [3]. Целью настоящей работы является анализ экспрессии генов *AURKA* и *MYCN* при доброкачественной гиперплазии (ДГПЖ), интраэпителиальной неоплазии (ПИН), в аденокарциномах простаты с различным уровнем ХгА и образцах РПЖ с НЭД для выяснения ее возможного использования в качестве маркера прогрессии РПЖ и НЭД.

Материалы и методы: Исследовали 70 парафиновых блоков с биопсийным материалом простаты, разделенных на группы: аденокарцинома – 4, ПИН высокой степени – 10, ПИН низкой степени – 27, контроль (ДГПЖ и простатит) – 17, РПЖ с высоким ХгА – 4, РПЖ с низким ХгА – 3, РПЖ с НЭД – 5. Суммарная РНК образцов была выделена из парафиновых блоков с помощью набора Recover All™ Total Nucleic Acid Isolation kit, Applied Biosystems. Анализ экспрессии генов проводился методом ПЦР в реальном времени с использованием коммерческих TagMan-зондов Applied Biosystems (США), в качестве эндогенного контроля был использован ген *B2M*.

Результаты: Экспрессия *AURKA* обнаружена в 25% высокой и 40% низкой ПИН, 40% ДГПЖ и простатита, РПЖ: НЭД - 20%, высокий ХгА - 50%, низкий ХгА - экспрессия отсутствовала. Экспрессия *MYCN* была выявлена во всех случаях РПЖ, 92% - высокой и 81% - низкой ПИН, 82% ДГПЖ и простатита. Различий уровня экспрессии *AURKA* и *MYCN* среди групп обнаружено не было (t-критерий Стьюдента). С помощью точного критерия Фишера показано, что частота сочетанной экспрессии двух генов статистически значимо различается при РПЖ, высокой и низкой ПИН ($p < 0,05$). Таким образом, показан базовый уровень экспрессии генов *AURKA* и *MYCN* во всех ис-

следованных группах, при этом частота сочетанной экспрессии этих генов повышена при ПИН относительно контроля (ДГПЖ и простатита).

Заключение: Исследуемые онкогены экспрессируются на базовом уровне в норме, в предраковых состояниях и при РПЖ. Целесообразно дальнейшее увеличение выборки РПЖ с НЭД для оценки возможности использования *AURKA* и *MYCN* как молекулярно-генетических маркеров НЭД.

Список литературы:

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. 2014. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. Издательская группа РОНЦ.
2. Аполихин О.И., Сивков А.В., Ефремов Г.Д., Рабинович Э.З., Кешишев Н.Г., Ковченко Г.А., Прохоров С.А., Соков Д.Г., Никонова Л.М., Кривенко М.П. 2014. Показатели хромогранина-А сыворотки крови при различных заболеваниях предстательной железы. Экспериментальная и клиническая урология №1, 25-30.
3. Mosquera J. M., Beltran H., Park K., MacDonald T. Y., Robinson B. D., Tagawa S.T., Perner S., Bismar T. A., Erbersdobler A., Dhir R., Nelson J. B., Nanus D. M., Rubin M. A. 2013. Concurrent *AURKA* and *MYCN* Gene Amplifications Are Harbingers of Lethal Treatment Related Neuroendocrine Prostate Cancer. *Neoplasia* Vol. 15: 1-10.

Спектр мутаций гена рецептора липопротеинов низкой плотности у больных семейной гиперхолестеринемией на Северо-Западе России: 20 лет исследований

Захарова Ф.М.^{1,2}, Богословская Т.Ю.¹, Муртазина Р.З.^{1,2}, Татищева Ю.А.¹, Дидио А.В.^{1,2}, Липовецкий Б.М.³, Константинов В.О.⁴, Корнева В.А.⁵, Мандельштам М.Ю.^{1,2}, Васильев В.Б.^{1,2}*

¹ Институт экспериментальной медицины

ул. Ак. Павлова д.12, Санкт-Петербург 197375, Россия

*Тел.: +7 (812) 234-33-56, e-mail: fzakharova@mail.ru

² Санкт-Петербургский государственный университет

³ Институт мозга человека РАН, Санкт-Петербург

⁴ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.

Мечникова,

Санкт-Петербург

⁵ Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск

Ключевые слова: семейная гиперхолестеринемия, рецептор липопротеинов низкой плотности, моногенные заболевания

The spectrum of mutations of the low-density lipoprotein receptor in patients with familial hypercholesterolemia in North-West Russia: 20 years of research

Zakharova F.M.^{1,2*}, *Bogoslovskay T.Yu.*¹, *Murtazina R.Z.*^{1,2}, *Tatishcheva Yu.A.*¹,
Didio A.V.^{1,2}, *Lipovetsky B.M.*³, *Konstantinov V.O.*⁴, *Korneva V.A.*⁵, *Mandelsham*
M.Yu.^{1,2}, *Vasilyev V.B.*^{1,2}

¹ Institute of Experimental Medicine

Akad. Pavlov str. 12, St. Petersburg 197375, Russian Federation

*Тел.: +7 (812) 234-33-56, e-mail: fzakharova@mail.ru

² St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

³ Institute of Human Brain, St. Petersburg, Russian Federation

⁴ North-West State Medical University n. a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

⁵ Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russian Federation

Key words: familial hypercholesterolemia, low density lipoprotein receptor, monogenic diseases

Введение: Семейная гиперхолестеринемия (СГ) – аутосомно-доминантное заболевание, проявляющееся выраженным повышением уровня общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛНП) и приводящее к повышенному риску развития сердечно-сосудистых заболеваний. Причиной СГ являются мутации в гене рецептора ЛНП, спектр которых существенно зависит от популяции. Знание мутационного спектра популяции позволяет проводить своевременную ДНК-диагностику в группах пациентов с риском развития СГ. Двадцать лет назад проф. Е.И. Шварцем, проф. В.С. Гайцхоки, В.И. Голубковым и М.Ю. Мандельштамом были инициированы исследования, посвященные анализу спектра мутаций в гене рецептора липопротеинов низкой плотности ЛНП у больных СГ в Санкт-Петербурге. Целью нашего исследования являлось изучение природы СГ на Северо-Западе России.

Материал и методы: Для выполнения данной работы была создана коллекция ДНК пробандов с СГ, проживающих в Санкт-Петербурге и Петрозаводске. Основным методом поиска мутаций в гене рецептора ЛНП был анализ конформационного полиморфизма однонитевых фрагментов ДНК и секвенирование индивидуальных экзонов гена по методу Сэнджера.

Результаты: В результате исследования у пациентов с клиническим диагнозом СГ нами были обнаружены 48 мутаций (42 из которых мы рассматриваем как патогенные варианты) и 10 полиморфизмов в гене рецептора ЛНП [1,2]. Двадцать семь мутаций были описаны впервые в мире, остальные двадцать одна были обнаружены ранее в других странах. Единственной обнаруженной нами мажорной мутацией стала мутация G197del, выявленная у 7 из 22 (30%) обследованных нами пациентов евреев-ашкенази с СГ из Санкт-Петербурга. Выявленная нами частота мутации G197del в этой этнической группе пациентов соответствует данным литературы. Единственная общая мутация, выявленная нами у пациентов с СГ других этнических групп в Санкт-Петербурге и Петрозаводске, оказалась мутация FH-North Karelia

(с.925-931del7), являющаяся одной из трех мажорных мутаций, обуславливающих развитие СГ в Финляндии.

Заключение: В целом из наших исследований видно, что спектр мутаций, являющихся причиной СГ на Северо-Западе России, чрезвычайно гетерогенен, а эффект основателя отсутствует. Это делает невозможным проведение избирательной ДНК-диагностики ряда превалирующих мутаций, как это предполагалось в начале наших исследований. Однако внедрение в ближайшем будущем в медицинскую практику методов секвенирования генома нового поколения сделает возможным проведение ДНК-диагностики наследственных заболеваний в отсутствии мажорных мутаций.

Настоящее исследование было поддержано грантом РФФИ 15-04-03513 А.

Список литературы:

1. Захарова Ф.М., Татищева Ю.А., Голубков В.И., Липовецкий Б.М., Константинов В.О., Денисенко А.Д., Фаергеман О., Васильев В.Б., Мандельштам М.Ю. 2007. Семейная гиперхолестеринемия в Санкт-Петербурге: разнообразие мутаций свидетельствует об отсутствии выраженного эффекта основателя. Генетика, 43 (9), 1–8.
2. Komarova Korneva V.A., Kuznetsova T.Yu., Golovina A.S., Vasilyev V.B., Mandelshtam M.Y. (2013) Familial hypercholesterolemia mutations in Petrozavodsk: no similarity to St. Petersburg mutation spectrum. BMC Medical Genetics 14, 128.

Правовое обеспечение создания биобанков в России

Иванов Д.В.

Академия Молекулярной Медицины

ул. Мытнинская, д. 12/44, Санкт-Петербург 191144, Российская Федерация

Тел.: +79522273535, e-mail: ivanov.main@gmail.com

Ключевые слова: биобанк, биобанкинг

Legal support for establishment of biobanks in Russia

Ivanov D.V.

Academy of Molecular Medicine

Mytninskaya St.12/44, St. Petersburg 191144, Russian Federation

Tel.: +79522273535, e-mail: ivanov.main@gmail.com

Key words: biobank, biobanking

Введение: В современных условиях биобанки приобретают характер связующего звена между донорами биоматериалов и исследователями, позволяя не только проводить клинические и научные исследования, но также создавать новые биомаркеры, методы лечения, лекарственные препараты и прочее.

Целью данного исследования является анализ российского законодательства, а также зарубежного опыта в области создания биобанков и выработка на основе полученных результатов теоретических выводов и мер практического характера, направленных на совершенствование правового регулирования в области создания биобанков в России.

Материал и методы: Нормативная основа исследования включает международные правовые акты, российские и зарубежные нормативные правовые акты, регулирующие правовые отношения в области биобанкинга. Эмпирическую базу исследования составляют научные публикации и иные источники. Методологическую основу исследования составили общенаучные и частнонаучные методы исследования: диалектический, формально-логический, структурно-функциональный, сравнительно-правовой, формально-юридический и другие методы.

Результаты: На сегодняшний день отсутствуют единые подходы к определению содержания понятия «биобанк». Чаще всего под биобанком понимается систематизированное хранилище биологических образцов, а биобанковская деятельность связывается со сбором, систематизированным хранением и использованием биологических образцов.

В мире создано и функционирует множество биобанков, большая часть из которых находится в США и в Европе. Биобанки создаются и в России, в частности, один из них действует на базе ФГБУ «СЗФМИЦ» Минздрава России. Однако наша страна пока находится лишь на пороге решения задач, связанных с созданием и развитием биобанков. В том числе требуется урегулировать ряд вопросов правового характера.

В России отсутствуют специальные нормативные правовые акты, регулирующие отношения в рассматриваемой сфере. Между тем создание биобанков может быть сопряжено с привлечением значительных финансовых ресурсов. Также биобанки способны оказывать негативное воздействие на соблюдение таких конституционных прав граждан, как право на неприкосновенность частной жизни, личную и семейную тайну, право на охрану здоровья и медицинскую помощь и другие. Кроме того, деятельность биобанков в силу своей специфики может затрагивать национальные интересы Российской Федерации и оказывать влияние на обеспечение национальной безопасности.

Зарубежный опыт демонстрирует различные подходы к созданию биобанков, которые связаны, в частности, с организацией деятельности и

формированием имущественного комплекса биобанков. Существуют и активно развиваются как государственные, так и частные биобанки, функционирующие на коммерческой и некоммерческой основах. Значительное внимание уделяется не только правовым, но также и этическим аспектам деятельности биобанка. Для этого в организациях создаются специальные надзорные органы.

Выводы: Для российского законодательства характерно полное отсутствие специальных нормативных правовых актов в рассматриваемой сфере. В целом это оказывает отрицательное влияние на развитие биобанков в нашей стране.

Необходимо законодательно определить юридическое содержание понятия «биобанк». В частности, следует определить, должны ли биобанки признаваться имущественным комплексом либо они должны признаваться самостоятельными субъектами правоотношений. Если биобанки будут признаны имущественным комплексом, то следует определить его правовой режим. Признание биобанка субъектом правоотношений потребует определить его правовой статус.

Правовое регулирование в области организации функционирования биобанков должно обеспечивать соблюдение этических и моральных норм. В связи с этим представляет интерес зарубежный опыт по созданию и организации деятельности органов управления биобанков.

Организация работы банка стволовых клеток по получению клеточного материала в регенеративной медицине

Иволгин Д.А.^{1,2}, Смолянинов А.Б.^{1,2}*

¹ ООО «Покровский Банк Стволовых клеток»

Большой пр. В.О., 85, Санкт-Петербург 199106, Российская Федерация

*Тел. +7 9650632303, e-mail: ida59m@mail.ru

² Северо-Западный Медицинский Университет им. И.И. Мечникова, Российская Федерация

Ключевые слова: стволовые клетки, пуповинная кровь, автоматическая сепарация, полуавтоматическая сепарация

Stem cells bank activities organizing for cell product for regenerative medicine acquisition

Ivolgin D.A.^{1,2}, Smolyaninov A.B.^{1,2}*

¹ Pokrovskij Stem Cell Bank

Bolshoy Pr. V.O., 85, St. Petersburg 199106, Russian Federation

*Tel. +7 9650632303, e-mail: ida59m@mail.ru

² Research Laboratory of cell technologies North-Western Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

Key words: stem cells, umbilical cord blood, automated separation, semi-automated separation

Введение: Исход трансплантации стволовых клеток пуповинной крови (ПК) в регенеративной медицине во многом зависит от количества трансплантируемых клеток, поэтому необходимо максимально сохранять количество клеток в образце ПК при его обработке. Проводимые в банках ПК работы по повышению эффективности выделения ядросодержащих клеток (ЯК) могут значительно улучшить исходы трансплантации стволовых клеток ПК. Целью исследования является сравнительная оценка различных технических приемов обработки ПК для организации деятельности лаборатории выделения стволовых клеток, обеспечивающих максимальное сохранение ЯК.

Материал и методы: Образцы ПК, поступившие в НИЛ клеточных технологий и Покровский Банк Стволовых клеток в период с апреля по ноябрь 2014 г. (n = 420), были разделены на три группы в зависимости от способа обработки. Группа I (n=140) - метод двойного центрифугирования, группа II (n=140) - с помощью полуавтоматической системы «MasoPress Smart» («MasoPharma», Франция), группа III (n=140) - с использованием автоматической системы «Serax S100» («Biosafe», Швейцария).

Все образцы ПК исследовались по следующим показателям: до начала обработки – общее количество ядросодержащих клеток (ОЯК), после обработки и перед замораживанием - ОЯК, количество и жизнеспособность CD34+ клеток (на единицу объема и абсолютное). Выход ОЯК после обработки – рассчитывался в % от ОЯК до обработки. Статистический анализ проводился с использованием t-критерия. значимости был принят p Применялся стандартный пакет прикладных программ SPSS для Windows 2007 версия 19.

Результаты: При сравнении трех групп было выявлено достоверное повышение выхода ОЯК в группах II и III и группе I - $81,9 \pm 0,7\%$, $80,38 \pm 0,7\%$ и $77,86 \pm 1,1\%$, соответственно, ($p < 0,001$). Также общее количество CD34+ статистически значимо различалось в группе I и группах II и III- $6,85 \pm 0,53$, $2,95 \pm 0,2$ и $2,56 \pm 0,2$, соответственно ($p < 0,001$). Жизнеспособность во всех трех группах статистически значимо не различалась и составила для групп I, II и III $91,9 \pm 0,56$, $89,49 \pm 0,93$ и $89,54 \pm 0,9$, соответственно.

Временные затраты на выделение фракции ЯК из одного образца ПК для метода двойного центрифугирования составили 37 ± 4 мин, для автоматической обработки - 54 ± 2 мин и 25 ± 3 мин для полуавтоматического метода.

Выводы: Полученные данные позволяют говорить о том, что выделение фракции ЯК из ПК методами полуавтоматической и автоматической сепарации эффективнее метода двойного центрифугирования в отношении ОЯК, причем полуавтоматический и автоматический методы сопоставимы по эффективности. Различие в группах по количеству CD34+ клеток может быть связано с разными критериями включения образцов пуповинной крови для дальнейшей обработки для группы I (преимущественно аллогенное использование) и групп II и III (аутологичное использование). В связи с этим пер-

спективным для принятия решения о методе обработки ПК могло бы стать сравнение способов обработки в зависимости от объема поступающего образца. Также обработка ПК полуавтоматическим методом требует наименьших затрат времени.

Дальнейшие исследования эффективности основных способов выделения фракции ЯК на гораздо большем количестве образцов ПК и особенно экономической составляющей (себестоимости процедур обработки ПК различными методами) смогут помочь в организации деятельности банков пуповинной крови.

Мукополисахаридозы глазами анестезиолога - реаниматолога

Исаев К.А., Ларионова В.И

Институт экспериментальной медицины

ул. акад. Павлова, 12, Санкт-Петербург 197376, Российская Федерация

*Тел.: +7 911 777 8586, e-mail: isaevkamal@list.ru

Ключевые слова: мукополисахаридозы, гликозаминогликаны, трубная интубация, анестезиологические осложнения, нестабильность шейного отдела позвоночника

Mucopolysaccharidoses as viewed by an anesthesiologist

Isaev K.A., Larionova V.I.

Institute of Experimental Medicine

acad. Pavlov str., 12, St. Petersburg 197376, Russian Federation

*Tel.: +7 911 777 8586, e-mail: isaevkamal@list.ru

Key words: mucopolysaccharidoses, glycosaminoglycans, difficult intubation, anaesthetic complications, cervical spine instability

Мукополисахаридозы (МПС) – лизосомные заболевания, обусловленные нарушением функции лизосомных ферментов, принимающих участие в распаде гликозаминогликанов (ГАГ) - основного компонента соединительной ткани. ГАГ регулируют многочисленные процессы, включая клеточную адгезию. Диагностика этого класса заболеваний основывается на выявлении определенных клинических признаков и предусматривает необходимый перечень лабораторных тестов, включая измерение уровня экскреции ГАГ в моче, активности определенных ферментов в крови и молекулярно-генетические тесты.

Все МПС, кроме МПС 2 типа (синдром Хантера), имеют аутосомно-рецессивный тип наследования. МПС 2 типа наследуется X-сцепленным рецессивным путем. Накопление различных ГАГ приводит к вовлечению в процесс практически всех органов и систем. Эти заболевания имеют про-

грессирующее течение. Эти пациенты нередко требуют оперативного вмешательства в связи с основными клиническими проявлениями заболевания. Им проводятся такие операции как грыжесечение, аденотонзилэктомия, трахеостомия, шунтирование гидроцефалии. А также возможны операции по поводу карпального туннельного синдрома, протезирования клапанов сердца и тазобедренных суставов.

Важно помнить, что у этих пациентов существует ряд причин, которые приводят к осложнениям, возникающим при проведении анестезиологического обеспечения. Это риноррея, утолщение носовой мембраны, гортани и трахеи, увеличение языка, гипертрофия миндалин, ткани надгортанника вследствие отложения ГАГ, а также воспаления и отека. Эти изменения приводят к трудной интубации вследствие обструкции дыхательных путей и ларингоспазма. Часто возникают постинтубационные проблемы, которые требуют реинтубации, трахеостомии. Иногда развивается отек легких, глубокая гипоксемия и сердечная недостаточность. Кроме того, при некоторых типах МПС, как, например, при синдроме Моркио, возможны осложнения со стороны шейного отдела позвоночника вследствие его нестабильности. Нарушенная анатомия шейного отдела позвоночника требует интубации гибким бронхоскопом.

Выводы: Поскольку у пациентов с МПС есть предпосылки для сложной интубации, связанной с отложением ГАГ и изменением нормального строения дыхательных путей, в стационаре, оказывающим специализированную медицинскую помощь пациенту, необходимо иметь интубационные трубки и ларингеальные маски всех размеров, поскольку размер голосовой щели непредсказуем. Риск осложнений при проведении анестезиологического обеспечения возрастает вследствие нарушенной анатомии шейного отдела позвоночника, а также имеющихся сердечно-сосудистой и дыхательной недостаточности.

**Экспрессии нуклеарного фактора транскрипции κB
и трансформирующего фактора роста β1 в почках крыс с односторонней
обструкцией мочеточника, получавших соевую диету**

*Смирнов А.В.¹, Иванова Г.Т.², Береснева О.Н.¹, Парастаева М.М.¹,
Кучер А.Г.¹, Зарайский М.И.¹, Сиповский В.Г.¹, Карунная А.В.¹,
Каюков И.Г.^{1*}*

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова

* Л. Толстого ул.17, Санкт-Петербург 197022, Россия
Тел.: +7 9818153949, e-mail: kvaka55@mail.ru

²Институт физиологии им. И.П. Павлова, Россия

Ключевые слова: нуклеарный фактор транскрипции κB , трансформирующий фактор роста β1 , почки, тубулоинтерстициальный фиброз

Expression of nuclear transcription factor κ B and transforming growth factor β 1 in kidney tissue in rats with unilateral ureteral obstruction, received soy protein diets

Smirnov A.V.¹, Ivanova G.T.², Beresneva O.N.¹, Parastaeva M.M.¹, Kucher A.G.¹,
Zaraysky M.I.¹, Sipovsky V.G., Karunnaya A.V.¹, Kayukov I.G.^{1*}

¹First Pavlov St.-Petersburg State Medical University

* L. Tolstoy st. 17, St. Petersburg 197022, Russian Federation

Phone: +7 9818153949, e-mail: kvaka55@mail.ru

²Institute of Physiology named after I.P. Pavlov, Russian Federation

Key words: nuclear transcription factor κ B, transforming growth factor β 1, kidney, tubulointerstitial fibrosis

Введение: Тубулоинтерстициальный фиброз (ТФ) играет ведущую роль в прогрессировании хронических нефропатий (ХН)[1]. При этом важное значение имеет повышение активности TGF- β /Smad и NF κ B сигнальных путей, стимулирующих развитие фибротических и воспалительных изменений соответственно [1–3]. Цель работы - изучить влияние диеты с различным содержанием соевого белка (СБ) на экспрессию гена NF κ B и белка TGF- β в почечной ткани у крыс с односторонней обструкцией мочеточника (ООМ), индуцированной межлигатурной перерезкой мочеточника.

Материал и методы: В исследовании использовали самцов крыс Вистар. В первой группе (n=6) крысы получали стандартную диету (20% животного белка). Во второй группе (n=7) сразу после операции животные получили диету с высоким содержанием соевого белка (50% - соевый белок Supro 760, Solae Europe SA, Швейцария, 50% - перловая крупа). В третьей группе (n=8) крысы получали рацион с низким содержанием белка и добавлением СБ (10% - соевый изолят, 90% - перловая крупа). Продолжительность наблюдения во всех случаях была 14 дней после ООМ. Исследование экспрессии белка TGF- β выполняли иммуногистохимически с использованием кроличьих поликлональных антител к TGF- β (Санта - Крус, США) и системы обнаружения полимера (ДАКО, Дания). Анализ воспалительно/склеротического процесса (ВСП, %) и продукции TGF- β (%) были оценены в 20-и неперекрывающихся полях зрения в кортикальном слое, под увеличением $\times 40$ с использованием 100 точек сетки, за исключением счета клубочков и артерий. Оценку экспрессии мРНК гена NF κ B проводили с использованием РТ-ПЦР. Ген GAPDH был использован в качестве референс-гена. Относительные уровни экспрессии (ОУЭ) между группами были рассчитаны с использованием протокола 2-дельтаСt. ОУЭ в почках с ООМ сравнивали между контралатеральными органами.

Результаты: Распределение накопления TGF- β в почках крыс с ООМ ($76,6 \pm 4,09$; среднее \pm SE) в клетках канальцев первой группы было значительно выше, чем в других (во второй - $65,3 \pm 2,22$, $p < 0,05$, в третьей - $43,4 \pm 2,05$, $p < 0,005$). Иммуногистохимическая активность TGF- β во второй группе была выше по сравнению с третьей ($p < 0,001$). Выраженность ВСП в первой

и второй группах крыс достоверно не различались ($34,7 \pm 3,56$, против $28,4 \pm 2,05$, соответственно, $p = NS$), и была значительно выше по сравнению с третьей группой ($20,3 \pm 0,84$, $p = 0,002$ и $p < 0,005$; соответственно). Экспрессия гена NFκB в первой группе была самой высокой и превышала таковую в контралатеральных органах в 1,5 раза. Не были выявлены значимые различия экспрессии гена NFκB между второй и третьей группами в экспериментальных и контралатеральных почках.

Выводы: Диеты, дополненные СБ, уменьшают тяжесть воспалительных и склеротических изменений в почечной паренхиме крыс с ООМ. Такой эффект СБ, возможно, реализуется через его вмешательство в TGFβ1/Smad и частично - в NFκB сигнальные пути. В то же время низкобелковые диеты, дополненные СБ, имеют более выраженный нефропротективный эффект, чем рационы с высоким содержанием соевого протеина.

Список литературы:

1. Meng XM, Huang XR, Xiao J, Chen HY. 2012. Diverse roles of TGF-β receptor II in renal fibrosis and inflammation in vivo and in vitro. *J Pathol*, 227:175-188.
2. Lan HY. 2011. Diverse roles of TGF-β/Smads in renal fibrosis and inflammation. *Int J Biol Sci*, 7: 1056-1067.
3. Liu Y. 2006. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney Int* 69: 213-217.

Экспрессия нуклеарного фактора транскрипции κB в миокарде крыс с нефрэктомией, содержащихся на высокобелковых рационах

Каюков И.Г.^{1}, Парастаева М.М.¹, Берсенева О.Н.¹, Иванова Г.Т.²,
Кучер А.Г.¹, Карунная А.В.¹, Зарайский М.И.¹*

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

* Л. Толстого ул.17, Санкт-Петербург 197022, Российская Федерация
Тел.: +7 9818153949, e-mail: kvaka55@mail.ru

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Российская Федерация

Ключевые слова: нуклеарный фактор транскрипции κB, миокард, гипертрофия, нефрэктомия

Expression of nuclear transcription factor κB in myocardium in rats with nephrectomy received high protein diets

Kayukov I.G.^{1}, Parastaeva M.M.¹, Beresneva O.N.¹, Ivanova G.T.², Kucher A.G.¹,
Karunnaya A.V.¹, Zaraysky M.I.¹*

¹First Pavlov St. Petersburg State Medical University

* L. Tolstoy str. 17, St. Petersburg 197022, Russian Federation
Phone: +7 9818153949, e-mail: kvaka55@mail.ru

²Institute of Physiology named after I.P. Pavlov Russian Federation

Key words: nuclear transcription factor κ B, myocardium, hypertrophy, nephrectomy

Введение: Нуклеарный фактор транскрипции κ B (NF- κ B), является основной эффекторной молекулой, за счет которой усиливается экспрессия цитокинов, оказывающих повреждающее действие на сердце. У людей с сердечной недостаточностью регистрировалась активация NF κ B [1], тогда как его подавление вызывало кардиопротекторный эффект [2]. Уремические токсины стимулируют развитие гипертрофии за счет активации p38 MAPK, p42/44 MAPK и NF κ B сигнальных путей [3]. Результаты ряда наших предыдущих исследований наводят на мысль о том, что ремоделирование миокарда у крыс с экспериментальным уменьшением массы действующих нефронов может существенно модулироваться вариациями количества и качества белка в рационе [4,5]. Тем не менее, роль NF κ B-зависимых сигнальных путей в ремоделировании миокарда при изменениях белкового состава рациона остается неясной.

Материал и методы: Были исследованы три группы крыс с нефрэктомией (НЭ) 5/6 массы почек: (1) получавшие стандартный рацион (20% животного белка, n = 12), (2) получавшие высокобелковую диету (ВБД1, 50 % яичного белка, n = 9) и (3) получавшие ВБД2 (50 % соевого белка, n = 9). Животные наблюдались два месяца после НЭ. Уровень экспрессии мРНК гена NF κ Bp65 в миокарде исследовали с помощью РТ-ПЦР. Ген GAPDH использован для нормализации. Относительные уровни экспрессии (ОУЭ) между группами рассчитывали с использованием протокола $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Изменение значений в два раза и более считались значимыми. Измеряли артериальное давление (АД, мм рт. ст.) и частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин). В сыворотке крови исследовали: концентрацию мочевины (М, ммоль/л), общий холестерин (ОХ, ммоль/л), неорганический фосфор (НФ, ммоль/л) и щелочную фосфатазу (ЩФ, У/л). Индекс массы левого желудочка (ИМЛЖ, мг/г) рассчитывали как отношение массы желудочка к массе тела крысы. Данные представлены как среднее \pm ошибка среднего. Для статистической обработки использован непарный t-тест Стьюдента.

Результаты: Через два месяца после НЭ не были выявлены статистически значимые различия между группами 1 и 2 по уровням М ($16,2 \pm 0,36$ и $16,7 \pm 0,75$, соответственно), НФ ($2,59 \pm 0,09$ и $3,10 \pm 0,1$), ОХ ($1,60 \pm 0,12$ и $1,64 \pm 0,08$), ЩФ ($494,3 \pm 39,5$ и $590,0 \pm 51,1$), АД (150 ± 5 и 160 ± 10) и ЧСС ($407,0 \pm 17,0$ и $415,0 \pm 15,0$). ИМЛЖ у крыс, получавших ВБД1 ($3,36 \pm 0,09$), был значительно больше, чем у животных, получавших стандартную диету ($2,94 \pm 0,12$, $p < 0,05$). Напротив, в группе 3 значения М ($10,7 \pm 0,56$, $p < 0,001$), НФ ($1,96 \pm 0,02$, $p < 0,05$), ОХ ($1,11 \pm 0,08$, $p < 0,005$), АД ($120,5 \pm 5$, $p < 0,001$) и ЧСС (354 ± 14) были значительно ниже, чем в группе 1. Также ИМЛЖ у крыс, получавших ВБД2 ($2,64 \pm 0,11$), был меньше, чем у животных, потреблявших стандартный рацион, но эта разница не достигла статистической значимости $p < 0,1$. Аналогичные параметры в группе 3 по сравне-

нию с группой 2 были значительно ниже: М ($p < 0,001$), НФ ($p < 0,001$), ОХ ($p < 0,001$), ЩФ ($404,8 \pm 35,5$, $p < 0,01$), АД ($p < 0,005$), ЧСС ($p < 0,01$) и ИМЛЖ ($p < 0,001$). ОУЭ гена NFκBp65 в миокарде был значимо ниже в группе 3 (ОУЭ - 1,34), чем в обеих группах сравнения. ОУЭ в группе 2 и в группе 1 (7,46 и 5.01, соответственно) существенно не различались.

Заключение: ВБД, включающая протеины сои, оказывает меньшее повреждающее влияние на сердечно-сосудистую систему при экспериментальной ПН по сравнению с ВБД на основе животных белков. Возможно, соевые белки могут оказывать влияние на ремоделирование миокарда в данной ситуации через NFκB сигнальные пути.

Список литературы:

1. Frantz S, Fraccarollo D, Wagner H, Behr T. et al. 2003. Sustained activation of nuclear factor kappa B and activator protein 1 in chronic heart failure. *Cardiovasc Res*, 57: 749–756.
2. Morishita R, Sugimoto T, Aoki M, Kida I. et al. 1997. In vivo transfection of cis element “decoy” against nuclear factor-kappaB binding site prevents myocardial infarction. *Nat Med*, 3: 894–899.
3. Tumlin J, Costanzo M, Chawla L, Herzog C., et al. 2013. Cardiorenal syndrome type 4: insights on clinical presentation and pathophysiology from the eleventh consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI). *Contrib Nephrol* 182: 158-173.
4. Иванова ГТ, Кучер АГ, Береснева ОН, Парастаева ММ. Оценка в эксперименте нефропротективного и кардиопротективного эффектов длительного применения малобелковой диеты, включающей кетостерил. 2011. *Нефрология*, 4: 45-50.
5. Dobronravov V, Smirnov A, Parastaeva M, Beresneva O. 2005. Influence of low- and
6. high-soy protein diet on the progression of experimental chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 20:70.

Нарушения липидного обмена и эффективность терапии аторвастатином у больных сахарным диабетом 2 типа, проживающих в Санкт-Петербурге – носителей различных генотипов Q192R гена параоксоназы 1 (PON 1)

Ким М.В.^{1,2}, Скорюкова С.А.¹, Быстрова А.А.^{1,2}, Баранова Е.И.^{1,2}, Пчелина С.Н.¹*

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Россия

² Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр Кустодиева ул. 2, Санкт-Петербург 194352, Россия

* Тел.: +7 9618027208, e-mail: marykim86@mail.ru

Ключевые слова: сахарный диабет, дислипидемия, ген параоксоназы 1, аторвастатин

Lipid metabolism and the effectiveness of atorvastatin therapy for the treatment of patients with type 2 diabetes (DM2) - carriers of various Q192R genotypes of paraoxonase-1 (PON1) residing in St. Petersburg, Russian Federation

Kim M.V.^{1,2}, Skoryukova S.A.¹, Bystrova A.A.^{1,2}, Baranova E.I.^{1,2}, Pchelina S.N.¹*

¹First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Russian Federation

²Federal North-West Medical Research Centre, Russian Federation

Tel: +7 9618027208, e-mail: marykim86@mail.ru

Key words: diabetes mellitus, dyslipidemia, paraoxonase-1 gene, atorvastatin

Введение: Параоксоназа 1 (PON1) играет ключевую роль в регуляции процессов перекисного окисления липидов [1], активность фермента генетически детерминирована [2]. Полиморфные варианты гена *PON1* могут определять формирование атерогенных изменений липидного спектра крови у больных сахарным диабетом (СД) 2 типа [3]. Эффективность терапии статинами у пациентов с сахарным диабетом 2 типа - носителей различных генотипов полиморфизма Q192R гена параоксоназы 1 не изучена.

Цель исследования: Оценить особенности липидного обмена и эффективность терапии аторвастатином у больных сахарным диабетом 2 типа - носителей различных генотипов полиморфного варианта Q192R гена *PON1*, проживающих в Санкт-Петербурге.

Материалы и методы: Обследованы 382 пациента с СД 2 типа, не получавших ранее терапию статинами и 187 практически здоровых лиц. Всем включенным в исследование выполнен анализ крови для определения липидного спектра и проведено молекулярно-генетическое обследование с целью определения вариантов Q192R *PON1* методом рестрикционного анализа в лаборатории высокотехнологичных методов молекулярного анализа ДНК отдела молекулярно-генетических технологий научно-исследовательского центра ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России под руководством заведующей лабораторией, доктора биологических наук С.Н. Пчелиной. В группу лечения аторвастатином вошли 164 пациента с СД 2 типа с дислипидемией, показатели липидного спектра крови оценивались исходно и через 3 месяца терапии аторвастатином.

Результаты: Распределение генотипов и частота аллелей полиморфизма Q192R гена параоксоназы 1 у больных сахарным диабетом 2 типа и у практически здоровых лиц не различаются. У практически здоровых лиц носительство генотипа QR полиморфизма Q192R гена параоксоназы 1 ассоциируется с более высокими значениями холестерина липопротеинов очень низкой плотности и триглицеридов по сравнению с этими показателями липидного спектра крови у носителей генотипа QQ. У практически здоровых лиц носительство генотипа QQ ассоциируется с более высокими значениями холестерина липопротеинов высокой плотности по сравнению с этим показате-

лем липидного спектра крови у носителей генотипа RR. У пациентов с СД 2 типа – носителей генотипов QQ, QR и RR полиморфизма Q192R гена параоксоназы 1 показатели липидного спектра крови не различаются. При сравнении эффективности терапии аторвастатином у носителей генотипа QQ полиморфизма Q192R гена параоксоназы 1 отмечено большее снижение уровня общего холестерина, чем у пациентов – носителей генотипа QR через 3 месяца лечения препаратами - ингибиторами 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А редуктазы.

Заключение: У жителей Санкт-Петербурга - больных СД 2 типа распределение генотипов и аллелей полиморфизма Q192R гена *PON 1* не отличалось от распределения у здоровых; у носителей различных генотипов данного гена показатели липидограммы не различались. На фоне терапии аторвастатином в течение 3 месяцев у носителей генотипа QQ полиморфизма Q192R гена параоксоназы 1 отмечено большее снижение уровня общего холестерина, чем у пациентов – носителей генотипа QR.

Список литературы:

1. Jamuna RA., Mythili SV, Nagarajan S. 2014. Study on paraoxonase 1 in type 2 diabetes mellitus. *Indian J Physiol Pharmacol* 58: 13-16.
2. Dalia El-Lebedy, Mona Kafoury, Dalia Abd-El Haleem. 2014. Paraoxonase-1 gene Q192R and L55M polymorphisms and risk of cardiovascular disease in Egyptian patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Metab Disord* 13: 124
3. Колбасин ЛН, Урванцева ИА, Гильнич НА. 2010. Ассоциация полиморфизма Q192R гена параоксоназы *PON1* с показателями липидограммы. *Клинико-лабораторный консилиум № 2*: 33-34с.

Диагностика хромосомных микроперестроек с применением метода хромосомного анализа высокого разрешения и молекулярного кариотипирования

Колотий А.Д.^{1,2}, Демидова И.А.^{1,2,3}, Кравец В.С.^{1,2,3}, Юров Ю.Б.^{1,2,3}

¹ Обособленное структурное подразделение - НИКИ педиатрии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

² Научный центр психического здоровья, Россия

³ Московский городской психолого-педагогический университет, Россия ул. Талдомская, 2, Москва 127412, Россия

Тел.: +74954841948, e-mail: svorsanova@mail.ru

Ключевые слова: молекулярное кариотипирование, анализ хромосом высокого разрешения, микроперестройки хромосом

The diagnosis of chromosomal microrearrangements using the high-resolution chromosomal analysis and molecular karyotyping

Kolotii A.D.^{1,2}, Demidova I.A.^{1,2,3}, Kravets V.S.^{1,2,3}, Yurov Y.B.^{1,2,3}

¹ Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Federation

² Mental Health Research Center, Russian Federation

³ Moscow State University of Psychology and Education, Russian Federation
Taldomskaya str. 2, Moscow 127412, Russian Federation

Tel.: +74954841948, e-mail: svorsanova@mail.ru

Keywords: molecular karyotyping, the high-resolution chromosomal analysis, chromosomal microrearrangements

Микроперестройки хромосом являются частым этиологическим фактором умственной отсталости, задержки развития и аутизма у детей. Это подтверждено многочисленными исследованиями с использованием современных молекулярно-цитогенетических технологий, таких как серийная сравнительная геномная гибридизация, или молекулярное кариотипирование. Активное внедрение в практику данного метода позволило выявить большое число геномных микроперестроек, сложных для стандартного цитогенетического исследования [1-3]. Тем не менее, первым лабораторным генетическим исследованием является цитогенетический анализ, а во многих регионах нашей страны - единственным. Стандартный цитогенетический анализ, проведенный на дифференциально окрашенных хромосомах с разрешением 500-550 полос, позволяет определить структурную перестройку размером не менее 5-7 млн пн [1]. Однако в ряде случаев получить хромосомы такого разрешения бывает затруднительно (в пренатальной диагностике, у новорожденных). В последнее время увеличилось число случаев, в которых несбалансированная микроперестройка (делеция или дупликация) была определена молекулярным кариотипированием, а первичное цитогенетическое исследование до этого аномалию не выявило. Если размер такой микроаномалии составляет 5 млн пн и более, то встает вопрос о возможности её выявления хромосомным анализом высокого разрешения. Этот метод необходим для корректного медико-генетического консультирования семьи больного ребенка, поскольку выявить вероятное носительство перестройки в сбалансированном виде у родителей можно, в основном, цитогенетическим методом или методом FISH соответствующими ДНК зондами. В использовании этих методов в первую очередь нуждаются случаи терминальных дупликаций, которые могут быть результатом межхромосомной транслокации у одного из родителей. Несомненно, метод array CGH незаменим для выявления субмикроскопического дисбаланса генома, ряд ограничений при его применении связаны со сбалансированными хромосомными перестройками, скрытым мозаицизмом, полиплоидией, хромосомной нестабильностью. Перечисленные аномалии могут быть обнаружены цитогенетическим методом или методом FISH [3]. В связи с этим, сочетание хромосомного анализа высокого разрешения, FISH метода и молекулярного кариотипирования может выявить аномалии генома с максимальной эффективностью.

Исследование выполнено за счет гранта Российского Научного Фонда (проект №14-15-00411).

Список литературы:

1. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Соловьев И.В., Юров Ю.Б. 2008. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клинико-биологические аспекты. М.: Медпрактика.
2. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Kurinnaia O.S., Zelenova M.A., Silvanovich A.P., Yurov Y.B. 2012. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies. *Molecular Cytogenetics*, V5, №1, 10.
3. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. 2014. In silico molecular cytogenetics: a bioinformatic approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research. *Molecular cytogenetics*, 7(1), 1-11.

Тестирование плода по ДНК в крови матери — новый алгоритм пренатальных исследований

Кречмар М.В.

Северо-Западный пренатальный генетический центр

14 линия ВО 7, Санкт-Петербург 197000, Россия

Тел.: +7 677 14 08, e-mail: krechmar.mv@mail.ru

Ключевые слова: пренатальная диагностика, НИПТ, анеуплоидии, медико-генетическое консультирование

Testing fetal DNA in the mother's blood as a new algorithm of prenatal testing

Krechmar M.V.

Nord-West Prenatal genetic center

V.O., 14 line, 7, St. Petersburg 197000, Russian Federation

Tel.: 677 14 08 , e-mail: krechmar.mv@mail.ru

Key words: prenatal diagnosis, NIPT, aneuploidies, genetic counselling

Введение: Тестирование плодной ДНК в крови матери с целью исключения трисомий 21, 13 и 18, нарушений числа X и Y хромосом, а также триплоидии стало реальностью в мировой клинической практике с 2011 года. К настоящему времени в мире выполнены сотни тысяч диагностических тестов по разным показаниям и в разные сроки беременности. Внедрение тестирования по плодной ДНК в крови матери существенно изменило подходы к проведению скрининговых исследований и инвазивных вмешательств.

Материалы и методы: В Санкт-Петербурге в Северо-Западном пренатальном генетическом центре в алгоритм пренатальных исследований esti-

рование плода по крови матери (тест «Первая 5!») было внедрено в клиническую практику с 2013 года. В настоящее время мы используем расширенный тест – «Первая 5! +», включающий оценку участков, делеции в которых дают пять наиболее частых микроделеционных синдромов (Ди Джоржи, Прадера – Вилли, Ангельмана, Лежена, делеции 1p36). В данной работе представлены результаты анализа применения тестирования плодной ДНК в крови матери в группе беременных из 165 человек. В 34 случаях исследование предполагало, кроме анеуплоидий, также исключение указанных микроделеционных синдромов.

Результаты: На основании анализа исследуемой группы, практики пре- и посттестового медико-генетического консультирования, нами были сформулированы показания и противопоказания, разработаны рекомендации по применению неинвазивного пренатального тестирования (НИПТ) в разных группах беременных, обоснованы изменения алгоритмов пренатальной диагностики. Все беременные (семьи) перед проведением исследования ДНК плода проходили обязательное претестовое медико – генетическое консультирование. По результатам анализа также проводилось консультирование с выдачей медико-генетического заключения и рекомендациями по дальнейшему обследованию плода.

Несколько семей на предварительную консультацию обращались еще на этапе подготовки к беременности. Именно это позволило получить результат исследования в 11% случаев в сроках до 12 недель, еще до проведения УЗИ первого триместра. В двух случаях по результатам неинвазивной диагностики была выявлена трисомия 21, что позволило оперативно провести дообследование и прервать беременность в сроке еще до 12 недель.

Основной мотивацией беременных, самостоятельно обратившихся для проведения НИПТ, было желание избежать инвазивных процедур при повышенном риске трисомий 21, 13 и 18, установленном по результатам комбинированного скрининга первого триместра или УЗИ в 18 – 22 недели, а также при высоком базовом риске – возрастном или семейном (случаи синдрома Дауна, Тернера, Эдвардса и Патау). Задачей генетика - консультанта на этом этапе была оценка реальных рисков с учетом всех данных, назначение оптимального диагностического исследования (инвазивного или неинвазивного) и помощь семье в принятии решения. В трех случаях мы провели НИПТ беременным группы высокого риска, которым было рекомендовано кариотипирование клеток плодного материала, но инвазивная диагностика была отменена или отложена по состоянию матери (ОРЗ, ВИЧ).

По результатам тестирования плодной ДНК в крови матери в 10 случаях были установлены хромосомные аномалии, из них в 9 - трисомия 21 и в одном – нарушение числа половых хромосом (ХУУ). Отметим, что в 4 случаях трисомии 21 у плода НИПТ проводилось уже во втором триместре, при рисках по результатам комбинированного скрининга в 11 – 13 недель в 3 случаях как «низкий», в одном как «пограничный». Только тестирование

ДНК плода по крови матери позволило выявить хромосомную патологию и изменить тактику ведения беременности.

Заключение: Тестирование по ДНК крови матери является высокоэффективным методом в программе обследования плода. НИПТ рекомендуется большинству беременных с учетом ограничений методики или показаний со стороны плода. Во всех случаях должно быть проведено как пре- так и посттестовое медико-генетическое консультирование с целью уточнения показаний и противопоказаний, оценки рисков, а также для помощи семье в выборе программы и отдельных методов обследования плода с целью рождения здорового ребенка.

Нейрофиброматоз I типа: регистр, база данных

Ледашчева Т.А.^{1,2}, Кинунен А.А.^{1,2}*

¹СЗГМУ им. И.И. Мечникова

²СПб Диагностический центр (медико-генетический)

ул. Тобольская, 5, Санкт-Петербург 194044, Российская Федерация

*Тел.: + 7 812 294 7002; e-mail: ledashcheva@mail.ru

Ключевые слова: нейрофиброматоз I типа (НФ1), регистр, база данных, неоплазии

Neurofibromatosis type I: register, database

Ledashcheva T.A.^{1,2}, Kinunen A.A.^{1,2}*

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg

²St. Petersburg Centre for Medical Genetics

Tobolskaya str. 5, St. Petersburg 194044, Russian Federation

*Tel.: + 7 812 294 7002; e-mail: ledashcheva@mail.ru

Keywords: neurofibromatosis type I (NF1), register, database, neoplasia

Введение: Нейрофиброматоз I типа (НФ1) – наиболее часто встречающаяся моногенная патология, характеризующаяся аутосомно-доминантным типом наследования с высокой пенетрантностью и варьирующей экспрессивностью мутантного гена. Несмотря на то, что НФ1 отличается высокой предрасположенностью к развитию неоплазий, в России до настоящего времени нет инструкций по регистрации, учету и диспансерному наблюдению за больными с предопухолевыми состояниями [1].

Медицинский Регистр (MR) – это единая электронная система сбора, хранения и обновления достоверных данных об эпидемиологической картине и клинической практике по одному или нескольким заболеваниям, а также

анализ полученных данных и построение прогнозов на их основе. Основной практической задачей МР являются специализированные исследования и анализ полученных собственных данных совместно с данными МР на любом уровне его функционирования [2]. База данных (БД) - представленная в объективной форме совокупность самостоятельных материалов, систематизированных таким образом, чтобы эти материалы могли быть найдены и обработаны с помощью электронной вычислительной машины (ЭВМ) [3]. БД позволяет автоматизировать рутинные процедуры, формировать справки произвольного состава по карте больного, получать различные справочные данные по любой необходимой выборке пациентов, проводить оперативный анализ данных, создавать таблицы нужной формы, проводить статистическую выборку по числовым показателям, оценивать эффективность лечения, диспансеризации, молекулярно-генетической диагностики, в том числе и пренатальной (ПД) [4]. Любые внекомпьютерные хранилища информации (архивы, библиотеки, картотеки и т. п.) базами данных не являются. **Цель исследования:** Создание и применение МР и БД в научной работе и практическом здравоохранении с целью улучшения специализированной помощи конкретному пациенту. **Материалы и методы:** В МГЦ с 1996г. созданы и пополняются в динамике МР и БД НФ1. Они позволяют накапливать, хранить и обрабатывать информацию. Основой МР НФ1 явился Первый Российский популяционный раковый регистр, созданный в СПб (1995) и входящий в состав Международной ассоциации раковых регистров, уделяющих значительное внимание «новообразованиям неопределенного характера поведения», к которым относится НФ1. На основании МР мы попытались сформировать БД НФ1, которая к настоящему времени содержит сведения о 732 больных из 513 семей с НФ1, родившихся в 1930-2014г.г. Семейные случаи составили 42,7%. Данные о семьях вносятся в БД по факторам, рассматриваемым в литературе как значимые или потенциально значимые для НФ1. Диагностика проводилась на основании разработанных нами критериев, включающих клинико-неврологические, молекулярно-генетические, инструментально-лабораторные и другие методы подтверждения диагноза.

Результаты и обсуждение: Анализ МР НФ1 свидетельствовал о значительном росте числа больных с пиком в 1984-1994г.г. БД НФ1 позволила оценить тяжесть течения НФ1, определить наличие неоплазий и по локализация опухолевого процесса выделить периферическую, центральную, смешанную/комбинированную формы. По нашим данным наиболее часто встречалась периферическая форма (74,9%) и значительно реже - центральная (25,1%). Однако преимущественно МР и БД ориентированы на молекулярно-генетическую диагностику с целью уточнения диагноза, дородовое выявление патологии, в качестве контроля эффективности ПД, а также для выбора оптимальной терапии с учетом молекулярно-генетических данных.

Заключение: Медицинский регистр (МР) и база данных (БД) НФ1 актуальны как для научных исследований, так и для практического здравоохранения. МР и БД НФ1 позволяют анализировать частоту патологии в популяции, распространенность по районам мегаполиса для определения потребности в диагностической технике и лекарственных препаратах, особенности клинического течения, тяжесть состояния, отслеживать катамнез. БД НФ1 преимущественно ориентирована на проведение молекулярно-генетической диагностики как с целью уточнения диагноза, так и для дородового определения патологии у плода.

Список литературы:

1. Мерабишвили ВМ, Попова СП. Раковый регистр. Мир медицины 1998, №11-12: 61-63.
2. Медицинский регистр как территориально распределенная информационная среда. Доклад на форуме "MedSoft-2008", 29.04.2008. «Контекст Медиа». <http://www.context.ru>
3. www.medvestnik.ru
4. Мирошниченко ЕА. К формальному определению понятия «база данных». Проблемы информатики 2011, № 2: 83-87.

Современные подходы к диагностике синдрома Беквита-Видемана

Ледашчева Т.А.^{1,2}, Крючкова А.Д.³, Василишина А.А.^{1,3}, Гладкова Н.А.^{1,2},
Котелевская Е.А.^{1,3}, Двоеглазова М.О.³*

¹СЗГМУ им. И.И. Мечникова

²СПб Диагностический центр (медико-генетический)

³ООО «Покровский банк стволовых клеток»

ул. Тобольская 5, Санкт-Петербург 194044, Российская Федерация

*Тел.: + 7 812 294 7002; E-mail: ledashcheva@mail.ru

Ключевые слова: синдром Беквита-Видемана, гигантизм, макроглоссия, омфалоцеле, CDKN1C, IGF2, H19DMR, KvDMR, метилирование

Current approach to the diagnosis of Beckwith-Wiedemann syndrome

Ledashcheva T.A.^{1,2}, Kryuchkova A.D.³, Vasilishina A.A.^{1,3}, Gladkova N.A.^{1,2},
Kotelevskaya E.A.^{1,3}, Dvoeglazova M.O.³*

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

²St. Petersburg Centre of Medical Genetics

³ Pokrovsky Stem cell bank

Tobolskaya str. 5, St. Petersburg 194044, Russian Federation,

*Tel.: +7 812 294 7002; e-mail: ledashcheva@mail.ru

Key words: Beckwith-Wiedemann syndrome, gigantism, macroglossia, omphalocele, CDKN1C, IGF2, H19DMR, KvDMR, methylation

Введение: Беквита–Видемана синдром (СБВ) (МКБ: Q87.3; МИМ: 130650) описали Beckwith в 1963 г. [1] и Wiedemann в 1964 г. [2] в виде триады симптомов: макроглоссия, гигантизм, экзомфалос. Частота в популяции - 1:10000-20000 новорожденных [3]. СБВ редко диагностируется из-за неполных/стертых форм. До 85% СБВ - спорадические случаи, но рассматривается и аутосомно-доминантный тип наследования [4]. Для СБВ характерны структурные и функциональные аномалии критического района короткого плеча хромосомы 11. Гены-кандидаты СБВ (*CDKN1C* и *IGF2*) расположены в регионе 11p15.5, где находится кластер импринтированных генов. Большинство случаев СБВ связаны с экспрессией импринтированных генов. До 50% больных имели снижение уровня метилирования импринтингового центра 2 (IC2/ICR2/KvDMR), что способствовало снижению экспрессии гена *CDKN1C*. 5% случаев обусловлены гиперметилированием импринтингового центра 1 (IC1/ICR1/H19DMR), что приводило к повышенной экспрессии гена *IGF2*. У 15-25% больных выявлялась однородительская (отцовская) изодисомия 11p15.5 в мозаичном состоянии. При этом наблюдалось одновременно гиперметилирование IC1 и гипометилирование IC2. Также к СБВ приводят мутации в гене *CDKN1C*, расположенном на материнской хромосоме. Семейные формы ~ в 40% обусловлены мутациями гена *CDKN1C*, а в спорадические – не более чем в 5%. В редких случаях при СБВ выявляются дупликации, транслокации, инверсии в хромосомном локусе 11p15.5, мутации в гене *NSD1* [6-8]. Различают основные и второстепенные клинические признаки СБВ. Клинический диагноз СБВ выставляется при наличии 2-3 больших и одного малого признака [8]. Цель работы - определение частоты больших и малых критериев СБВ в Санкт-Петербурге и сравнительный анализ с данными литературы. Уточнение диагноза СБВ методами молекулярной диагностики.

Материалы и методы: Проанализированы 81 медико-генетическая карта и проведен анализ частоты некоторых признаков СБВ у наблюдаемых больных в сравнении с данными литературы. Начат анализ метилирования импринтинговых центров IC1 и IC2, с использованием набора SALSA MLPA ME030 (MRC-Holland), а также поиск делеций/дупликаций в хромосомном локусе 11p15.5.

Результаты: Среди больших клинических признаков чаще отмечены дефекты брюшной стенки (80% против 65%), реже – висцеромегалия (35% против 50%). Среди малых критериев преобладали особенности ушных раковин (74% против 30%), реже обнаруживались «пылающий» некус на лице (9% против 30%) и неонатальная гипогликемия (20% против 30-65%). Также мы отметили признаки, частота которых не указана в литературе: лицевые дизморфии (40%), дисбактериоз (11%), экзофтальм (7%), патология почек (10%), иммунодефицит (10%) и др. Молекулярный дефект выявлен в 2-х случаях из 4-х обследованных. В одном случае обнаружено гипометилирование IC2, в другом – UPD(11p15)pat в мозаичном состоянии.

Заключение: Полученные результаты позволили предположить, что комплекс клинических симптомов может иметь индивидуальные особенности для каждого региона. Проведение молекулярной диагностики будет способствовать уточнению диагноза СБВ со стертой/атипичной симптоматикой, а также провести корреляцию фенотип/генотип.

Список литературы:

1. Beckwith JB. Extreme cytomegaly of the adrenal fetal cortex, omphalocele, hyperplasia of kidneys and pancreas, and Leydigcell hyperplasia: another syndrome? 11th Ann Meeting of West Soc for Pediatr Res, Los Angeles, November 11, 12, 1963; No 20.
2. Wiedemann H-R. Complexe malformatif familial avec hernie ombilicale et macroglossie; un «syndrome nouveau»? J genet hum 1964, 13: 223–363.
3. orphanir.ru/disease/show/185
4. Weksberg R et al. Beckwith-Wiedmann syndrome. Eur J Hum Genet 2010, 18: 8-14.
5. Eggermann T, Algar E, Lapunzina P, et al. Clinical utility gene card for: Beckwith–Wiedemann syndrome Eur J Hum Genet 2014, 22: 132.
6. Baujat G, Rio M, Rossignol S, et al. Paradoxical NSD1 mutations in Beckwith-Wiedemann syndrome and 11p15 anomalies in Sotos syndrome. Am J Hum Genet 2004, 74: 715-720.
7. McNeil DE, Brown M, Ching A, DeBaun MR. Screening for Wilms tumor and hepatoblastoma in children with Beckwith-Wiedemann syndromes: a cost-effective model. Med Pediatr Oncol 2001, 37: 349-356.
8. Shuman C, Beckwith JB, Smith AC, Weksberg R. Beckwith-Wiedmann syndrome. GeneReviews™ [Internet], December, 2010.

Использование секвенирования следующего поколения в молекулярной диагностике нейрофиброматоза 1 типа

Ледашчева Т.А.^{1,2}, Жукова Е.А.³, Кинунен А.А.^{1,2}, Насыхова Ю.А.³, Глотов А.С.³*

¹СЗГМУ им. И.И. Мечникова

²СПб Диагностический центр (медико-генетический)

³НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»
ул. Тобольская 5, Санкт-Петербург 194044, Российская Федерация,

*Тел.: + 7 812 294 7002; e-mail: ledashcheva@mail.ru

Ключевые слова: *нейрофиброматоз 1 типа (НФ1), NGS секвенирование*
Next-generation sequencing in molecular diagnosis of neurofibromatosis type

1

Ledashcheva T.A.^{1,2}, Zhukova E.A.³, Kinunen A.A.^{1,2}, Nasyhova Y. A.³, Glotov A.*

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

²St. Petersburg Centre for Medical Genetics

³The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott

Tobolskaya str. 5, St. Petersburg, Russian Federation, 194044

*Tel.: + 7 812 294 7002; e-mail: ledashcheva@mail.ru

Keywords: Neurofibromatosis type I (NF1), NGS, next-generation sequencing

Введение: Нейрофиброматоз 1 типа (НФ1) (синоним: болезнь Реклингхаузена), (MIM: 162200) – это моногенная патология с аутосомно-доминантным типом наследования, высокой пенетрантностью и варьирующей экспрессивностью мутантного гена. Ген *NF1* картирован на 17 хромосоме в районе 17q11.2 [1-3]. Продуктом гена *NF1* является белок нейрофибромин, который экспрессируется повсеместно и в небольших концентрациях обнаруживается практически во всех тканях. Характер мутаций весьма специфичен. Однако даже в пределах одной семьи четкая корреляция между фенотипом и генотипом не выявлена. Одним из исключений является полное удаление гена, вызывающее более тяжелую симптоматику [4, 5]. Корреляция между 3-bp удалением с.2970_2972delAAT в экзоне 17 и НФ1 без кожных и плексиформных нейрофибром описана как мягкий вариант НФ1 [6].

Цель исследования: Проведение полногеномного секвенирования (NGS) основных кодирующих регионов гена *NF1*. Сопоставление клинических и молекулярно-генетических данных как в пределах одной семьи, так и в группе обследованных пациентов с НФ1.

Материалы и методы: Под нашим наблюдением состояли 732 больных из 513 семей с НФ1. Клинический диагноз выставлен в соответствии с Международной классификацией, разработанной Национальным институтом здоровья США в 1985 г. [7]. Полногеномное секвенирование проведено в 17 семьях. ДНК выделялось методом стандартной фенол-хлороформной экстракции. Исследование основных кодирующих регионов гена *NF1*, ассоциированного с НФ1, проводили методом полногеномного секвенирования (NGS) на аппарате «IonTorrent», используя технологию «Амплисек». Биоинформационный фильтринг результатов секвенирования осуществляли с помощью программ «GeneTalk», «UGENE», «Ion reporter». Верификацию результатов проводили методом секвенирования по Сенгеру.

Результаты и обсуждение: После проведения биоинформационного фильтринга результатов секвенирования образцов ДНК, в пяти семьях были выявлены различные функционально значимые мутации. Из них в двух семьях отмечены классические проявления НФ1 с кожно-подкожными изменениями. В третьей семье наблюдалась стертая форма НФ1 с единичными кофейными пятнами у пробанда и патологией почек у отца. Методом секвенирования выявлено гомозиготное состояние однонуклеотидных полиморфизмов, кодирующих регионы гена *NF1* у пробанда. Пробанды в четвертой и пятой семьях имели иден-

тичную клиническую картину с кожными изменениями в виде больших пятен цвета «кофе с молоком» в области плеч и другими симптомами НФ1. Оба случая – семейные, но наследование в четвертой семье было по материнской линии, а в пятой – по отцовской. У 70,6% обследованных семей функционально значимые мутации в гене NF1 не выявлены. Полученные результаты не подтверждали и не исключали клинический диагноз НФ1.

Выводы: Применение метода NGS секвенирования является перспективным для дальнейших исследований НФ1. С введением в практическую медицину данного метода расширяются возможности медико-генетического консультирования и пренатальной диагностики. Важность молекулярно-генетического анализа НФ1 определяется полиморфизмом клинических форм, а сопоставление фено- и генотипических проявлений позволит предположить тяжесть течения заболевания, частоту и объем диспансерных мероприятий, своевременную диагностику неоплазий и раннее начало лечения.

Список литературы:

1. Barker D, Wright E, Nguen K, et al. Gene for von Recklinghausen neurofibromatosis is in the pericentromeric region on chromosome 17. *Science* 1987, 236: 1100-1102.
2. Schmidt MA, Michels VC, Dewald GW. Cases of neurofibromatosis with rearrangements of chromosome 17 involving band 17q11.2. *Am J Med Genet* 1987, 28: 771-777.
3. Ledbetter DH, Rich DC, O'Connell P, Carey JC. Precise localization of NF1 to 17q11.2 by balanced translocation. *Am J Hum Genet* 1989, 44: 20-24.
4. Daston MM, Scrabble H, Nordlund M, et al. The protein product of the neurofibromatosis type 1 gene is expressed at highest abundance in neurons, Schwann cells, and oligodendrocytes. *Neuron* 1992, 8: 415-428.
5. Silverman LM, Farber RA, Kam-Morgan LNW, Luce MC. Screening for truncated NF1 proteins. *Nature Genet* 1994, 8: 218-219.
6. Upadhyaya M, Huson SM, Davies M, et al. An absence of cutaneous neurofibromas associated with a 3-bp inframe deletion in exon 17 of the NF1 gene (c.2970-2972 delAAT): evidence of a clinically significant NF1 genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet* 2007, 80: 140-151.
7. DeBella K, Szudek J, Friedmam JM. Use of National Institutes of Health Criteria for Diagnosis of Neurofibromatosis 1 in children. *Pediatrics* 2000, 105: 608-614.

Иммунопатологические изменения при эпилепсии и возможности иммуномодуляции регуляторными цитокинами

Липатова Л.В.^{1}, Серебряная Н.Б.², Сивакова Н.А.¹, Капустина Т.В.¹*

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский

психоневрологический институт им. В.М. Бехтерева

Бехтерева ул. д.3, Санкт-Петербург 192019, Российская Федерация

*Тел.: +7 4127280, e-mail: epilepsy-net@yandex.ru

² СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Ключевые слова: эпилепсия, цитокины, нейротрофический фактор головного мозга, иммуномодуляция

Immune disturbances in epilepsy and potentials of regulatory cytokines immunomodulation

Lipatova L.V.^{1}, Serebryanaya N.B.², Sivakova N.A.¹, Kapustina T.V.¹*

^{1*} St. Petersburg Bekhterev Psychoneurological Research Institute
Bekhterev str., 3, St. Petersburg 192019, Russian Federation

Tel.: +7 4127280, e-mail: epilepsy-net@yandex.ru

² Mechnikov North-Western State Medical University, St.Petersburg, Russian Federation

Key words: epilepsy, cytokines, brain-derived neurotrophic factor (BDNF), immunomodulation

Введение: Исследования последних лет убедительно показали, что одним из важных патогенетических механизмов при эпилепсии является нейроиммунный воспалительный процесс, сопровождающийся активацией микроглии и астроглиозом, приводящий к нейродегенерации и прогрессированию заболевания [1-5]. Целью исследования явилось изучение иммунного статуса больных эпилепсией (БЭ) и возможности иммунокоррекции выявленных иммунопатологических нарушений регуляторными цитокинами.

Материалы и методы: Концентрации IL-1 β , IL-2, sIL-2R, IL-6, IL-8, IL-10, RAIL-1, ФНО- α были проанализированы с помощью флуоресцентной техники Luminex с использованием мультиплексных магнитных гранул (панель Multiplex MAP). Исследовано содержание сывороточной концентрации нейротрофического фактора головного мозга BDNF и белка S100b у 84 БЭ до и после курса лечения препаратом Ронколейкин®. Контрольная группа состояла из 56 больных эпилепсией, не получавших терапию препаратом Ронколейкин®. Статистическую обработку результатов проводили с применением критериев Стьюдента и Манна-Уитни.

Результаты: Иммунный статус БЭ обеих групп характеризовался существенным нарушением профиля цитокинов в плазме крови: повышением уровня провоспалительных цитокинов (IL-1 α , IL-1 β , IL-6 и TNF α), снижением концентраций IL-2, sIL-2R и RAIL-1, повышением уровня аутоантител к белку S100b, который свидетельствует об изменении глиальных клеток и нарушении нейроглиальных отношений. После курса лечения БЭ препаратом) rIL-2h достоверно снизилась концентрация IL-8 (с $28,7 \pm 15,5$ до $6,3 \pm 1,4$ пг/мл, $P_{(t)} < 0,01$), хемоаттрактивного цитокина, IL-10 (с $1,4 \pm 1,0$ до $0,2 \pm 0,2$ пг/мл, $P_{(t)} < 0,05$). Концентрация BDNF повысилась ~ в 1,6

раз (с $4448,9 \pm 780,4$ до $7022,6 \pm 547,8$ пг/мл, $P_{(t)} < 0,01$), а содержание S100b - уменьшилось в 1,5 раза (с 8,92 до 5,84 пг/мл, $P_{(t)} < 0,01$). Статистически значимого изменения исследуемых параметров в контрольной группе БЭ не отмечено.

Выводы: Представленные данные подтверждают наличие воспалительного процесса при эпилепсии, проявляющегося нарушением уровня цитокинов семейства IL-1 и повышением уровня IL-8, хемокина, привлекающего и активирующего нейтрофильные гранулоциты, что, вероятно, связано с проникновением этих лейкоцитов в ткань мозга – важным этапом в генезе судорожного припадка. Введение экзогенного цитокина rIL-2h привело к снижению уровня IL-8 и S100b, повышению концентрации BDNF в плазме крови. Полученные данные о снижении концентрации белка S100b после лечения препаратом rIL-2h могут свидетельствовать об уменьшении выраженности нейродеструктивного процесса, а увеличение содержания BDNF - об активации процессов нейропластичности и нейрогенеза у БЭ.

Список литературы:

1. Allan S.M., Rothwell N.J. Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat. Rev. Neurosci.* 2001; 2: 734-744.
2. De Simoni M.G., Perego C., Ravizza T., Moneta D., Conti M., Marchesi F., De Luigi A., Garattini S., Vezzani A. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. *Eur. J. Neurosci.* 2000; 12: 2623-2633.
3. LaFrance W.C. Jr., Leaver K., Stopa E.G., Papandonatos G.D., Blum A.S. Decreased serum BDNF levels in patients with epileptic and psychogenic nonepileptic seizures. *Neurology.* 2010, 75: 1285-1291.
4. Lehtimaki K.A., Keranen T., Huhtala H., Hurme M., Ollikainen J., Honkaniemi J., Palmio J. et al.: Regulation of IL-6 system in cerebrospinal fluid and serum compartments by seizures: the effect of seizure type and duration. *J. Neuroimmunol.* 2004; 152: 121-125.
5. Vezzani A., Moneta D., Richichi C., Aliprandi M., Burrows S.J., Ravizza T., Perego C., De Simoni M.G. Functional role of inflammatory cytokines and antiinflammatory molecules in seizures and epileptogenesis. *Epilepsia.* 2002; 43: 30-35.

Полиморфизмы генов глутатион-S-трансферазы, ассоциированные с развитием сенсоневральной тугоухости у пациентов с сахарным диабетом 2 типа

Мазикина Д.А.¹, Журавский С.Г.,^{2,3}

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И.Мечникова

Кирочная ул., 41, Санкт-Петербург 191015, Россия
Тел.: +7 9112657843, e-mail: dina_zainullina@mail.ru

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова, Россия

³ Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Россия

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, сенсоневральная тугоухость, глутатион-S-трансферазы, полиморфизмы «нулевых» делеций, тональная пороговая аудиометрия

Glutathione S-transferase gene polymorphisms, associated with sensorineural hearing loss in patients with type 2 diabetes mellitus

Mazikina D.A.¹, Zhuravskii S.G.^{2,3}

¹ North-Western State Medical University named after I.I. Metchnikov, Russian Federation

Kirochnaya str., 41, St. Petersburg 191015, Russian Federation

Tel.: +7 9112657843, e-mail: dina_zainullina@mail.ru

² Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Russian Federation

³ Federal North-West Medical Research Centre, Russian Federation

Keywords: type 2 diabetes mellitus, sensorineural hearing loss, glutathione S-transferase, deletion polymorphisms, tone threshold audiometry

Введение: Несмотря на клиническую доказанность ассоциации сенсоневральной тугоухости (СНТ) с несиндромным сахарным диабетом (СД) 2 типа [1], патогенетический характер этой связи окончательно не установлен. Не изучен и традиционный вопрос о характере генотипа пациентов, располагающего к сочетанному развитию патологий.

Несомненный интерес для исследования представляют гены, о которых уже известно о вовлечении их полиморфизмов в патогенез осложнений СД 2 типа: изоформы глутатион-S-трансферазы, параоксаназа-1, NO-синтаза 3, метилентетрагидрофолатредуктаза, металлопротеаза-9 и супероксиддисмутаза [2, 3, 4, 5].

Цель исследования: Выявить особенности генотипа, предрасполагающие к развитию повреждения слухового анализатора у пациентов с СД 2 типа.

Материал и методы: Обследованы женщины, проживающие в Санкт-Петербурге: 131 с СД 2 типа и 61 без факторов риска развития заболевания и с нормальным уровнем гликемии. Средний возраст в группе пациентов с СД 2 типа составил $62,1 \pm 0,9$, в группе сравнения — $61,6 \pm 0,7$ года.

Острота слуха оценивалась методом тональной пороговой аудиометрии.

Методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом проведен скрининг известных генетических полиморфизмов: «нулевых» делеций изоформ глутатион-S-трансферазы, параоксаназы-1 (Q191R), NO-синтазы 3 (Glu298Ala), метилентетрагидрофолатредуктазы (C677T), металлопротеазы-9 (C1562T) и супероксиддисмутазы (Val9Ala). Для сравнения данных использовались t-критерий Стьюдента и критерий χ^2 .

Результаты: Среди изучаемых генетических полиморфизмов только «нулевые» делеции *GSTT1* и *GSTM1* демонстрировали связь с худшими порогоми тонального слуха у пациентов с СД 2 типа как при воздушном, так и костном звукопроведении ($p < 0,05$).

Характерно, что в целом по группам СД 2 типа и сравнения различий в частоте обнаружения генотипов «нулевых» делеций *GSTT1* и *GSTM1* не наблюдалось.

Отмечено, что в группе сравнения характер генотипа *GSTM1* и *GSTT1* не оказывал влияния на аудиологические показатели ($p > 0,05$).

Выводы: Генотипы мутаций «нулевых» делеций изоформ глутатион-S-трансферазы *GSTM1* и *GSTT1* у женщин с сахарным диабетом 2-го типа ассоциированы с худшими показателями тонального слуха. Носительство полиморфизмов генов параоксаназы-1 (Q191R), NO-синтазы 3 (Glu298Ala), метилентетрагидрофолатредуктазы (C677T), металлопротеазы-9 (C1562T) и супероксиддисмутазы (Val9Ala) не несет патогенетического значения для развития СНТ при фоновом течении сахарного диабета 2-го типа.

Список литературы:

1. Austin D.F., Konrad-Martin D., Griest S., McMillan G.P., McDermott D., Fausti S. Diabetes-related changes in hearing // *Laryngoscope*. — 2009. — Vol. 119. — №9. — P. 1788–1796.
2. de Syllos R.W., Sandrim V.C., Lisboa H.R., Tres G.S., Tanus-Santos J.E. Endothelial nitric oxide synthase genotype and haplotype are not associated with diabetic retinopathy in diabetes type 2 patients // *Nitric Oxide*. — 2006. — Vol. 15. — №4. — P. 417–422.
3. Amer M.A., Ghattas M.H., Abo-Elmatty D.M., Abou-El-Ela S.H. Influence of glutathione S-transferase polymorphisms on type-2 diabetes mellitus risk // *Genet. Mol. Res.* — 2011. — Vol. 10. — №4. — P. 3722–3730.
4. Kowluru R.A. Role of Matrix Metalloproteinase-9 in the Development of Diabetic Retinopathy and Its Regulation by H-Ras // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. — 2010. — Vol. 51. — №8. — P. 4320–4326.
5. Ukinc K., Ersoz H.O., Karahan C. et al. Methyltetrahydrofolate reductase C677T gene mutation and hyperhomocysteinemia as a novel risk factor for diabetic nephropathy // *Endocrine*. — 2009. — Vol. 36. — №2. — P. 255–261.

**Врожденные пороки развития челюстно-лицевой области:
результаты медико-генетического обследования**

*Минайчева Л.И. *, Назаренко Л.П.*

Федеральное государственное научное учреждение «НИИ медицинской генетики»

Набережная реки Ушайки, 10, Томск, Российская Федерация, 634050

*Тел.: +7 9138646171, e-mail: larisa.minaycheva@medgenetics.ru

Ключевые слова: врожденные пороки развития, расщелина губы и/или неба

Congenital facial malformations: results of medical genetic examination

*Minaycheva L.I. *, Nazarenko L.P.*

Research Institute of Medical Genetics, 634050, Tomsk, Ushaika street, 10

*Tel.: +7 9138646171, e-mail: larisa.minaycheva@medgenetics.ru

Key word: congenital malformations, cleft lip and/or palate

Введение: Первым необходимым этапом медико-генетического консультирования является правильная диагностика врожденного порока развития (ВПР), установление типа наследования патологического фенотипа, выяснение возможных причин его возникновения. При использовании кодов Международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10) [1],- которая является общепризнанной кодирующей системой для аномалий развития и применяется большинством регистров ВПР,- случаи определенных пороков развития, несмотря на их клиническую и генетическую гетерогенность, объединяются в одну группу, без учета их этиологии. Однако при проведении эпидемиологических исследований возникает необходимость группировать ВПР в соответствии с предполагаемой общностью этиологии для дальнейшего выявления и изучения причин формирования аномалий развития [2]. Цель исследования – медико-генетическое обследование детей с ВПР челюстно-лицевой области и применение этиологического принципа классификации пороков развития.

Материал и методы: Обследованы 52 пациента в возрасте от 0 до 18 лет с расщелинами губы с или без расщелины неба, с расщелинами неба и множественными ВПР (в их составе были указанные пороки развития). Диагнозы, с которыми пациенты поступили на обследование, согласно МКБ-10 были отнесены к двум группам класса «Врожденные аномалии» G35-37 (расщелины неба, расщелины губы, расщелины губы и неба) и G87.7 (множественные ВПР, в составе которых были расщелины губы и/или неба). Используются цитогенетический и молекулярно-цитогенетические методы обследования. Для установления возможных причин развития ВПР челюстно-лицевой области применена классификация, основанная на этиологическом принципе [2].

Результаты: У 96% пациентов, согласно МКБ-10, был диагноз Q35-Q37 (изолированного ВПР - расщелины губы, расщелины неба, расщелины губы и

неба), у 4% - Q87.7 (множественные ВПР). В результате обследования у детей с изолированными ВПР (согласно МКБ-10) были выявлены множественные ВПР, хромосомные нарушения и синдромы. Так, из 50 пациентов с изолированными ВПР (согласно МКБ-10) этот диагноз был подтвержден у 38 человек, и они составили группу «I» (изолированные пороки развития). Генетические причины ВПР установлены у трех детей: у одного ребенка была диагностирована хромосомная аномалия 46 XX, dup(8)(q12q13), и по классификации он был отнесен в группу «С» (ВПР, обусловленные числовыми и структурными аномалиями хромосом). Синдромальная патология выявлена у двух пациентов: синдром Ван дер Вуда (ОМIM119300) и церебро-фациоторакальный синдром (ОМIM 213980), которые составили группу «S». У трех пациентов установлен семейный характер патологии, эти случаи вошли в группу «F» (семейные нарушения, не обусловленные хромосомными aberrациями и доминантными мутациями, возникающими *de novo*). При обследовании у 5 пациентов были выявлены ВПР других систем органов, и им был поставлен диагноз множественных ВПР (группа «M»). К категории ВПР, обусловленных влиянием тератогенов (группа «T»), была причислена алкогольная фетопатия, диагностированная у одного ребенка. В группе множественных ВПР (Q87.7 согласно МКБ-10) в одном случае была выявлена хромосомная перестройка 46,X,t(X;13)(Xpter→Xq11?:13p12→13pter; Xqter→Xq11::13p12→13qter), что позволило перенести его в соответствующую группу «С». Носители микроделеции и пациенты с клиническими фенотипами, обусловленными доминантными мутациями, возникающими *de novo*, в обследуемой группе не обнаружены.

Выводы: При проведении исследования в 24% случаев изолированных ВПР был изменен диагноз и у 8% пациентов выявлена генетическая причина формирования порока развития. Все хромосомные аномалии у больных с ВПР челюстно-лицевой области были диагностированы впервые, что говорит об отсутствии своевременного медико-генетического консультирования и обследования пациентов с ВПР и о низкой выявляемости генетической патологии. Применение классификаций, основой которых является этиология ВПР, дает возможность выявить причины патологии и облегчает работу врача с семьей пациента при планировании обследования. Использование этиологического принципа классификации пороков развития представляет интерес с клинической и научной точки зрения для детального изучения отдельных групп ВПР с целью выявления факторов риска их возникновения.

Список литературы:

1. ICD-10: international statistical classification of diseases and related health problems: tenth revision. 2nd ed. World Health Organization. Geneva, 2004. - 1200 p.
2. Wellesley D., Boyd P., Dolk H., Pattenden S. An aetiological classification of birth defects for epidemiological research. J Med Genet 2005, 42: 54-57.

Комплексный подход к определению генетического риска развития ишемического инсульта

Миронов К.О.^{1}, Платонов А.Е.¹, Дрибноходова О.П.¹, Корчагин В.И.¹, Дунаева Е.А.¹, Максимова М.Ю.², Иллариошкин С.Н.², Шипулин Г.А.¹*

¹ Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

* Новогиреевская ул., 3А, Москва 111123, Российская Федерация

² Научный центр неврологии РАМН, Российская Федерация

Ключевые слова: ишемический инсульт, генетическая предрасположенность, SNP

A comprehensive approach for determination genetic risk of ischemic stroke

Mironov K.O., Platonov A.E., Dribnokhodova O.P., Korchagin V.I.,*

Dunaeva E.A.,

Maximova M.Iu., Illarioshkin S.N., Shipulin G.A.

Federal Budget Institute of Science Central Research Institute
for Epidemiology

Novogireevskaya st., 3A, Moscow 111123, Russian Federation

Key words: ischemic stroke, genetic susceptibility, SNP

Введение: Заболеваемость инсультом является серьезной медико-социальной проблемой. Выявление лиц, наиболее предрасположенных к развитию заболевания, и определение риска вторичных инсультов являются актуальными задачами профилактической медицины и неврологии. Причины и патогенез различных форм инсульта разнообразны, в то же время большое значение имеет наследственная предрасположенность. Показано, что риск развития ишемического инсульта может быть обусловлен определенными аллелями однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Наиболее клинически значимые показатели риска могут быть связаны с сочетаниями нескольких неблагоприятных аллелей, каждый из которых сам по себе не является детерминирующим [1-4].

Цель исследования: Поиск наиболее перспективных SNP, связанных или ассоциированных с риском развития инсульта, их классификация, а также создание и апробация лабораторной методики для оценки индивидуального риска развития инсульта.

Материал и методы: В PubMed отобраны и проанализированы более 300 публикаций, посвященных выявлению генетических факторов риска развития инсульта. Отбор SNP проводился по трем типам публикаций: масштабным исследованиям типа случай-контроль, включая когортные исследования, GWAS-исследованиям и мета-анализам ранее опубликованных данных [2-4]. Определение аллелей SNP проводилось методом ПЦР в режиме реального времени и подтверждалось с помощью пиросеквенирования. Исследованы выборки, включающие 88 больных с различными формами ишемического инсульта и 359 лиц без признаков заболевания, равномерно распределенных по полу и возрасту.

Результаты: Для создания методики оценки риска развития инсульта было выбрано 48 SNP. SNP были разбиты на 6 групп (по 7-11 SNP), условно обозначенных как «Инсульты-1 (И-1)» (SNP, преимущественно связанные с риском кардиогенного эмболического инсульта), «Инсульты-2 (И-2)» (SNP, преимущественно связанные с риском атеротромботического инсульта), «Гемостаз» (SNP, связанные с предрасположенностью к нарушениям кровообращения), «Липидный обмен» (SNP в генах, участвующих в метаболизме), «Клеточные взаимодействия» (SNP в генах, участвующих в межклеточных взаимодействиях) и «Артериальная гипертензия» (SNP, связанные с предрасположенностью к гипертензии). Вычисление рисков проводилось отдельно по каждой группе. Для этого были использованы значения показателя отношения шансов (ОШ) и популяционной частоты аллелей (по базе данных НарМар для европеоидов), вычисление проводилось по мультипликативной модели оценки риска [5-6]. Сопоставление значений риска развития инсульта у больных со средними популяционными показателями риска, рассчитанными по возможным сочетаниям аллелей, показало, что данный подход позволяет выявить статистически значимое повышение величин риска у больных. Значения относительного риска инсульта у больных, вычисленные по группам «И-1» и «И-2», отличались от расчетного среднего популяционного относительного риска: $p = 0,05$ и $p = 0,004$, соответственно. Показатель ОШ у больных с повышенным и высоким риском по сравнению с популяцией составил для группы «И-1» 1,56 с 95% доверительным интервалом (ДИ) 1,03-2,36 ($p = 0,04$) и для группы «И-2» – 1,69 с 95% ДИ 1,12-2,56 ($p = 0,04$). ОШ у больных с высоким риском по группе «И-2», по сравнению с контролем, составило 2,74 с 95% ДИ 1,59-4,71 ($p = 0,001$).

Заключение: Создана лабораторная методика и способ расчета генетического риска развития инсульта. Методика может быть использована для проведения популяционных исследований, а также для оценки риска развития других мультифакторных заболеваний.

Список литературы:

1. Корчагин В.И., Платонов А.Е., Миронов К.О. и др. Предпосылки профилактики инсульта с учетом индивидуальных генетических факторов предрасположенности. VIII Всероссийская научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика – 2014». Том II, с. 229-232.
2. Bevan S., Traylor M., dib-Samii P., et al. Genetic heritability of ischemic stroke and the contribution of previously reported candidate gene and genomewide associations. *Stroke* 2012. 43 (12): 3161-3167
3. Traylor M., Farrall M., Holliday E.G., et al. Genetic risk factors for ischaemic stroke and its subtypes (the METASTROKE collaboration): a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurol.* 2012. 11 (11): 951-962.
4. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature.* 2007. 447 (7145): 661-678.

5. Платонов А.Е., Миронов К.О., Корчагин В.И. и др. Принципы оценки среднего популяционного риска мультифакторных заболеваний и распределения индивидуального показателя риска в популяции (на примере ишемического инсульта). VIII Всероссийская научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика – 2014». Том II, с. 234-235.
6. Lewis C.M. Genetic association studies: design, analysis and interpretation. *Brief. Bioinform.* 2002. 3 (2): 146-153.

Генетический контроль обмена холестерина в интраабдоминальной жировой ткани

Мирошникова В.В.^{1,2}, Пантелеева А.А.^{1,2}, Демина Е.П.¹, Баженова Е.А.²,
Семенова И.А.¹, Усенко Т.С.^{1,2}, Николаев М.А.¹, Беркович О.А.²,
Баранова Е.И.², Пчелина С.Н.^{1,2}*

¹Санкт-Петербургский институт ядерной физики, Санкт-Петербург, Россия

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

*197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8, к.28; mutantropol@mail.ru

Ключевые слова: ожирение, холестерин, экспрессия генов

Genetic control of cholesterol homeostasis in visceral adipose tissue

*Miroshnikova V.V.^{1,2}, Panteleeva A.A.^{1,2}, Demina E.P.¹, Bazhenova E.A.²,
Seменова I.A.¹, Usenko T.S.^{1,2}, Nikolaev M.A.¹, Berkovich O.A.², Baranova E.I.²,
Pchelina S.N.^{1,2}*

¹St. Petersburg Nuclear Physics Institute, St. Petersburg, Russian Federation

²Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Key words: obesity, cholesterol, gene expression

Введение: Абдоминальное ожирение сопровождается накоплением в жировой ткани холестерина (ХС), нарушением обмена липопротеинов высокой плотности и существенным повышением риска развития сердечно-сосудистой патологии. В основе патологического разрастания интраабдоминального жира лежит гипертрофия адипоцитов, которая может быть ассоциирована с изменениями на уровне экспрессии генов, контролирующей метаболизм липидов, в частности обмен ХС. Ключевую роль в регуляции содержания ХС в жировых клетках играют АТФ-связывающие кассетные транспортеры ABCA1 и ABCG1. В контроле экспрессии генов ABCA1 и ABCG1 могут принимать участие транскрипционные факторы PPAR γ и ROR α , координирующие процессы адипогенеза. Целью данной работы явилось исследование ассоциации уровня экспрессии генов ABCA1, ABCG1,

PPAR γ и *ROR α* в интраабдоминальной жировой ткани (ИЖТ) с развитием абдоминального ожирения.

Материалы и методы: Исследование было выполнено на 37 образцах ИЖТ, полученных из большого сальника в ходе лапароскопической холецистэктомии (23 пациента с избыточным весом и абдоминальным ожирением, 14 лиц без избыточного веса (контрольная группа)). Для оценки уровня мРНК исследуемых генов в ИЖТ использовали метод ПЦР в режиме реального времени, для оценки уровня белка – метод вестерн-блот.

Результаты: Наше исследование показало, что относительный уровень мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* положительно коррелирует с индексом массы тела (ИМТ) (коэффициенты корреляции по Спирмену: для *ABCA1* $r=0,522$, $p=0,004$; для *ABCG1* $r=0,594$, $p=0,001$) и обхватом талии (ОТ) (коэффициенты корреляции по Спирмену: для *ABCA1* $r=0,403$, $p=0,033$; для *ABCG1* $r=0,474$, $p=0,013$). Уровень белков *ABCA1* и *ABCG1* также коррелирует с клиническими показателями: в подгруппе пациентов с избыточным весом в начальной стадии ожирения (ИМТ в диапазоне от 25 до 31 кг/м²) уровень белков *ABCA1* ($p<0.01$) и *ABCG1* ($p<0.05$) статистически значимо выше, чем в контрольной группе (ИМТ<25 кг/м²). Таким образом, по мере накопления жировой ткани увеличенная экспрессия генов *ABCA1* и *ABCG1* сначала сопровождается повышенным синтезом соответствующих белков. Однако для подгруппы лиц с прогрессирующим развитием абдоминального ожирения (ИМТ более 31 кг/м², значительное отклонение от нормы показателя ОТ) данная закономерность уже не соблюдается. В работе выявлена прямая корреляция между уровнями белков *ABCA1* и *ABCG1* ($r=0,575$, $p<0,005$), что указывает на одинаковые механизмы регуляции экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ; показано, что уровень белков *ABCA1* и *ABCG1* положительно коррелирует с уровнем мРНК *PPAR γ* (коэффициенты корреляции по Спирману: для *ABCA1* – $r=0,681$, $p<0,005$; для *ABCG1* – $r=0,529$, $p<0,05$), а уровень мРНК *PPAR γ* – с уровнем белка *ROR α* ($r=0,481$, $p<0,05$).

Заключение: Исследование впервые позволило выявить особенности экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ: увеличение объема жировой массы коррелирует с возрастанием уровня экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ. Также наши данные позволяют предположить регуляцию уровня белков *ABCA1* и *ABCG1* в ИЖТ орфанным рецептором *ROR α* , которая может осуществляться опосредованно через ядерный фактор *PPAR γ* . В целом полученные данные свидетельствуют о том, что транспортеры *ABCA1* и *ABCG1* и орфанный рецептор *ROR α* могут рассматриваться в качестве новых молекулярных мишеней в терапии абдоминального ожирения.

Исследование поддержано грантом РФФИ 14-04-31690

**Молекулярно-генетические нарушения гена AURKA
у больных солитарным раком желудка и у больных раком желудка
с первично-множественными опухолями**

Михайлова Г.Ф., Цепенко В.В., Скоропад В.Ю., Рухадзе Г.О., Шкаврова Т.Г.,
Голуб Е.В.*

Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал
Федерального медицинского исследовательского центра имени А.П. Герцена
МЗ Российской Федерации

Королева ул., 4, Обнинск, Калужская область 249036, Российская Федерация,
*Тел.: +74843997027, e-mail: tais1260@mail.ru

*Ключевые слова: ген AURKA, I-FISH, рак желудка, первично-
множественные злокачественные образования*

**Alterations of AURKA gene in patients with gastric cancer and
in patients with multiple primary cancers**

Mikhailova G.F., Tsepenko V.V., Skoropad V.Yu., Rukhadze G.O., Shkavrova
T.G., Goloub E.V.*

A.F. Tsyb Medical radiological research centre of the A.P. Hertsen Federal medi-
cal research centre of the Ministry of Health of the Russian Federation

Korolev str, 4, Obninsk, Kaluga region 249036, Russian Federation

*Tel: +74843997027, e-mail: tais1260@mail.ru

Key words: AURKA, I-FISH, gastric cancer, multiple primary tumors

Введение: во многих работах [1-4] было показано, что при опухолях различной локализации (толстой кишки, желудка, мочевого пузыря, предстательной железы, молочной железы, шейки матки, яичников и др.) часто наблюдаются нарушения в локусах 20q (длинного плеча хромосомы 20). В работе [1] при использовании широкого спектра молекулярно-цитогенетических методов было показано, что амплификация 20q – раннее событие в опухолевой трансформации клеток, которое может инициировать рак. Амплификация локуса 20q13 является частым изменением хромосомы 20 в солидных опухолях и скрывает несколько онкогенов AURKA, ZNF217, MYBL2, TOMM34 и др. Однако о прогностической значимости увеличения частоты генов локуса 20q13 в клетках солидных опухолей сведения достаточно противоречивы. Тем не менее, в ряде работ было показано, что увеличение частоты генов данного локуса коррелирует с быстрым ростом опухоли и низкими показателями выживаемости [5, 6]. Наибольшее внимание исследователей в последние годы привлекает ген AURKA, находящийся внутри региона q13.2 хромосомы 20, гиперэкспрессия которого связана с хромосомной нестабильностью [2, 6]. Целью данной работы было изучение молекулярно-генетических нарушений локуса 20q13 (ген AURKA) у больных с первично-множественными злокачественными образованиями (ПМЗО), а также у больных солитарным раком желудка, и определить прогностическую значимость обнаруженных нарушений.

Материалы и методы: Исследования были выполнены на архивном биопсийном материале опухолевой ткани 28 больных солитарным раком желудка и 32 больных раком желудка, у которых имелись вторые синхронные или метакронные опухоли, методом интерфазной флуоресцентной *in situ* гибридизации (I-FISH). В работе была использована коммерческая ДНК-проба AURKA (Vysis, США).

Результаты: исследования показали, что:

- 100% больных имеют числовые нарушения гена AURKA;
- количество опухолевых клеток с нарушением частоты гена AURKA в группе больных раком желудка с ПМЗО варьировало в пределах 32-98%, а в группе больных солитарным раком желудка - 27-98%;
- среднее число копий гена AURKA на клетку в группе больных раком желудка с ПМЗО колебалось 0,85 до 8,25, составляя в среднем по группе $3,84 \pm 0,34$; в группе больных солитарным раком желудка варибельность данного показателя была от 1,70 до 7,50, составляя в среднем по группе $3,67 \pm 0,23$;
- наблюдаются статистически значимые различия среднегрупповых значений числа копий гена AURKA на клетку у пациентов с ПМЗО и солитарным раком желудка ($5,2 \pm 0,4$ и $3,7 \pm 0,2$, соответственно, $p < 0,05$, t-критерий) в подгруппах больных только с увеличенным числом копий гена AURKA.

Заключение: несмотря на выявленные числовые нарушения гена AURKA у 100% больных раком желудка с ПМЗО и больных солитарным раком желудка, отдифференцировать по генетическим нарушениям клинически сформированные группы не удалось. Однако больные солитарным раком желудка с увеличенным числом копий гена AURKA попадают в группу риска развития у них вторых опухолей.

Список литературы

1. Tabach Yu, Kogan-Sakin I, Buganim Yo, Solomon H, Goldfinger N, Hovland R, Ke X-S, Oyan A-M, Kalland K-H, Rotter V, Domany E. 2011. Amplification of the 20q chromosomal arm occurs early in tumorigenic transformation and may initiate cancer. PLOS ONE 6 (1): e14632.
2. Baba Yo, Noshu K, Shima K, Irahara N, Kure ., Toyoda S, Kirkner GJ, Goel A, Fuchs ChS, Ogino Sh. 2009. AURKA and CIN in Colorectal Cancer. Neoplasia 11: 418-425.
3. Park H-S, Park W-S, Bondaruk ., Tanaka N, Katayama H, Lee S-K, Spiess PhE, Steinberg JR, Wang Z., Katz R. L, Dinney C, Elias K. J, Lotan Ya, Naeem RC, Baggerly K, Sen S, Grossman HB, Czerniak B. 2008. Quantitation of Aurora Kinase A Gene Copy Number in Urine Sediments and Bladder Cancer Detection. J Natl Cancer Inst, 100, 1401-1411.
4. Cheng L, Wang P, Yang Sh, Yang Ya-Q, Zhang Q, Zhang W, Xiao H-Sh, Gao H-J, Zhang Q-H. 2012. Identification of genes with a correlation between copy number and expression in gastric cancer. BMC Med Genom 5: 14.
5. Srivastava V, Sen S. 2014. Genetic variation in coding region of Aurora kinase A gene leads to cancer susceptibility. Cancer Epidemiology 38: 109-110.

6. Xu L, Zhou X, Jiang F, Xu L, Yin R. 2014. STK15 rs2273535 polymorphism and cancer risk: A meta-analysis of 74,896 subjects. *Cancer Epidemiology* 38: 111-117.

Фенилкетонурии: неизбежность молекулярного диагноза

Мхеидзе М.О.

Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера

ул. Парковая 64-68, г. Пушкин, Санкт-Петербург 196603, Российская Федерация

Тел. +7 (812) 3461984, e-mail: vamkh@yandex.ru

Ключевые слова: фенилкетонурия, варианты гиперфенилаланинемии, молекулярная диагностика

Phenylketonuria: inevitability of molecular diagnosis

Mkheidze M.O.

The Turner Research Institute for Children's Orthopaedics

Parkovaya str. 64-68, Pushkin, St. Petersburg 196603, Russian Federation

Tel: +7 (812)3461984, e-mail: vamkh@yandex.ru

Key words: phenylketonuria, hyperphenylalaninemia multiplicity, molecular diagnosis

Введение: Фенилкетонурия (ФКУ) – генетически гетерогенная и генетически полиморфная, наследственная ферментопатия аминокислотопатия, характеризующаяся широким размахом частот в различных популяциях (1:2600, Турция – 1: 120000, Япония). Мутационные события, затрагивающие ряд генов, сопровождаются устойчивой гиперфенилаланинемией, дефицитом синтеза кофактора тетрагидробиоптерина (ВН4) и клинической симптоматикой различной степени тяжести, которая требует адекватной коррекции. В настоящее время описаны множественные мутации в генах фенилаланингидроксилазы (ФАГ, РАН, 12q23.2, КФ 1.14.16.1), приводящие к гиперфенилаланинемии (НРА) и фенилкетонурии (РКУ); б-пирувоилтетрагидроптеринсинтазы (бПТГПС, PTS, 11q23.1, КФ 4.6.1.10), обуславливающие развитие кофактор-зависимой гиперфенилаланинемии (НРАВН4а); гуанозилтрифосфатциклогидролазы 1 (ГТФЦГ1, GCH1, 14q22.2, КФ 3.5.4.16), приводящие клинически к дофа-чувствительной дистонии и НРАВН4b; сепиаптеринредуктазы (СПР, SPR, 2p13.2, КФ 1.1.1.153), обуславливающие клинические симптомы дофа-чувствительной дистонии; дигидроптеридинредуктазы (ДГПР, DHPR, 4p15.32, КФ 1.6.99.7), приводящие к НРАВН4с; птерин-4α-карбиноламиндегидратазы (П4КД, PCBD1, 10q22.1), обуславливающие раз-

витие НРАВН4d. Целью работы явилась верификация форм гиперфенилаланинемий молекулярно-генетическими методами.

Материалы и методы: Под нашим наблюдением находились 38 пробандов в возрасте от 2 мес. до 29 лет, 23 пробанда женского пола и 15 пробандов мужского пола. В 7 семьях по два ребенка страдали ФКУ, в том числе 3 семьи имели по одной паре монозиготных сестер, 1 семья имела одну пару монозиготных братьев, 1 семья имела одну пару дизиготных разнополых близнецов и 2 семьи имели по два пораженных сибса. Все пациенты были выявлены по результатам массового неонатального скрининга. В данной группе пробандов проведен поиск R408W мутации в гене фенилаланингидроксилазы (ФАГ, РАН, 12q23.2, КФ 1.14.16.1).

Результаты: Генотип R408W/R408W выявлен у 15 пробандов, 21 пробанд оказались носителями компаунда по данной мутации, и в двух случаях генотип пациентов не был установлен. Одна из пациенток с тяжелой симптоматикой ФКУ была обследована в Лаборатории пренатальной диагностики ИАГ им Д.О. Отта, где были исключены мутации R408W, R261Q, R261X в гене ФАГ, в Лаборатории наследственных болезней обмена веществ МГНЦ РАМН (Москва) и в Отделении химии и биохимии Детского Госпиталя Университета (Цюрих), где на основании показателей неоптерина, биоптерина и низкой активности фермента дигидроптеридинредуктазы (DHPR, 4p15.32, КФ 1.6.99.7) было высказано предположение о том, что пробанд страдает одной из форм тетрагидробиоптерин-зависимой ФКУ.

Заключение: Внедрение в медицинскую практику массового неонатального скрининга с целью выявления новорожденных с гиперфенилаланинемией явилось предпосылкой для постановки диагноза ФКУ в доклинической стадии и для начала ранней диетотерапии. В ряде случаев эти меры дают желаемый положительный эффект. В Германии медико-генетическое консультирование семей, имеющих пробандов с ФКУ, не включает молекулярную диагностику заболевания в связи с успешными результатами лечения пробандов (личное сообщение доктора Э. Мёнха (Prof. Dr. Eberhard Moench). Учитывая более сложную ситуацию ведения больных, страдающих ФКУ, в России и существование генетического полиморфизма, генетической гетерогенности гиперфенилаланинемий, проведение молекулярного исследования для верификации диагноза является обязательным условием для осуществления корректного медико-генетического консультирования семей, адекватного лечения и успешной социализации пробандов. Окончательная формулировка диагноза моногенного заболевания, например, ФКУ у 15 обследованных пробандов, должна иметь следующий вид: фенилкетонурия, дефицит фенилаланингидроксилазы, генотип R408W/R408W.

**Варианты наследственной гиперфенилаланинемии:
неизбежность молекулярного диагноза**

Мхеидзе М.О.

Научно-исследовательский детский ортопедический институт
им. Г.И. Турнера

ул. Парковая 64-68, г. Пушкин, Санкт-Петербург 196603, Российская Феде-
рация

Тел. +7 (812) 3461984, e-mail: vamkh@yandex.ru

*Ключевые слова: варианты гиперфенилаланинемии, молекулярная диагно-
стика*

**Variant hereditary hyperphenylalaninemia: inevitability of molecular diagno-
sis**

Mkheidze M.O.

The Turner Research Institute for Children's Orthopaedics

Parkovaya str. 64-68, Pushkin, St. Petersburg 196603, Russian Federation

Tel: +7 (812)3461984, e-mail: vamkh@yandex.ru

Key words: hyperphenylalaninemia multiplicity, molecular diagnosis

Введение: Наследственные гиперфенилаланинемии, в том числе фенилкетонурия (ФКУ) – генетически гетерогенные и генетически полиморфные ферментопатии, характеризующиеся широким размахом частот в различных популяциях (1:2600, Турция – 1: 120000, Япония). Мутационные события, затрагивающие ряд генов, сопровождаются устойчивой гиперфенилаланинемией, дефицитом синтеза кофактора тетрагидробиоптерина (ВН4) и клинической симптоматикой различной степени тяжести, которая требует адекватной коррекции. В настоящее время описаны множественные мутации в генах фенилаланингидроксилазы (ФАГ, РАН, 12q23.2, КФ 1.14.16.1), приводящие к гиперфенилаланинемии (НРА) и фенилкетонурии (РКУ); 6-пирувоилтетрагидроптеринсинтазы (6ПТГПС, PTS, 11q23.1, КФ 4.6.1.10), обуславливающие развитие кофактор-зависимой гиперфенилаланинемии (НРАВН4а); гуанозилтрифосфатциклогидролазы 1 (ГТФЦГ1, GCH1, 14q22.2, КФ 3.5.4.16), приводящие клинически к дофа-чувствительной дистонии и НРАВН4b; сепиаптеринредуктазы (СПР, SPR, 2p13.2, КФ 1.1.1.153), обуславливающие клинические симптомы дофа-чувствительной дистонии; дигидроптеридинредуктазы (ДГПР, DHPR, 4p15.32, КФ 1.6.99.7), приводящие к НРАВН4с; птерин-4 α -карбиноламиндегидратазы (П4КД, PCBD1, 10q22.1), обуславливающие развитие НРАВН4d. Целью работы явилась верификация форм гиперфенилаланинемии молекулярно-генетическими методами.

Материалы и методы: Под нашим наблюдением находились 38 пробандов в возрасте от 2 мес. до 29 лет, 23 пробанда женского пола и 15 пробандов мужского пола. В 7 семьях по два ребенка страдали ФКУ, в том числе 3 семьи имели по одной паре монозиготных сестер, 1 семья имела одну пару

монозиготных братьев, 1 семья имела одну пару дизиготных разнополых близнецов и 2 семьи имели по два пораженных сибса. Все пациенты были выявлены по результатам массового неонатального скрининга. В данной группе пробандов проведен поиск R408W мутации в гене фенилаланингидроксилазы (ФАГ, РАН, 12q23.2, КФ 1.14.16.1).

Результаты: Генотип R408W/R408W выявлен у 15 пробандов, 21 пробанд оказались компаундами по данной мутации, и в двух случаях генотип пациентов не был установлен. Одна из пациенток с тяжелой симптоматикой ФКУ была обследована в Лаборатории пренатальной диагностики ИАГ им Д.О. Отта, где были исключены мутации R408W, R261Q, R261X в гене ФАГ, в Лаборатории наследственных болезней обмена веществ МГНЦ РАМН (Москва) и в Отделении химии и биохимии Детского Госпиталя Университета (Цюрих), где на основании показателей неоптерина, биоптерина и низкой активности фермента дигидроптеридинредуктазы (DHPR, 4p15.32, КФ 1.6.99.7) было высказано предположение о том, что пробанд страдает одной из форм тетрагидриобиптеринзависимой ФКУ.

Заключение: Внедрение в медицинскую практику массового неонатального скрининга с целью выявления новорожденных с гиперфенилаланинемией явилось предпосылкой для постановки диагноза ФКУ в доклинической стадии и для начала ранней диетотерапии. В ряде случаев эти меры дают желаемый положительный эффект. В Германии медико-генетическое консультирование семей, имеющих пробандов с ФКУ, не включает молекулярную диагностику заболевания в связи с успешными результатами лечения пробандов (личное сообщение доктора Э. Мёнха (Prof. Dr. Eberhard Moench). Учитывая более сложную ситуацию ведения больных, страдающих наследственными гиперфенилаланинемиями, в том числе ФКУ, в России и существование генетического полиморфизма, генетической гетерогенности гиперфенилаланинемий, проведение молекулярного исследования для верификации диагноза является обязательным условием для осуществления корректного медико-генетического консультирования семей, адекватного лечения и успешной социализации пробандов. Окончательная формулировка диагноза моногенного заболевания, например, ФКУ у 15 обследованных пробандов, должна иметь следующий вид: фенилкетонурия, дефицит фенилаланингидроксилазы, генотип R408W/R408W.

**Графическое оформление родословной:
ошибки и возможные нововведения**

Мхеидзе М.О.

Научно-исследовательский детский ортопедический институт
им. Г.И. Турнера

Парковая ул. 64-68, Санкт-Петербург, г. Пушкин 196603,
Российская Федерация

Тел. +7 (812) 3461984, e-mail: vamkh@yandex.ru

Ключевые слова: родословное древо, символы

Pedigree constructing: errors and possible innovations

Mkheidze M.O.

The Turner Research Institute for Children's Orthopaedics
Parkovaya str. 64-68, Pushkin, St. Petersburg, Russian Federation 196603

Tel: +7 (812)3461984, e-mail: vamkh@yandex.ru

Key words: pedigree constructing, symbols

Светлой памяти доктора
Владлена Аполлинариевича Тихонова

Создание родословного древа - обязательная составляющая в структуре обследования больного при подозрении на наследственную патологию. Однозначность и стабильность символов родословной являются необходимым условием для получения объективной генетической информации о конкретной семье и залогом корректного медико-генетического консультирования.

Проведен анализ графического оформления более 2000 родословных из историй болезни и публикаций в отечественных и зарубежных источниках, выявлены наиболее распространенные ошибки и осуществлен поиск символов, отражающих практическое использование вспомогательных репродуктивных технологий.

Анализ показал, что наиболее распространенными при графическом изображении родословного древа являются следующие ошибки:

- 1) отсутствие горизонтальной линии потомства и соединение символов сибсов, полусибсов, сиблингов, полусиблингов непосредственно с линией брачного союза,
- 2) расположение символов между поколениями («зависание» символов),
- 3) нарушение правила равноудаленности поколений друг от друга,
- 4) нарушение изображения порядка рождения детей у одной и той же супружеской пары от старших к младшим,
- 5) неправильная, инвертированная, нумерация поколений,
- 6) сквозная нумерация символов всех поколений,
- 7) пересечение линии брачного союза нисходящими линиями к потомству родных братьев/сестер супругов,
- 8) неправильное изображение символа беременности и использование букв «М» и «Ж» для уточнения пола будущего ребенка вместо соответствующих символов половой принадлежности,
- 9) запись уточняющей информации в пределах схемы родословной: нарушение правила «только символы, нумерация поколений и каждого символа в поколениях, вся информация в легенде».

Основываясь на анализе зарубежных публикаций, можно рекомендовать использование следующих символов: а) бездетный брак, б) изображение спонтанных и медицинских абортс с уточнением наличия и/или отсутствия патологии у плода, его пола (если представляется возможным).

При конструировании родословной, отражающей использование экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), важно создать зрительный акцент на биологических родителях будущего ребенка. С этой целью можно использовать полужирное начертание символов биологических родителей, кроме того, донорство герминативных клеток можно изобразить прерывистой линией, а символ суррогатной матери – в виде круга, внутрь которого включен символ беременности. В документированных случаях к символу ЭКО может быть добавлен символ бесплодного брака. Все детали медицинской истории и варианты медицинского вспоможения должны быть вынесены в легенду.

**Наследственные дефекты гликозилирования –
новая страница наследственных ошибок метаболизма**

Мхеидзе М.О.

Научно-исследовательский детский ортопедический институт им.

Г.И.Турнера

ул. Парковая 64-68, г. Пушкин, Санкт-Петербург 196603, Российская Федерация

Тел. +7 (812) 3461984, e-mail: vamkh@yandex.ru

Ключевые слова: наследственные дефекты гликозилирования

Congenital disorders of glycosylation is a new page in inborn errors of metabolism

Mkheidze M.O.

The Turner Research Institute for Children's Orthopaedics

Parkovaya str. 64-68, Pushkin, St. Petersburg 196603, Russian Federation

Tel: +7 (812)3461984, e-mail: vamkh@yandex.ru

Key words: congenital disorders of glycosylation

Наследственные дефекты гликозилирования (CDG) - новое семейство наследственных ошибок метаболизма (НОМ). CDG обусловлены генетическими дефектами синтеза гликановых компонентов и нарушением их присоединения к белку или липиду. Первое описание заболевания принадлежит J. Jaeken с соавт. (1980). Гликаны, поли- или олигосахариды, ковалентно присоединяются к белкам, липидам в процессе гликозилирования, в результате чего формируются различные типы гликоконъюгатов (гликозилфосфатидилинозитоловые «якоря» или протеогликаны, гликопротеины, гликолипиды). Гликозилирование белков и липидов в зависимости от типа процесса, N-или O-гликозилирования, проходит в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) и/или

в аппарате Гольджи (ГА). N-гликозилирование (N-Г), присоединение гликанов к Асп белковой молекулы, включает этапы сборки и процессинга, которые осуществляются в цитозоле, ЭР и ГА. O-гликозилирование (O-Г), связь гликанов с гидроксильной группой Тре или Сер в белке, включает только сборку макромолекулы в ГА. Важные O-гликаны - это O-N-ацетилглюкозаминилгликаны (гликаны муцинового типа), O-ксилозилгликаны (гликозаминилгликаны), O-фукозилгликаны и O-маннозилгликаны. Синтез гликоконъюгатов контролирует множество гликозидаз, гликозилтрансфераз, переносчиков специфических активированных молекул сахаров, которые являются продуктами действия более 250 генов. Описаны новые формы CDG с сочетанными нарушениями N-Г и O-Г. Очевидно, что число известных в настоящее время форм CDG - это лишь малая часть существующей в популяции человека такой наследственной патологии. Наследственные нарушения гликозилирования подразделяют на 4 группы согласно новой классификации: 1) дефекты N-Г белков (16 форм), 2) дефекты O-Г белков (8 форм), 3) дефекты гликозилирования липидов и гликозилфосфатидилинозитолового якоря (3 формы), 4) дефекты комплексного гликозилирования и других метаболических путей (17 форм) [1]. До настоящего времени существуют формы CDG, этиология которых остается неясной (CDG-х).

Клиническая картина CDG чрезвычайно вариабельна, от очень мягких форм до тяжелых, приводящих к ранней гибели больного. Ряд симптомов общих для CDG, например, задержка психомоторного, физического развития, судороги, инсультоподобные приступы, при-знаки дизморфогенеза, коагулопатии, встречается при других наследственных болезнях, что затрудняет диагностику CDG. Подозрение на CDG должно возникать при неврологических синдромах неясной этиологии, особенно в сочетании с поражением других органов и систем, при синдромах неясной этиологии без симптомов поражения нервной системы. Такие знаки, как синдромное отложение жировой ткани («жировые подушечки»), инвертированные соски, хроническая диарея, ихтиоз, фиброзное перерождение ткани печени, различные нейросиндромные состояния (катаракта, сенсоневральная тугоухость и т.п.), синдромная кардиомиопатия должны рассматриваться как вероятные проявления CDG. Первый важнейший шаг лабораторной диагностики CDG - изоэлектрофокусирование (IEF) сывороточного трансферрина (Tf), позволяющее заподозрить основные группы CDG в зависимости от характеристик Tf. Последующее исследование промежуточных продуктов гликозилирования белков, липидов, активности ферментов гликозилирования, выявление мутаций в соответствующих генах приводит к постановке точного диагноза. Молекулярная диагностика известных форм CDG осуществляется во многих лабораториях мира методами SSCP, RFLP, PCR в реальном времени и секвенирования ДНК, внимание уделяется разработке и внедрению в практику микрочипирования [2, 3].

Патогенетическая терапия возможна при MPI-CDG (CDG-Ib): введение маннозы per os или внутривенно, при SLC35C1-CDG (CDG-IIc): введение фу-

kozy per os с учетом типа мутаций в *SLC35C* гене, при PIGM-CDG: введение ингибитора деацетилаз гистонов, бутирата, усиливающего транскрипцию маннозилтрансферазы (PIGM) и экспрессию гликозилфосфатидинози-тола (GPI), и тем самым оказывающего противосудорожное действие. Патогенетическая терапия других форм CDG находится на стадии поиска и модельного эксперимента.

Заключение: Наследственные дефекты гликозилирования, CDG, – новая ветвь НОМ. Многие формы CDG остаются еще вне нашего знания, впереди открытия новых вариантов CDG липидов, протеогликанов, органоспецифических путей гликозилирования. Современные достижения молекулярной диагностики CDG в ряде случаев позволяют осуществлять медико-генетическое консультирование.

Список литературы:

1. Goreta S., Dabelic S. Domic J. Insights into complexity of congenital disorders of glycosylation. *Biochemia Medica* 2012, 22:156-170.
2. Lefeber DJ, Morava E, Jaeken J. How to find and diagnose a CDG due to defective N-glycosylation. *J Inherit Metab Dis* 2011, 34:849-852.
3. Jones MA, Bhide S, Chin E, et al. Targeted polymerase chain reaction-based enrichment and next generation sequencing for diagnostic testing of congenital disorders of glycosylation. *Genet Med* 2011, 13:921-932.

Ассоциация del/del полиморфизма гена *NF-KB1* с развитием агрессивного пародонтита

Нацвлишвили Т.^{1}, Кадурина Т.И.², Кигурадзе-Гогилашвили К.³, Цимбалистов А.В.⁴*

¹Государственный университет имени И. Чавчавадзе, Грузия

*Тел.: +995599213616, tea.natsvlishvili@yahoo.com

²Северо-Западный государственный Медицинский Университет им. И.И. Мечникова, Россия

³Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Россия

Ключевые слова: NF-KB1, агрессивный пародонтит

Association of NF-KB1 gene del/del polymorphism with aggressive periodontitis *Natsvlishvili T.^{1*}, Kadurina T.I.², Kiguradze-Gogilashvili K.³, Tsimbalistov A.V.⁴*

¹Ilia State University, Georgia

* Tel.: +995599213616, tea.natsvlishvili@yahoo.com

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Russian Federation

³Belgorod National Research University, Russian Federation

Key words: NF-KB1, aggressive periodontitis

Введение: Агрессивный пародонтит (АП) – редкая (частота АП у людей 18-30 лет <4%), тяжелая, быстро прогрессирующая семейная патология, проявляющаяся в возрасте до 35 лет [1]. Опубликовано значительное количество работ, посвященных этиологии, патогенезу, диагностике и лечению агрессивных форм пародонтита. Однако полученные данные носят противоречивый характер, а ведущие этиологические и патогенетические факторы риска развития данной патологии по-прежнему остаются невыясненными. Известно, что ключевую роль в метаболизме костной ткани, а именно в остеокластогенезе и в иммунном ответе, активируя воспаление, играет фактор транскрипции Nf-kB [2]. С одной стороны, учитывая этиологию и патогенез пародонтита, а с другой, функциональные особенности Nf-kB, данный фактор транскрипции может являться одним из ключевых моментов развития агрессивных форм пародонтита.

Материал и методы: обследованы 119 пациентов: 44 больных с диагнозом агрессивный пародонтит (12 – локализованная форма (ЛАП), 32 – с генерализованной формой (ГАП) - (основная группа), 36 – с хроническим пародонтитом (группа сравнения) и 39 человек с здоровым пародонтом (контрольная группа). Проведено анкетирование больных, клиническое, рентгенологическое и молекулярно-генетическое исследование для выявления полиморфных маркеров гена NF-kB1 в 98 образцов крови.

Результаты: Основная группа и группа сравнения достоверно различались по частоте носителей генотипа del/del гена *NFKB1*: 30,2% и 5,0%, соответственно, $p=0,027$; ОШ=8,233; 95% ДИ 0,995-68,154. При детальном анализе частоты носителей данного генотипа с разными формами АП установлено, что гомозиготные носители аллеля del чаще обнаруживаются в группе с ЛАП (41,7%) по сравнению с группой больных ГАП (25,8%) и статистически значимо чаще, чем в группе сравнения (5,0%, $p=0,018$), даже при небольшом количестве наблюдений в данной группе (12 человек). Это указывает на значимый вклад данного генотипа в развитие предрасположенности к АП. Надо отметить, что носители генотипа del/del гена *NFKB1* в 3 раза чаще обнаруживаются среди больных с АП, чем в контрольной группе (30,2% и 11,4% соответственно). Однако эти различия статистически не значимы, $p=0,057$. Это говорит о том, что генотип del/del не является единственным фактором, влияющим на развитие пародонтита в целом, но может определять форму пародонтита (АП или ХП) при его возникновении.

Выводы: Одним из факторов риска предрасположенности к развитию агрессивных форм пародонтита может быть полиморфизм с делецией гена (del) *NFKB1*, влияющий на транскрипцию посредством снижения активности промотора данного гена. Доказано, что активация такого транскрипционного фактора продуктами жизнедеятельности бактерий и вирусов, цитокинов и т.п. может привести к неадекватной стимуляции как компонентов

врожденного, так и приобретенного иммунитета, а также к развитию бурного воспалительного процесса [3].

Список литературы:

1. Безрукова ИВ. Быстро прогрессирующий пародонтит. Москва: Медицинская книга, 2004. 144 с.
2. Baldwin ASJ. The NF- κ B and I κ B proteins: New discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 1996, 14: 649–683.
3. Karban AS, Okazaki T, Panhuysen CIM, et al. Functional annotation of a novel NF κ B1 promoter polymorphism that increases risk for ulcerative colitis. *Human Mol Genet* 2004, 13: 35–45.

Иммунные нарушения в клеточном звене иммунитета у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом и метаболическим синдромом на разных стадиях заболевания

Некрасова А. С., Стельмах В. В., Козлов В. К.

Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И. И. Мечникова, Российская Федерация

Кирочная ул. 41, Санкт-Петербург 191015, Российская Федерация

Тел.: +7 9817875737, e-mail: annanekrasova@list.ru

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, метаболический синдром, клеточное звено иммунитета, субпопуляционный состав лимфоцитов, иммунные нарушения, фиброз печени, иммуноактивация, структурно-морфологическое звено иммунореактивности

Immune disturbances of immunity cellular link in patients with nonalcoholic steatogepatitis and metabolic syndrome at various stages of the disease

Nekrasova A. S.¹, Stelmakh V. V.¹, Kozlov V. K.¹

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Russian Federation

Kirochnaya St. 41, St. Petersburg 191015, Russian Federation

Ph.: +7 9817875737, e-mail: annanekrasova@list.ru

Keywords: nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatogepatitis, metabolic syndrome, cellular link of immunity, subpopulation structure of lymphocytes, immune disturbances, liver fibrosis, immunoactivation, structural morphological link of immunoreactivity

Введение: В настоящее время хроническому системному воспалению уделяется большое внимание как одному из важнейших факторов патогенеза и прогрессии неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) и метаболического синдрома (МС). Однако особенности иммунных нарушений на разных ста-

диях данного заболевания еще до конца не изучены. В связи с выше изложенным целью нашего исследования явилось изучить структуру иммунных нарушений в субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови у пациентов с НАСГ и МС на разных стадиях заболевания.

Материалы и методы: Работа выполнена на базе кафедры внутренних болезней и нефрологии СЗГМУ им. И. И. Мечникова. Обследованы 107 пациентов с НАСГ на фоне МС. Из них 58 мужчин (54,2%) и 49 женщин (45,8%). Средний возраст больных составил $47,6 \pm 11,6$ лет. Диагноз НАСГ верифицировался на основании данных клинической картины заболевания, объективного статуса, лабораторно-инструментальных исследований. У пациентов уточнялся алкогольный и лекарственный анамнезы. Для определения стадии заболевания проводилась ультразвуковая эластометрия печени на аппарате FibroScan (Echosens, Франция), в ряде случаев выполнялось морфологическое исследование гепатобиоптатов. Больные НАСГ на фоне МС были разделены на 2 группы в зависимости от отсутствия (F0 по METAVIR) или наличия фиброзных изменений в печени (F1-III по METAVIR). Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов проводилось методом лазерной проточной цитофлуориметрии (проточный цитофлуориметр «FAX – TRAKE» (BECTON DICKINSON, США). Группу контроля составили 30 практически здоровых лиц.

Результаты: Группа пациентов с НАСГ и МС характеризовалась наличием феномена инсулинорезистентности, синдрома цитолиза и холестаза минимальной степени активности, а также развитием IIb типа гиперлипопротеидемии по Фредриксону (1965 г.).

При проведении сравнительного анализа субпопуляционного состава лимфоцитов пациентов с НАСГ и МС на разных стадиях заболевания выявлено увеличение абсолютного количества в периферической крови Т-хелперов CD3+CD4+ (группа F 0 по METAVIR= 1118 ± 114 /л, группа F I-III по METAVIR= 1302 ± 120 /л и группа контроля= 816 ± 24 /л, $p < 0,05$), дубль позитивных Т-клеток CD4+CD8+ (группа F 0 по METAVIR= 21 ± 7 /л, группа F I-III по METAVIR= 18 ± 3 /л и группа контроля= 12 ± 1 /л, $p < 0,05$) и иммунорегуляторного индекса (группа F 0 по METAVIR= $2,6 \pm 0,2$, группа F I-III по METAVIR= $2,6 \pm 0,4$ и группа контроля= $1,51 \pm 0,05$, $p < 0,05$). По мере прогрессирования заболевания наблюдалось вовлечение в патологический процесс новых субпопуляций лимфоцитов периферической крови, таких как активированные Т-клетки CD3+HLA DR+ (группа контроля= 77 ± 3 /л, группа F 0 по METAVIR= 91 ± 16 /л и группа F I-III по METAVIR= 164 ± 37 /л, $p < 0,05$), В-лимфоциты CD 19+ (группа контроля= 240 ± 10 /л, группа F 0 по METAVIR= 201 ± 14 /л и группа F I-III по METAVIR= 309 ± 44 /л, $p < 0,05$), активированные NK-клетки CD (16+56+)HLA DR+ (группа контроля= 19 ± 1 /л, группа F 0 по METAVIR= 10 ± 2 /л и группа F I-III по METAVIR= 30 ± 7 /л, $p < 0,05$), лимфоциты, несущие на своей поверхности фенотипические маркеры CD3+CD25+ (группа контроля= 75 ± 38 /л, группа F 0 по METAVIR= 63 ± 11 /л и группа F I-III по METAVIR= 88 ± 4 /л, $p < 0,05$), HLA DR (группа контро-

ля=317±16/л, группа F 0 по METAVIR=319±32/л и группа F I-III по METAVIR=617±78/л, $p<0,05$), CD 95+ (группа контроля=111±4/л, группа F 0 по METAVIR=47±9/л и группа F I-III по METAVIR=221±50/л, $p<0,05$).

Заключение: Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что для пациентов с НАСГ и МС характерно наличие иммунных нарушений в субпопуляционном составе лимфоцитов по активационному типу. Кроме того, по мере прогрессирования НАСГ до стадии стеатофиброза (F I-III по METAVIR) наблюдается углубление имеющихся иммунных нарушений с вовлечением новых субпопуляций лимфоцитов периферической крови.

Экспрессия генов *PPAR γ* , *TNF α* и *Omentin 1* в интраабдоминальной жировой ткани

Николаев М.А.¹, Усенко Т.С.^{1,2}, Баженова Е.А.², Неймарк А.Е.², Хэ Чж.², Беркович О.А.², Баранова Е.И.², Пчелина С.Н.^{1,2}

¹Петербургский институт ядерной физики, Санкт-Петербург, Россия

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: ожирение, экспрессия генов

Expression of genes *PPAR γ* , *TNF α* and *Omentin 1* in visceral adipose tissue

Nikolaev M.A.¹, Usenko T.S.^{1,2}, Bazhenova E.A.², Neimark A.E.², Khe Chj.², Berkovich O.A.², Baranova E.I.², Pchelina S.N.^{1,2}

¹Petersburg Nuclear Physics Institute, St. Petersburg, Russian Federation

²Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Key words: obesity, gene expression

Введение: Жировая ткань является источником активных биомолекул, цитокинов и адипокинов, играющих центральную роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и сахарного диабета 2 типа. Экспрессия генов в жировой ткани может регулироваться ядерным рецептором *PPAR γ* , основным транскрипционным фактором адипогенеза. Влияние данного транскрипционного фактора на экспрессию фактора некроза опухоли (ФНО α , *TNF α*) и оментина 1 (*OMENTIN 1*) в жировой ткани не изучено. Между тем исследование тканеспецифичной экспрессии молекул воспаления и механизмов ее регуляции позволит обозначить новые мишени для лекарственной терапии. Целью настоящего исследования явилась оценка уровня мРНК генов *PPAR γ* , *TNF α* и *Omentin 1* в интраабдоминальной жировой ткани и исследование возможной корреляции экспрессии указанных

генов, а также корреляции их экспрессии с уровнем ФНО α и оментина 1 в плазме крови.

Материалы и методы: В исследование включены образцы интраабдоминального жира, полученного из большого сальника в ходе лапароскопической холецистэктомии от 30 индивидуумов (средний возраст 45 ± 9 лет, 9 мужчин, ИМТ 32 ± 9) с отсутствием сахарного диабета типа 2 и ССЗ. Уровень мРНК исследуемых генов в жировой ткани оценивали с помощью ПЦР в режиме реального времени по технологии TaqMan. В качестве референсного гена оценивали уровень мРНК гена G белка *GNB2L1*. Уровень ФНО α и оментина 1 в плазме крови оценивали методом ИФА.

Результаты: Сравнение полученных данных при проведении корреляционного анализа по Спирману позволило выявить статистически значимую корреляцию между уровнем мРНК гена *PPAR γ* и мРНК гена *Omentin 1* в жировой ткани ($r = 0,443$; $p = 0,044$), а также уровнем мРНК гена *PPAR γ* с уровнем оментина 1 в сыворотке крови ($r = 0,493$, $p = 0,027$). Полученные данные позволяют предполагать участие *PPAR γ* в регуляции экспрессии гена *Omentin 1* в интраабдоминальной жировой ткани.

Заключение: В ходе работы впервые получены данные о корреляции уровня экспрессии гена *PPAR γ* с уровнем экспрессии гена *Omentin 1* в жировой ткани, а также с уровнем белка оментина 1 в плазме крови. Полученные данные проясняют механизм регуляции экспрессии и секреции оментина 1 интраабдоминальной жировой тканью. Также можно высказать предположение о механизме протективного действия агонистов *PPAR γ* , применяемых в терапии сахарного диабета 2 типа.

Исследование поддержано грантом РФФИ 14-04-31690

Экспрессия гена альфа-синуклеина в лимфоцитах пациентов с болезнью Гоше

Нужный Е.П.¹, Емельянов А.К.^{1,2,3}, Андоскин П.А.^{1,2}, Якимовский А.Ф.¹, Салозуб Г.Н.¹, Захарова Е.Ю.⁴, Пчелина С.Н.^{1,2,3}

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

²Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

³Санкт-Петербургский Академический университет – научно - образовательный центр

⁴Медико-генетический научный центр, Москва

Alpha-synuclein gene expression in lymphocytes from patients with Gaucher disease

Nuzhnyi E.P.¹, Emelyanov A.K.^{1,2,3}, Andoskin P.A.^{1,2}, Yakimovskii A.F.¹,
Salogub G.N.¹,
Zakharova E.Yu.⁴, Pchelina S.N.^{1,2,3}

¹First Pavlov's State Medical University of St. Petersburg

²Petersburg Nuclear Physics Institute

³St. Petersburg Academic University – Nanotechnology Research and Education Centre

⁴Medical genetics research center, Moscow

Введение: Болезнь Гоше (БГ) – наиболее распространенное аутосомно-рецессивное заболевание из класса лизосомных болезней накопления, обусловленное носительством мутаций в гене глюкоцереброзидазы (*GBA*). Известно, что гетерозиготное носительство мутаций в гене *GBA* повышает риск развития болезни Паркинсона (БП) в 6-7 раз [1]. В патогенезе нейродегенерации при БП ключевую роль играет формирование нейротоксичных олигомеров белка альфа-синуклеина. Таким образом, связь БП и БГ можно объяснить повышенной агрегацией альфа-синуклеина при лизосомной дисфункции вследствие мутаций в гене *GBA*. Ранее было показано повышение уровня олигомерного альфа-синуклеина в плазме крови и эритроцитах пациентов с БГ [2,3]. Однако остается неизвестным, связано ли увеличение уровня альфа-синуклеина у пациентов с БГ с изменением экспрессии его гена.

Материалы и методы: В исследование вошли 7 пациентов с БГ, 5 здоровых родственников БГ - гетерозиготных носителей мутаций в гене *GBA* и 14 индивидуумов контрольной группы, сопоставимых по полу и возрасту. CD45+ микробусы и MACS колонки (Miltenyi Biotec, США) были использованы после фракционирования клеток крови в градиенте фиколла с целью получения фракции лимфоцитов, не контаминированной эритроцитами. Определение уровня мРНК гена альфа-синуклеина *SNCA* из CD45+ лимфоцитов проводилось методом количественной ПЦР в режиме реального времени с использованием интеркалятора EVA-GREEN (SsoFast EvaGreen Supermix, Bio-Rad, США) на приборе CFX96 (Bio-Rad, США). В качестве гена свидетеля был использован ген G белка (*GNB2L1*).

Результаты: Полученные значения уровня мРНК гена *SNCA* в группе пациентов с БГ (медиана относительного уровня 0,28; мин. – 0,20; макс. – 0,40) статистически значимо не отличались как от группы здоровых *GBA*-гетерозигот (медиана относительного уровня 0,22; мин. – 0,12; макс. – 0,80; $p = 0,47$), так и от контроля (медиана относительного уровня 0,79; мин. – 0,01; макс. – 1,59; $p = 0,62$).

Заключение: Отсутствие различий в уровне мРНК гена *SNCA* лимфоцитов крови у пациентов с БГ и в контроле позволяет предположить, что накопление альфа-синуклеина у данных пациентов, скорее всего, связано с нарушением деградации данного белка вследствие лизосомной дисфункции.

Исследование поддержано грантами РФФИ №13-04-01510; №14- 04-31665.

Список литературы:

1. Sidransky E., Nalls et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 2009; 361(17):1651-61.
2. Argyriou A., Dermentzaki G. et al. Increased dimerization of alpha-synuclein in erythrocytes in Gaucher disease and aging, *NeurosciLett.* 528(2012) 205-209.
3. Pchelina S.N., Nuzhnyi E.P., Emelyanov A.K. et al. Increased plasma oligomeric alpha-synuclein in patients with lysosomal storage diseases. *Neurosci Lett.* 2014; 583C:188-193.

Болезнь Фабри как одна из редких причин несаркомерной гипертрофической кардиомиопатии в российской популяции

Полякова А.А.^{1}, Стрельцова А.А.¹, Семернин Е.Н.¹, Гудкова А.Я.²*

¹ Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр

Аккуратова ул. 2, Санкт-Петербург 197341, Россия

*Тел.: 89112874586, e-mail: lica.polyakova@mail.ru

² ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Россия

Ключевые слова: Болезнь Фабри, саркомерная гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП), несаркомерная ГКМП, полиморфизмы в гене GLA

Fabry disease as a rare cause of nonsarcomeric hypertrophic cardiomyopathy in Russian population

Poliakova A.A.^{1}, Streltcova A.A.¹, Semernin E.N.¹, Gudkova A.Ya.²*

¹Federal Almazov Medical Research Center, Russian Federation

* Tel.: 89112874586, e-mail: lica.polyakova@mail.ru

²Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Key words: Fabry disease, sarcomeric hypertrophic cardiomyopathy (HCM), nonsarcomeric HCM, polymorphism in the GLA gene

Цель: Описать результаты селективного скрининга, направленного на выявление пациентов с несаркомерной гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП), в частности с болезнью Фабри, среди пациентов с гипертрофией левого желудочка неясного генеза [1].

Методы: Обследованы 130 симптомных пациентов, имеющих гипертрофию левого желудочка ≥ 15 мм. Проведены клиническо-лабораторные и инструментальные обследования: электрокардиография, суточное мониторирование ЭКГ, эхокардиография, рентгенография органов грудной клетки, биопсия подкожно-жировой клетчатки с последующей окраской конго красным, определение уровня каппа и лямбда цепей в сыворотке крови и моче, электрофорез сывороточных белков, стерильная пункция, эндомиокардиальная биопсия, определение активности фермента альфа-галактозидазы А в сыворотке крови, прямое секвенирование экзонов 1-7 гена *GLA*, а также прилегающих интронных областей, генетические исследования на наличие мутаций в четырех экзонах гена транстретина — по показаниям.

Результаты: Диагноз ГКМП установлен в соответствии с ESC Guidelines on diagnosis and management of Hypertrophic Cardiomyopathy, 2014. Из 130 обследованных пациентов саркомерная ГКМП диагностирована в 107 случаях, в 7 - выявлена несаркомерная ГКМП (в 3 случаях имел место саркоидоз сердца, в 3 случаях - системные формы амилоидоза, у одного пациента выявлена болезнь Данона), в 16 случаях имела место гипертрофия левого желудочка неясного генеза. 13 пациентам, у которых ГКМП сочеталась с поражением других систем органов, в частности с поражением почек (микроальбуминурия, протеинурия, сниженная скорость клубочковой фильтрации), периферической (акропарестезии, боли в конечностях) и центральной нервной системы (ОНМК в молодом возрасте), кожи (ангиokerатомы), имеющих наследственный характер заболевания с X-сцепленным типом наследования, проведен скрининг на выявление болезни Фабри (определение активности фермента альфа галактозидазы А в сыворотке крови у 9 мужчин и 4 женщин, а также поиск мутаций в гене *GLA* у женщин) [2]. По полученным данным, снижения активности фермента не выявлено, мутации, приводящие к развитию заболевания, не установлены. У трёх пациенток обнаружены полиморфизмы в гене *GLA*. У пациентки К. 48 лет выявлен редкий полиморфизм, приводящий к нарушению функции белка (rs3027584). Пациентка Н. 64 лет и пациентка П. 41 год являлись гетерозиготами по двум полиморфизмам в гене *GLA* (rs2071397, rs2071228) [3].

Обсуждение: Саркомерная ГКМП, особенно на ранних стадиях заболевания, может быть маской болезней накопления и инфильтративных заболеваний миокарда. Только комплексная оценка вовлечения в патологический процесс различных систем органов может привести к правильной постановке диагноза. Поиск несаркомерной ГКМП необходимо продолжать, так как своевременная диагностика приведет к началу разработанного этиопатогенетического лечения. Влияние обнаруженных полиморфизмов на особенности

клинического течения и наличие экстракардиальных проявлений у обследованных пациентов требует дальнейшего уточнения.

Список литературы:

1. Brito D., Miltenberger-Miltenyi G., Moldovan O. et al. Cardiac Anderson-Fabry disease: lessons from a 25-year-follow up. *Rev Port Cardiol.* 2014, 33(4): 247. e 1-7.
2. Smid B.E., van der Tol L., Cecchi F. et al. Uncertain diagnosis of Fabry disease: consensus recommendation on diagnosis in adults with left ventricular hypertrophy and genetic variants of unknown significance. *Int J Cardiol.* 2014, 177(2):400-408.
3. Tanislav C., Kaps M., Rolfs A. et al. Frequency of Fabry disease in patients with small-fibre neuropathy of unknown aetiology: a pilot study. 2011, 18(4):631-636.

**Образовательная программа для биологических и медицинских ВУЗов:
Новые технологии в области молекулярной биологии, биотехнологии
и молекулярной медицины**

Пушнова Е.А.

США, Россия

**Education program for biological and medical universities: New technologies
in molecular biology, biotechnology, and molecular medicine**

Pushnova E.A.

GeneIDs, Inc., CA, USA

Acacia Research Group LLC, CA-TX, USA

Tel.: +1 5103814433, e-mail: elena.pushnova@geneids.com;

elena.pushnova@gmail.com; pushnova@comcast.net

Key words: education; molecular biology; biotechnology; molecular medicine

Разработка и внедрение новейших отечественных технологий в области Молекулярной Биологии, Биотехнологии и Молекулярной Медицины является одной из важнейших задач для обеспечения независимости и процветания России. Без владения самыми современными знаниями молодые отечественные специалисты не смогут генерировать новые оригинальные идеи и технологии. Получение информации о последних мировых достижениях и используемых технологиях является целью предлагаемого курса лекций для биологических и медицинских ВУЗов.

Плазмидные ДНК-вакцины для иммунотерапии онкологических заболеваний

Пушинова Е.А.

США, Россия

Сегодня из 593 проводящихся клинических испытаний плазмидных ДНК-вакцин 165 испытаний нацелены на иммунотерапию раковых заболеваний. В докладе будет дан краткий обзор принципа конструирования и действия плазмидных ДНК-вакцин. На примере PROVENGE (sipuleucel-T; Dendreon) - ДНК-вакцины, одобренной FDA для лечения рака простаты, будет продемонстрирована недостаточная эффективность ДНК-вакцины.

Обсуждаются методы повышения эффективности иммунотерапии онкологических заболеваний при использовании плазмидных ДНК-вакцин.

Молекулярно-генетическая диагностика для классификации и лечения психических расстройств

Пушинова Е.А.

США, Россия

Molecular genetic diagnostics for classification and treatment of mental disorders

Pushnova E.A.

GeneIDs, Inc., CA, USA

Tel.: +1 5103814433, e-mail: elena.pushnova@geneids.com; pushnova@comcast.net

Key words: mental disorders; molecular diagnostics; genetics

Согласно ВОЗ, каждый пятый человек в мире страдает психическим или поведенческим расстройством. 12% населения США ежедневно принимают препараты для лечения психических расстройств. Основным инструментом диагностики заболевания является интервью пациента психологом или психиатром. Выбор лекарственной терапии для лечения психических расстройств и расстройств поведения базируется на диагнозе по классификатору методом интервью. Иными словами, диагностика и лечение психических расстройств определяется описанием симптоматики, а не знанием этиологии заболевания. Учитывая то, что различные психические расстройства имеют общие симптомы и что многие субъективные факторы влияют на надежность такого инструмента как интервью, такая «описательная диагностика» зачастую приводит к ошибочному диагнозу и, особенно, к ошибочному выбору лекарственного препарата, который оказывается неэффективным и даже усугубляет состояние.

губляет симптомы, так что в конечном счёте фармакотерапия сводится к подбору оптимального лекарства методом «проб и ошибок». Основной причиной индивидуальных вариаций в реакции на фармакологическое лечение пациентов с одним и тем же психическим расстройством, определённым с помощью существующих классификаторов, является гетерогенность этиологии (первопричины) конкретного расстройства на молекулярном уровне.

Вклад индивидуальной генетики (генотипа) в развитие психических расстройств и реакции на лекарства может составлять до 80%. Следовательно, наиболее правильным этиологическим классификатором является генотип пациента, который можно определить методами молекулярной диагностики - генетического анализа с использованием полиморфизмов (вариаций) в ДНК в качестве маркеров (индикаторов заболеваний). Генетическое тестирование предоставляет информацию, необходимую для правильной постановки диагноза и принятия ответственного решения при выборе лечения методом персонализированной медицины: назначении "индивидуального лекарства для конкретного пациента".

Учитывая а) ограничения описательной диагностики и б) что одни и те же ДНК-полиморфизмы ассоциируются с целым спектром психических расстройств, наша концепция генетических профилей психических расстройств и реакций на препараты для их лечения такова:

1. Большинство, - если не все, - психические расстройства имеют одинаковый генетический профиль, то есть различные психические расстройства связаны с одними и теми же полиморфизмами в ДНК независимо от названия расстройства.

2. Реакция на фармакологическое лечение психических расстройств определяется в первую очередь генотипом пациента независимо от названия психического расстройства.

Мутации в генах лизосомных болезней накопления – фактор высокого риска развития болезни Паркинсона: возможные молекулярные механизмы

*Пчелина С.Н.^{1,2}, Нужный Е.П.², Усенко Т.С.^{1,2}, Николаев М.А.¹,
Захарова Е.Ю.³*

¹Петербургский институт ядерной физики, Санкт-Петербург, Россия

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Россия

³Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, лизосомные болезни накопления, фактор риска

**Mutations causing lysosomal storage diseases as high risk factor
for Parkinson's disease: possible molecular bases**

Pchelina S.N.^{1,2}, Nuzhnyi E.P.², Usenko T.S.^{1,2}, Nikolaev M.A.^{1,2}, Zakharova E.Yu.³

¹Petersburg Nuclear Physics Institute, St. Petersburg, Russian Federation

²Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

³Research Center for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

Key words: Parkinson's disease, lysosomal storage diseases, risk factor

Введение: Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее заболевание, связанное с агрегацией нейронального белка альфа-синуклеина и развитием нейродегенерации. В последнее время накапливается все больше фактов, свидетельствующих об общности молекулярных механизмов БП и редких наследственных заболеваний, относящихся к классу лизосомных болезней накопления (ЛБН), связанных с дисфункцией лизосом. Нами и зарубежными авторами показан высокий риск развития БП у носителей мутаций в гене *GBA*. Риск развития БП с началом до 50 лет у носителей мутаций L444P и N370S *GBA* возрастает до 15 раз. В тоже время известно, что мутации в гене *GBA* в гомозиготном состоянии являются причиной развития болезни Гоше, наиболее распространенного заболевания из наследственных болезней, относящихся к классу ЛБН.

Целью нашей работы явилась оценка уровня олигомерного альфа-синуклеина в плазме пациентов с различными ЛБН и в контрольной группе.

Материалы и методы: Нами были сформированы следующие группы пациентов: 41 пациент с болезнью Гоше (БГ), 5 пациентов с другими ЛБН (2 пациента с болезнью Ниманна-Пика тип С, 2 – с болезнью Краббе, 1 - с болезнью Вольмана), 40 пациентов контрольной группы. Исследование олигомерного альфа-синуклеина в плазме крови было проведено методом ИФА с использованием набора Human Synuclein OLIGO kit (aj Roboscreen, Германия).

Результаты: Нами впервые показано, что такой высокий риск развития БП при дисфункции лизосомного фермента *GBA* может быть обусловлено формированием повышенного уровня олигомерных форм альфа-синуклеина. Выявленное нами повышение олигомерных форм альфа-синуклеина в плазме крови у пациентов с различными ЛБН (болезнью Гоше, болезнью Вольмана, болезнью Краббе), позволило предположить, что нарушения активности и других лизосомных ферментов может приводить к увеличению уровня нейротоксичных форм альфа-синуклеина. Нами была впервые описана обратная корреляция уровня альфа-синуклеина плазмы крови с активностью *GBA* лимфоцитов крови у пациентов с болезнью Гоше, а также выявлено снижение уровня олигомерных форм альфа-синуклеина плазмы крови в зависимости от длительности ферментозаместительной терапии.

Заключение: Полученные результаты позволили предположить, что молекулярный механизм повышения риска развития БП у носителей мутаций в гене *GVA* может быть связан с накоплением олигомерных форм альфа-синуклеина, а также обсуждать перспективы терапии *GVA*-ассоциированной формы БП.

Исследование поддержано грантами РФФИ №13-04-01510; №14-04-31665.

Протеом глиобластомных клеток

Ронжина Н.Л.^{1*}, *Майнскова М.А.*², *Новикова С.Е.*², *Згода В.Г.*²,
*Белякова Н.В.*¹, *Клейст О.А.*¹, *Легина О.К.*¹, *Пантина Р.А.*¹, *Филатов М.В.*¹,
Нарыжный С.Н.^{1,2}

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

Орлова роща, г. Гатчина 188300, Ленинградская область, Россия

*Тел.: 8 911 9687996; факс 8 81371 32303; эл. почта: ronzhina@mail.ru

² Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

Ключевые слова: протеом, глиобластома, p53, PCNA

Proteome profiling of glioblastoma

Ronzhina N.L.^{1*}, *Mainskova M.A.*², *Novikova S.E.*², *Zgoda V.G.*², *Belyakova N.V.*¹, *Kleyst O.A.*¹, *Legina O.K.*¹, *Pantina R.A.*¹, *Filatov M.V.*¹ and *Naryzhny S.N.*^{1,2}

¹B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute at National Research Center "Kurchatov Institute"

Leningrad Oblast, Gatchina 188300, Russian Federation

*Tel.: 8 911 9687996; fax: 88137132303; e-mail: ronzhina@mail.ru

²Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

Key words: proteome, glioblastoma, p53, PCNA

Введение: Глиобластома (астроцитная глиома 4 степени) – наиболее частая и злокачественная форма первичных опухолей мозга [1, 2]. По смертности она занимает 4 место среди раковых заболеваний. Определение протеомного профиля методом двумерного электрофореза (2DE) в сочетании с масс-спектрометрией и иммунодетекцией позволяет идентифицировать индивидуальные белки и наблюдать их качественные (новые изоформы) и количественные (уровень экспрессии) изменения в норме и при патологиях, а также при воздействии различных факторов. Анализ белковых профилей,

связанных с патологией, даёт возможность выбрать наиболее характерные маркеры заболевания и использовать их для включения в разрабатываемый штрих-код данного заболевания.

Материал и методы: В работе были использованы перевиваемые культуры клеток фибробластов человека ФЛЭЧ и первичные линии глиального происхождения, полученные в лаборатории клеточной биологии ФГБУ ПИ-ЯФ [3]. Разделение белков методом 2DE проводили по описанной ранее методике [4, 5]. Идентификацию белков осуществляли методом иммуноблотинга по протоколу Blue Dry Western [5] и с помощью масс-спектрометрии [4]. Изображения анализировали с помощью программы Melanie7 (“GeneBio”, Швейцария).

Результаты: Разделение белков 2DE с последующим окрашиванием, анализом изображений и белковых пятен, масс-спектрометрической и иммунологической идентификацией белков, позволило нам визуализировать более 800 белковых пятен, идентифицировать и проанализировать более 450 протеоформ. С целью выявления возможных маркеров глиобластомы также были анализированы и нормальные клетки. Протеомные профили в нормальных и глиобластомных клетках очень похожи, однако уровни содержания многих белков сильно отличаются. Среди таких белков альфа-енолаза, изофермент пируваткиназы M1/M2, кофилин 1, опухолевый белок TCTP, аннексины 1 и 2, PCNA, p53. При исследовании вестерн-блотом p53 мы выявили большие качественные различия между нормой и онкологией. В образцах из нормальных клеток были обнаружены 8 протеоформ p53 (M_w 53000 и диапазон pI от 6,1 до 6,3) [6]. В глиобластомных клетках мы обнаружили уже более 30 протеоформ, которые отличаются более широким спектром изоэлектрических точек. Причём особенно увеличено количество форм с “кислыми” значениями pI вплоть до 4, которые в норме не наблюдаются.

Заключение: Полученные нами результаты с одной стороны подтверждают опубликованные ранее данные о некоторых раковых белках-маркерах, как общих, так и связанных с глиобластомой, с другой стороны указывают на возможность использования в глиобластомных анализах в качестве биомаркеров таких известных белков, как PCNA и p53. Чрезвычайно высокая гетерогенность белковых форм p53, показанная нами в глиобластомах, требует отдельного внимания и дополнительного анализа.

Список литературы:

4. Furnari F, Fenton T, Bachoo R, Mukasa A, Stommel J, Stegh A., Hahn W, Ligon K, Louis D, Brennan C, Chin L, DePinho R, Cavenee W. 2007. *Genes Dev*, 21: 2683-710.
5. Louis D, Ohgaki H, Wiestler O, Cavenee W, Burger P, Jouvet A, Scheithauer B, Kleihues P. 2007. *Acta Neuropathol*, 114: 97-109.
6. Штам Т, Нарыжный С, Ланда С, Бурдаков В, Артамонова Т., Филатов М. 2012. *Цитология*, 54: 430–438.
7. Naryzhny S, Lee H. 2007. *FEBS Lett*, 581: 4917-4920.

8. Naryzhny S. 2009. Anal Biochem, 392: 90-95.
 9. Marcel V, Dichtel-Danjoy M, Sagne C, Hafsi H, Ma D, Ortiz-Cuaran S, Olivier M, Hall J, Mollereau B, Hainaut P, Bourdon J. 2011. Cell Death Diffe, 18: 1815-1824.

Современные стратегии молекулярно-генетической диагностики болезней геномного импринтинга на примере синдромов Прадера-Вилли и Энгельмана

Саженова Е.А., Лебедев И.Н.*

НИИ медицинской генетики,

набережная р. Ушайки д. 10, Томск 634050, Россия

*Тел.: +7 (3822)51-31-46, e-mail: elena.sazhenova@mail.ru

Ключевые слова: молекулярная диагностика болезней геномного импринтинга, синдромы Прадера-Вилли и Энгельмана

Current strategies for molecular genetic diagnosis of genomic imprinting diseases on the example of Prader-Willi and Angelman syndromes

Sazhenova E.A., Lebedev I.N.*

Research Institute of Medical Genetics

Ushaika embankment 10, Tomsk 634050, Russian Federation

*Tel: +7 (3822)51-31-46, e-mail: elena.sazhenova@mail.ru

Key words: molecular diagnostics of genomic imprinting diseases, Prader Willi and Angelman syndromes

Введение: Синдромы Прадера-Вилли (СПВ, МИМ 176270) и Энгельмана (СЭ, МИМ 105830) – два клинически разных заболевания, обусловленные нарушением функций отцовских или материнских импринтированных генов, соответственно, расположенных в регионе 15q11-q13. Определены 5 вариантов молекулярной патологии, выявляемые у больных с СПВ и СЭ [1]. 1. Микроделеции 15q11-q13 (60-70% случаев). 2. Однородительская дисомия (ОРД) хромосомы 15 материнского происхождения в 25-30% случаев приводит к СПВ, а ОРД хромосомы 15 отцовского происхождения в 2-5% случаев – к СЭ. 3. Дефекты импринтинга выявляются у 1-3% индивидов с СПВ и 2-4% с СЭ, которые представлены как делециями в центре импринтинга (ЦИ), так и эпимутациями (нарушением характера метилирования CpG-динуклеотидов без изменения нуклеотидной последовательности ДНК); 4. Мутации в гене *UBE3A* обнаруживаются у 10% больных с СЭ; 5. Хромосомные перестройки с вовлечением 15q11-q13 имеют

примерно 0,1% больных. У 10-15% индивидов с СЭ не выявляется какая-либо генетическая и эпигенетическая патология.

Генетический анализ при постановке диагноза СПВ и СЭ стал стандартом и необходимым компонентом по ряду причин: 1. Клинические критерии для этих синдромов хоть и определены, но не всегда специфичны; 2. Риск в последующей беременности для родителей ребёнка с СПВ или СЭ может быть определён только на основании результатов генетического тестирования; 3. Лечение больного с генетически подтверждённым диагнозом может быть реализовано в более раннем возрасте, что повышает качество жизни и способно предотвратить раннюю смертность. Поэтому целью исследования стала разработка стратегии и выбор методов для ДНК-диагностики СПВ и СЭ.

Материал и методы: проведён анализ и систематизация собственных данных и данных литературы для выработки оптимальной стратегии диагностики СПВ и СЭ.

Результаты: Резюмируя результаты собственных исследований и данные литературы, стратегия молекулярной диагностики СПВ и СЭ заключается в следующем: 1. Цитогенетический анализ для исключения у пациента хромосомных нарушений с вовлечением хромосомы 1. 2. Определение статуса метилирования гена *SNRPN* с предпочтением в использовании метил-специфической мультиплексной лигазной цепной реакции (MS-MLPA) или количественного анализа метилирования в режиме реального времени (Q-MSP). Эти методы, в отличие от метил-чувствительной и метил-специфической ПЦР, позволяют выявлять не только статус метилирования данной области, но и делеционный вариант синдромов, уменьшая этапы диагностики и тем самым сокращая время постановки генетического диагноза. Определение статуса метилирования без выявления молекулярных вариантов патологии даёт возможность поставить диагноз 100% больных с СПВ. Для СЭ информативность такого подхода 80%, поскольку при мутациях в гене *UBE3A* (10% случаев заболевания) нарушения статуса метилирования *SNRPN* не происходит, а ещё у 10% больных с СЭ не выявляются какие-либо генетические и эпигенетические нарушения. При обнаружении дефектов импринтинга на следующем этапе осуществляется выявление генетических вариантов синдромов. 3. Идентификация делеционного варианта с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). 4. ПЦР-амплификация высокополиморфных участков хромосомы 15 с целью анализа ОРД, при этом не рекомендуется использовать ДНК-маркёры D15S113 и D15S817 из-за сложности их амплификации [2]. 5. Секвенирование ЦИ для обнаружения мутаций в этом регионе. При отсутствии таких мутаций необходимо исключить наличие эпимутаций в ЦИ. 6. У пациентов с СЭ при нормальном статусе метилирования *SNRPN* следует проводить секвенирование гена *UBE3A*. В настоящее время для валидации методов, используемых в лабораториях при диагностике СПВ и СЭ, совместно с NIBSC (Великобритания) и ВОЗ разработана

и выведена на рынок панель «Prader Willi & Angelman syndromes» (NIBSC код 09/140) [3].

Заключение: Таким образом, на сегодняшний день определены оптимальная стратегия и методы для ДНК-диагностики СПВ и СЭ, разработана и выведена на рынок панель «Prader Willi & Angelman syndromes», позволяющая использовать при ДНК-диагностике стандарты вариантов молекулярной патологии СПВ и СЭ.

Список литературы:

1. Faundes V, Aliaga S, Curotto B, Pugin A, Allende MA. 2015. Molecular classes in 209 patients with Prader-Willi or Angelman syndromes: Lessons for genetic counseling. *Am J Med Genet*, 167: 261-263.
2. Ramsden SC, Clayton-Smith J, Buiting K. 2010. Practice guidelines for the molecular analysis of Prader-Willi and Angelman syndromes. *BMC Med Gene* 70: 1-11.
3. Kit «Prader Willi & Angelman syndromes» (NIBSC код 09/140). [//http://www.nibsc.org/Science/Diagnostics/Genomic_Reference_Materials/Prader_Willi_-_Angelman_Syndro.aspx](http://www.nibsc.org/Science/Diagnostics/Genomic_Reference_Materials/Prader_Willi_-_Angelman_Syndro.aspx)].

Клинико-иммунологический мониторинг и прогнозирование рецидивирующего течения обструктивного бронхита у детей

Селиверстова Е.Н. , Гапархоева З.М., Башкина О.А., Стройкова Т.Р.,
Аверина И.А.*

Астраханский государственный медицинский университет, Россия

*Тел:89171836629; podsolnyh2008@rambler.ru

Ключевые слова: обструктивный бронхит, дети, факторы риска

Clinical and immunological monitoring and prediction of recurrent obstructive bronchitis course in children

Seliverstova E.N.^{1}, Gaparkhoyev Z.M.¹, Bashkina O.A.¹, Stroykova T.R.², Averin I.A.³*

Astrakhan State Medical University, Russian Federation

* Tel: 89171836629; podsolnyh2008@rambler.ru

Keywords: obstructive bronchitis, children, risk factors

Введение: В последние годы у детей раннего возраста существенно выросла заболеваемость обструктивным бронхитом с затяжным и рецидивирующим течением, что определяет необходимость своевременного выявления факторов риска и прогнозирования повторного возникновения заболевания у каждого конкретного ребенка.

Цель: на основании комплексной оценки клинико-anamнестических и иммунологических показателей у детей с обструктивным бронхитом выявить факторы риска его рецидивирования.

Материалы и методы: сравнительный анализ клинико-anamнестических данных с установлением отношения шансов OR и относительного риска RR, исследованием диагностической значимости определения уровня интерлейкинов 4 и 8 в периферической крови у больных острым обструктивным бронхитом ($n=23$) и рецидивирующим обструктивным бронхитом ($n=27$) у детей раннего и дошкольного возраста.

Результаты: Установлено, что синдром бронхообструкции чаще развивается у детей с повторными ОРЗ в анамнезе. Большинство наблюдаемых нами пациентов, а именно 78%, относились к группе часто болеющих детей (ОРВИ более 5 – 6 раз в год). При этом статистически значимых различий в частоте ОРЗ в обеих сравниваемых группах не было OR=0,97 (ДИ=0,3-3,7); RR= 0,9. Выявлена статистически значимо более высокая частота патологии ЛОР-органов среди детей 2 группы (70%) по сравнению с 1-ой OR=3,7 (ДИ=1,1-11,9); RR=1,9, что доказывает влияние очагов хронической инфекции ЛОР-органов на формирование более стойкой гиперреактивности бронхов и рецидивирующее течение данного заболевания. Известная значимость неинфекционных, атопических факторов нашла свое подтверждение в более заметной частоте отягощенности аллергологического анамнеза во 2 сравниваемой группе (56% случаев) по сравнению с 1-ой - 49% OR=1,4 (ДИ=0,4-4,1); RR=1,2. Как показали статистические исследования, больший риск рецидивирования обструктивного бронхита имели дети с более ранним дебютом СБО — OR=2,2 (ДИ=0,6-7,2); RR=1,5.

Высокая частота отягощенного акушерского анамнеза отмечена у матерей пациентов обеих сравниваемых групп (78% и 74%). При этом акушерский анамнез был отягощен эпизодами перенесенных ОРВИ мамой во время беременности OR=1,1 (ДИ=0,4-3,5); RR=1 и угрозой прерывания беременности OR=1,3 (ДИ=0,4-4,2); RR=0,96 достоверно чаще среди матерей больных рецидивирующим бронхитом по сравнению с острым течением заболевания.

Мы проанализировали особенности вскармливания обследуемых нами детей на первом году жизни и выявили, что раннее отлучение ребенка от груди и перевод на искусственное вскармливание до 6 месячного возраста также является значимым фактором в формировании повторных респираторных заболеваний OR= 1,6(ДИ=0,5-4,9); RR=1,2.

При оценке клинических особенностей, в том числе данных физического, лабораторного и инструментального исследований, статистически значимых различий при остром и рецидивирующем течении обструктивного бронхита нами не выявлено, отношение шансов RR <1,0.

При анализе результатов иммунологического обследования установлено выраженное увеличение содержания провоспалительного цитокина ИЛ-8 в сыворотке крови у детей с обструктивным бронхитом в обеих сравниваемых группах по сравнению с нормальными значениями, но без значимых

различий по уровню ИЛ-8 (медиана 22,3 и 22,3 пг/мл соответственно), что может свидетельствовать об остроте воспалительного процесса. Вместе с тем, установлено повышение уровня ИЛ-4 в сыворотке крови у детей 2 группы (0,22 пг/мл), в отличие от показателя ИЛ-4 у детей 1 группы, не превышавшего нормы.

Выводы: Таким образом, нами установлены различия, позволившие статистически обосновать клинико-anamnestические предикторы рецидивирующего течения обструктивного бронхита: более ранний дебют БОС, наличие хронических очагов инфекции ЛОР-органов, наличие отягощенного аллергоанамнеза, акушерского анамнеза и ранний перевод на искусственное вскармливание.

Определение уровня ИЛ-4 и ИЛ-8 в сыворотке крови после дополнительных более масштабных исследований, возможно, станет вспомогательным лабораторным показателем активности воспалительного процесса при бронхообструктивных заболеваниях у детей.

Полиморфизмы FokI и TaqI гена рецептора витамина D и дефицит витамина D у больных ишемической болезнью сердца

Сергеева Е.Г., Ионова Ж.И., Горбач А.В.*

Первый Санкт-Петербургский государственный университет
им. акад. И.П. Павлова

ул. Льва Толстого 6/8, Санкт-Петербург 197022, Россия

*Тел +79052538063

Ключевые слова: ИБС, витамин D, рецептор витамина D

FokI and TakI vitamin D receptor gene polymorphisms and vitamin D insufficiency in coronary artery disease patients

Sergeeva E.G., Ionova Z.I., Gorbach A.V.*

First St. Petersburg state medical university named after acad. I.P. Pavlov

Lev Tolstoy str 6/8, St. Petersburg 197022, Russian Federation,

* Tel.: +79052538063

Key words: CAD, vitamin D, vitamin D receptor

Введение: Исследования последних лет показали, что витамин D играет ключевую роль не только в регуляции кальциево-фосфорного обмена, но оказывает плеiotропное влияние на функцию эндотелия и механизмы иммунного воспаления [1]. Рецепторы витамина D широко представлены в сосудистой стенке. В ряде исследований показана прогностическая роль дефицита витамина D при артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца [2, 3].

Цель исследования: Изучить ассоциацию дефицита витамина D и полиморфных вариантов гена рецептора витамина D (полиморфизмы FokI и TaqI) с особенностями клинического течения ишемической болезни сердца.

Материал и методы: проведено комплексное клинико-генетическое обследование 193 больных ИБС (171 мужчин и 22 женщин). Средний возраст больных $59,9 \pm 0,74$ года. Инфаркт миокарда в анамнезе был у 151 пациента. Контрольную группу составили 140 здоровых людей сопоставимого возраста. Идентификация полиморфизма FokI и TaqI гена рецептора витамина D проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов. Уровень $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием анализатора ImmunoChem-2100 и коммерческих реактивов ($25(\text{OH})\text{D}_3$ ids). Сравнение количественных параметров осуществлялось с использованием модуля ANOVA, использовали также критерий Фишера и оценку Odds-ratio.

Результаты: Частота аллеля F (полиморфизм FokI) была ниже, чем в контроле (0.55 и 0.59 соответственно, $p < 0.05$). Частота аллеля t (полиморфизм TaqI) у больных ИБС была выше, чем в контроле (0,38 и 0.32 соответственно, $p = 0.02$, OR=1.29 (1.0÷1.8)).

Распределение генотипов полиморфизма FokI гена VDR у 82 больных ИБС, у которых заболевание дебютировало в форме инфаркта миокарда было следующим: FF - 18%, OR=0,38(0,19÷0,75); Ff - 59%, OR =1,95(1,08÷3,51); ff - 23%, OR=1,14(0,56÷2,28). У 105 больных ИБС с дебютом заболевания в форме стенокардии распределение было следующим: FF - 37%, Ff- 42%, ff - 21%. Данное различие статистически значимо, $p = 0,01$.

Частота аллеля F в подгруппе с дебютом заболевания в форме инфаркта миокарда составила 0,48, аллеля f - 0,52. В подгруппе с дебютом заболевания в форме стенокардии частота аллеля F - 0,58, аллеля f - 0,42. Частота аллелей в данных подгруппах статистически значимо различалась ($p = 0,01$); OR=0,65(0,43÷0,98) для аллеля F, для аллеля f OR=1,52(1,01÷2,3). Однако носительство генотипов FF, Ff и ff не оказывало значимого влияния на возраст развития ИБС и возраст развития ИМ. Хотя частота в подгруппе больных ИБС с Q-ИМ генотипа FF была 21% ($n = 23$), а генотипов Ff + ff - 79% ($n = 86$). Частота в подгруппе с неQ-ИМ генотипа FF - 13 (36%), генотипов Ff+ff - 64% ($n = 23$), различие в распределении статистически значимо, $p = 0,035$. В подгруппе больных с развитием инфаркта миокарда с зубцом Q частота аллеля F - 0,47, аллеля f - 0,53. А в подгруппе с развитием не Q-ИМ частота аллеля F - 0,61, аллеля f - 0,39. В подгруппе больных с развитием ИБС до 55 лет частота аллеля T - 0,59, аллеля t - 0,41 (полиморфизм TaqI). В подгруппе больных ИБС с развитием заболевания старше 55 лет частота аллеля T - 0,66, аллеля t - 0,34. Частота аллелей T и t гена VDR в подгруппах больных ИБС с различным возрастом дебюта заболевания статистически значимо различалась, $p = 0.03$. У больных ИБС уровень $25(\text{OH})\text{D}_3$ в плазме крови был статистически достоверно ниже, чем у здоровых людей ($35,6 \pm 1,25$ нмоль/л и $48,96 \pm 3,19$ нмоль/л соответственно, $p = 0,000001$). В под-

группе с трехсосудистым поражением коронарных артерий уровень 25(OH)D₃ в плазме крови был ниже, чем в подгруппе с однососудистым поражением (31,14±2,04 нмоль/л и 43,07±3,34 нмоль/л, соответственно, p<0.01).

Заключение: Полиморфизм FokI гена рецептора витамина D ассоциирован с характером дебюта, а полиморфизм TaqI — с возрастом дебюта ишемической болезни сердца. Низкая обеспеченность витамином D ассоциирована с многососудистым поражением коронарных артерий.

Список литературы:

1. Lavie CJ, Lee JH, Milani RV. Vitamin D and cardiovascular disease: will it live up to its hype? *J Am Coll Cardiol.* 2011, 58: 1547–1556.
2. Martins D, Wolf M, Pan D, Zadshir A, Tareen N, Thadhani R, Felsenfeld A, Levine B, Mehrotra R, Norris K. Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med.* 2007, 167: 1159–1165.
3. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, Benjamin EJ, D'Agostino RB, Wolf M, Vasan RS. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation.* 2008, 117: 503–511.

**Полиморфизм A603G гена тканевого фактора
у больных ишемической болезнью сердца**

Сергеева Е.Г.¹, Костарева А.А.², Ионова Ж.И.^{1}*

¹ ПСПБГМУ им. акад. И.П. Павлова, Россия

² СЗФМИЦ имени В.А. Алмазова, Россия

*Тел. +7(921) 449 81 21, e-mail: zhanna@ncmed.me

Ключевые слова: тканевой фактор, полиморфизм A603G, ишемическая болезнь сердца

**A603G polymorphism of tissue factor gene in coronary artery
disease patients**

Sergeeva E.G.¹, Kostareva A.A.², Ionova Z.I.^{3}*

¹ The I.P. Pavlov First Medical University of St. Petersburg, Russian Federation

² V.A. Almazov Northwestern Federal Medical Research Center, Russian Federation

*Tel. +7(921) 449 81 21, e-mail: zhanna@ncmed.me

Key words: tissue factor, A603G polymorphism, coronary artery disease

Введение: Традиционные факторы риска имеют ограниченные возможности прогнозирования индивидуального риска развития ИБС и инфаркта миокарда. К наиболее значимым относят новые факторы риска, связанные с иммунным воспалением и гиперкоагуляцией, а также генетические факторы [1]. Тканевой фактор является начальным звеном коагуляции и имеет непо-

средственное отношение к тромбогенезу. Полиморфизм А603G гена тканевого фактора имеет прогностическое значение при ОКС [2], следовательно, его изучение с клинических позиций представляется крайне актуальным. Цель исследования: определить и сопоставить распределение генотипов генов тканевого фактора у больных ИБС и в общей популяции без клинических и ангиографических признаков ИБС, оценить связь различных генотипов с неблагоприятными формами течения заболевания и уровнем тканевого фактора плазмы крови.

Материалы и методы: Проведено клинико-генетическое обследование 258 больных ИБС в возрасте 30-80 лет и 198 человек из общей популяции без ИБС. Идентификация генетического полиморфизма А603G гена тканевого фактора произведена методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом. Исследование содержания тканевого фактора в плазме крови производилось иммуноферментным методом (ELISA)

Результаты: G603G генотип гена тканевого фактора статистически значимо чаще обнаруживался у больных ИБС, чем в контроле (36% и 19% соответственно, $P < 0,05$), как и аллель G (0,6 и 0,46 соответственно, $P = 0,00004$), в то время как генотип А603А чаще выявлялся в общей популяции, чем у больных ИБС (32% и 15% соответственно, $P < 0,05$), как аллель А (0,54 и 0,4 соответственно, $P = 0,00004$). Носительство генотипа А603А уменьшало риск развития ИБС на 54% ($OR = 0.464$, $CI: 0.29 \div 0.75$; $p < 0,05$). Носительство генотипа G603G ассоциировалось с увеличением риска возникновения ИБС в 2 раза ($OR = 2.018$, $CI: 1.28 \div 3.19$; $p < 0,05$). Анализ традиционных факторов риска, показателей липидного спектра крови не выявил существенных отличий у носителей различных генотипов. Носительство генотипа G603G ассоциируется с увеличением риска дебюта ИБС с инфаркта миокарда в 1,8 раз ($OR = 1.83$, $CI: 1.08 \div 3.11$; $p < 0,05$). Носительство аллеля G ассоциируется с увеличением риска дебюта ИБС с инфаркта миокарда в 1,5 раз ($OR = 1.56$, $CI: 1.08 \div 2.25$; $p < 0,05$). У носителей генотипа G603G уровень тканевого фактора плазмы крови был выше, чем у носителей генотипа А603G, и существенно выше, чем у носителей генотипа А603А ($45,85 \pm 0,15$ fmol/l; $39,02 \pm 0,19$ fmol/l; и $32,12 \pm 0,22$ fmol/l соответственно, $p < 0,05$).

Выводы: Носительство прогностически благоприятного генотипа А603А гена тканевого фактора ассоциировалось с наиболее низким содержанием тканевого фактора плазмы крови по сравнению с другими генотипами и уменьшало риск развития ИБС на 54%. Носительство прогностически неблагоприятного генотипа G603G связано с наиболее высоким уровнем тканевого фактора плазмы крови по сравнению с генотипами АА и АG и с увеличением риска возникновения ИБС в 2 раза, а также с дебютом ИБС с инфаркта миокарда.

Список литературы:

4. Mozaffarian D. Beyond established and novel risk factors. *Circulation* 2008, 117: 3031-3038.

5. Malarstig A et al. Genetic variations in the tissue factor gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, 25: 2667-2672.

**Фармакогенетика антиагрегантных препаратов:
от поиска полиморфизмов к анализу РНК**

Сироткина О.В.^{1,2}, Вавилова Т.В.¹

¹Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова,
Санкт-Петербург, Россия

²НИЦ «Курчатовский институт», Петербургский институт ядерной физики
им. Б.П. Константинова, Россия

**Pharmacogenetics of antiagregant drugs: from a search of polymorphisms
to analysis of RNA**

Sirotkina O.V.^{1,2}, Vavilova T.V.¹

¹V.A. Almazov Northwestern Federal Medical Research Center, Russian Federation

²National Research Centre "Kurchatov Institute" FSBI "St. Petersburg Nuclear
Physics Institute named after B.P. Konstantinov"
Gatchina, Leningrad Oblast 188300, Russian Federation

Тромбоциты представляют собой безъядерные клетки периферической крови, формирующиеся в костном мозге в процессе мегакариоцитопоэза, выступают основным компонентом системы свертывания крови, играют роль в процессах заживления ран, воспаления, ангиогенеза, метастазирования. Однако несмотря на большое количество исследований, посвященных изучению молекулярно-генетических механизмов активации тромбоцитов, в настоящее время имеются ограниченные сведения о вкладе определенных локусов, генов или генетических полиморфизмов в развитие патологии тромбоцитарного звена гемостаза, которые не могут объяснить всей вариабельности тромбоцитарной дисфункции и индивидуальный ответ на антиагрегантную терапию. В связи с этим стало активно развиваться направление исследований, касающееся анализа транскриптома и протеома тромбоцитов, в том числе анализ экспрессионного профиля тромбоцитарной РНК в норме и при различной патологии, в первую очередь сердечно-сосудистой – атеросклероз, острый коронарный синдром, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца, ишемический инсульт головного мозга.

Нами были выявлены как генетические полиморфизмы, определяющие гиперагрегацию тромбоцитов и плохой ответ на антиагрегантную терапию, в первую очередь Leu33Pro гена GP IIIa рецептора для фибриногена GP IIb/IIIa, так и изменение количества мРНК в тромбоцитах при активации. Значимые изменения мРНК, в том числе преобразование пре-мРНК в зрелую мРНК,

были показаны для генов, кодирующих ключевые тромбоцитарные рецепторы: GP IIIa, GP Iba, P2Y12. Количество пре-мРНК и мРНК исследуемых генов изменялось в зависимости от степени активации клеток и было меньше при ингибировании тромбоцитарной активации селективными препаратами. Данные, полученные в экспериментах *in vitro*, подтверждались наблюдениями у пациентов с сердечно-сосудистыми и цереброваскулярными заболеваниями, принимающих антиагрегантные препараты. Исследования последних лет показали также изменение экспрессионного профиля тромбоцитарной микроРНК в норме и при различной патологии. В частности, было показано увеличение количества микроРНК miR340 и miR624 у пациентов с ишемической болезнью сердца по сравнению со здоровыми донорами [1]. На фоне антиагрегантной терапии ацетилсалициловой кислотой в плазме крови уменьшался уровень тромбоцитарной микроРНК miR-223, miR-191, miR-126 и miR-150 [2], на фоне двойной антиагрегантной терапии ацетилсалициловая кислота + тиенопиридины увеличивался уровень микроРНК miR-126.

Таким образом, несмотря на то, что в результате многочисленных исследований показаны основные молекулярно-генетические факторы, определяющие функциональную активность тромбоцитов, исследования в этом направлении следует продолжать, в том числе в направлении анализа малых регуляторных тромбоцитарных РНК.

Список литературы:

1. Sondermeijer B.M. et al. PLoS ONE 2011, 6(10):e25946.
2. Willeit P. et al. Circ Res 2013, 112: 595-600.

Эффективность комбинированной терапии статинами и фенофибратом у больных сахарным диабетом 2 типа с различными генотипами S19W полиморфизма гена аполипопротеина А5

Скорюкова С.А.^{1}, Ким М.В.^{1,2}, Быстрова А.А.^{1,2}, Бабенко А.Ю.^{1,2},
Баранова Е.И.^{1,2}*

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

* Ленинский пр. 117/2, Санкт-Петербург 198207, Россия

Тел.: +7 9213580526, e-mail: skorsveta@rambler.ru

² Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр,
Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, дислипидемия, S19W полиморфизм гена Апо-А5; статины, фенофибрат

Effectiveness of combination therapy with statins and fenofibrate in type 2 diabetic patients with various genotypes of S19W apolipoprotein A5 gene polymorphism

Skoryukova S.A.^{1}, Kim M.V.^{1,2}, Bystrova A.A.^{1,2}, Babenko A.Y.^{1,2}, Baranova E.I.^{1,2}*

¹First Pavlov State Medical University of St. Petersburg

* Leninskiy av. 117/2, St. Petersburg 198207, Russian Federation

²Federal North-West Medical Research Centre

Tel: +7 9213580526, e-mail: skorsveta@rambler.ru

Key words: diabetes mellitus, dyslipidemia, S19W apolipoprotein A5 gene polymorphism, statine, fenofibrate

Введение: Полиморфные варианты генов, регулирующих метаболизм апобелков, могут рассматриваться как генетические маркеры предрасположенности к формированию атерогенных изменений липидного спектра крови и развитию атеросклероза [1, 2]. Наиболее эффективными препаратами для лечения дислипидемии у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) являются статины и фибраты [3, 4]. Полиморфизм S19W гена аполипопротеина А5 (*Apo-A5*), ассоциированный с гипертриглицеридемией, может влиять на эффективность ответа на терапию статинами и фибратами у больных СД2.

Цель исследования: Оценить показатели липидного спектра крови и эффективность ответа на комбинированную терапию статинами и фенофибратом у больных СД2 с различными генотипами S19W полиморфизма гена *Apo-A5*.

Материалы и методы: Обследованы 135 больных СД, включая 114 женщин и 21 мужчину (средний возраст $59,34 \pm 0,3$ лет), не получающих гиполипидемическую терапию на момент исследования и находящихся преимущественно на терапии бигуанидами, с уровнем гликированного гемоглобина менее 8,0 % ($7,2 \pm 0,1\%$). Оценивались исходные данные липидограммы, затем - через 3 месяца лечения статинами, еще через 3 месяца комбинированной терапии статинами и фенофибратом. Полиморфизм S19W гена *Apo-A5* определялся методом рестрикционного анализа в лаборатории высокотехнологичных методов молекулярного анализа ДНК отдела молекулярно-генетических технологий научно-исследовательского центра ПСПбГМУ им. И.П. Павлова МЗ России под руководством заведующей лаборатории доктора биол. наук С.Н. Пчелиной.

Результаты: Генотип SS выявлен у 117 пациентов (86,7 %), SW- у 18 больных (13,3 %). Сравнительный анализ исходных параметров

липидограммы показал, что уровень триглицеридов (ТГ) у носителей генотипа SW был ниже по сравнению с уровнем ТГ у носителей генотипа SS ($1,85 \pm 0,177$ и $2,65 \pm 0,141$, соответственно, $p=0,015$). Также уровень холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП) у носителей генотипа SW был ниже, чем у носителей SS- ($0,86 \pm 0,082$ и $1,20 \pm 0,064$, $p=0,032$). Уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) в группе SW был статистически значимо выше, чем у носителей генотипа SS ($1,76 \pm 0,166$ и $1,29 \pm 0,047$, $p=0,006$). Повторная оценка липидограммы проведена через 3 месяца терапии статинами. В обеих группах отмечалась положительная динамика липидных показателей, однако значимое снижение уровней ТГ и ХС-ЛПОНП произошло только у носителей SS: $0,672 \pm 0,085$ против $0,209 \pm 0,109$ у носителей генотипа SW ($p=0,015$), и, соответственно, $0,28 \pm 0,037$ у носителей генотипа SS против $0,08 \pm 0,053$ у носителей генотипа SW ($p=0,025$). Далее, 46 пациентам к терапии был добавлен фенофибрат в дозе 145 мг/сут. После 3-х месяцев комбинированной терапии положительная динамика липидограммы наблюдалась у носителей обеих групп, имелась тенденция к более выраженному снижению уровней общего холестерина: $4,51 \pm 0,174$ (исходный уровень холестерина $6,85 \pm 0,398$) у носителей SW; $5,12 \pm 0,166$ ($6,84 \pm 0,124$) у носителей SS; ТГ: $1,31 \pm 0,148$ ($1,85 \pm 0,177$) у носителей SW; $1,67 \pm 0,155$ ($2,65 \pm 0,141$) у носителей SS; ХС-ЛПОНП: $0,59 \pm 0,66$ ($0,86 \pm 0,082$) у носителей SW, $0,78 \pm 0,070$ ($1,20 \pm 0,064$) у носителей SS. Также у носителей генотипа SW произошло меньшее снижение ХС-ЛПВП: $1,42 \pm 0,133$ ($1,76 \pm 0,166$) против $1,27 \pm 0,073$ ($1,29 \pm 0,047$) у носителей генотипа SS.

Заключение: У больных носителей генотипа SW полиморфизма S19W гена *Apo-A5*

имеется тенденция к более выраженному снижению атерогенных фракций липидов при комбинированной терапии статинами и фибратами.

Список литературы:

1. Zhou J, Xu L, Huang RS. Apolipoprotein A5 gene variants and the risk of coronary heart disease: a case control study and metaanalysis. *Mol Med Rep* 2013, 8:1175-1182.
2. Furuya T.K., Chen E.S., Ota V.K. Association of APOA1 and APOA5 polymorphisms and haplotypes with lipid parameters in a Brazilian elderly cohort. *Genet Mol Res* 2013, 28;12,3:3495-3499.
3. McKeage K, Keating GM. Fenofibrate: a review of its use in dyslipidaemia. *Drugs* 2011, 1;71,14:1917-1946.
4. Ghani RA, Bin Y., Wahab NA. The influence of fenofibrate on lipid profile, endothelial dysfunction, and inflammatory markers in type 2 diabetes

mellitus patients with typical and mixed dyslipidemia. *J Clin Lipidol* 2013, 7: 446-453.

Экспрессии нуклеарного фактора транскрипции κB и трансформирующего фактора роста β1 в почках крыс с односторонней обструкцией мочеточника, получавших соевую диету

Смирнов А.В.¹, Иванова Г.Т.², Береснева О.Н.¹, Парастаева М.М.¹, Кучер А.Г.¹, Зарайский М.И.¹, Сиповский В.Г.¹, Карунная А.В.¹, Каюков И.Г.^{1}*

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

* Л. Толстого ул.17, Санкт-Петербург 197022, Российская Федерация
Тел.: +7 9818153949, e-mail: kvaka55@mail.ru

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Российская Федерация
Ключевые слова: нуклеарный фактор транскрипции κB, трансформирующий фактор роста β1, почки, тубулоинтерстициальный фиброз

Expression of nuclear transcription factor κB and transforming growth factor β1 in kidney tissue in rats with unilateral ureteral obstruction, received soy protein diets

Smirnov A.V.¹, Ivanova G.T.², Beresneva O.N.¹, Parastaeva M.M.¹, Kucher A.G.¹, Zaraysky M.I.¹, Sipovsky V.G., Karunnaya A.V.¹, Kayukov I.G.^{1}*

¹First Pavlov St.-Petersburg State Medical University

* L. Tolstoy str. 17, St. Petersburg 197022, Russian Federation
Phone: +7 9818153949, e-mail: kvaka55@mail.ru

²Institute of Physiology named after I.P. Pavlov Russian Academy of Sciences,

St. Petersburg, Russian Federation

Key words: nuclear transcription factor κB, transforming growth factor β1, kidney, tubulointerstitial fibrosis

Введение: Тубулоинтерстициальный фиброз (ТФ) играет ведущую роль в прогрессировании хронических нефропатий (ХН)[1]. При этом важное значение имеет повышение активности TGF-β/Smad и NFκB сигнальных путей, стимулирующих развитие фибротических и воспалительных изменений соответственно [1–3]. Цель работы - изучить влияние диеты с различным содержанием СБ на экспрессию гена NFκB и белка TGF-β в почечной ткани у крыс с односторонней обструкцией мочеточника (ООМ), индуцированной межлигатурной перерезкой мочеточника.

Материал и методы: В исследовании использовали самцов крыс Вистар. В первой группе (n=6), крысы получали стандартную диету (20% живот-

ного белка). Во второй группе (n=7) сразу после операции животные получили диету с высоким содержанием соевого белка (50% - соевый белок Supro 760, Solae Europe SA, Швейцария, 50% - перловая крупа). В третьей группе (n=8) крысы получали рацион с низким содержанием белка и добавлением СБ (10% - соевый изолят, 90% - перловая крупа). Продолжительность наблюдения во всех случаях была 14 дней после ООМ. Исследование экспрессии белка TGF- β выполняли иммуногистохимически с использованием кроличьих поликлональных антител к TGF- β (Санта - Крус, США) и системы обнаружения полимера (ДАКО, Дания). Анализ воспалительно/склеротического процесса (ВСП, %) и продукции TGF- β (%) были оценены в 20-и неперекрывающихся полях зрения в кортикальном слое, под увеличением $\times 40$ с использованием 100 точек сетки, за исключением счета клубочков и артерий. Оценку экспрессии мРНК гена NF κ B проводили с использованием РТ-ПЦР. Ген GAPDH был использован в качестве референц-гена. Относительные уровни экспрессии (ОУЭ) между группами были рассчитаны с использованием протокола 2-дельтаСt. ОУЭ в почках с ООМ сравнивали между контралатеральными органами.

Результаты: Распределение накопления TGF- β в почках крыс с ООМ ($76,6 \pm 4,09$; среднее \pm SE) в клетках канальцев первой группы было значительно выше, чем в других (второй - $65,3 \pm 2,22$, $p < 0,05$, третьей - $43,4 \pm 2,05$, $p < 0,005$). Иммуногистохимическая активность TGF- β во второй группе была выше по сравнению с третьей ($p < 0,001$). Выраженность ВСП в первой и второй группах крыс достоверно не различались ($34,7 \pm 3,56$, против $28,4 \pm 2,05$, соответственно, $p = \text{NS}$), и была значительно выше по сравнению с третьей группой ($20,3 \pm 0,84$, $p = 0,002$ и $p < 0,005$; соответственно). Экспрессия гена NF κ B в первой группе была самой высокой и превышала таковую в контралатеральных органах в 1,5 раза. Не были выявлены значимые различия экспрессии гена NF κ B между второй и третьей группами в экспериментальных и контралатеральных почках.

Выводы: Диеты, дополненные СБ, уменьшают тяжесть воспалительных и склеротических изменений в почечной паренхиме крыс с ООМ. Такой эффект СБ, возможно, реализуется через его вмешательство в TGF β 1/Smad и, частично, в NF κ B сигнальные пути. В то же время низкобелковые диеты, дополненные СБ имеют более выраженный нефропротективный эффект, чем рационы с высоким содержанием соевого протеина.

Список литературы:

1. Meng XM, Huang XR, Xiao J, Chen HY. 2012. Diverse roles of TGF- β receptor II in renal fibrosis and inflammation in vivo and in vitro. *J Pathol*, 227:175-188.
2. Lan HY. 2011. Diverse roles of TGF- β /Smads in renal fibrosis and inflammation. *Int J Biol Sci*, 7: 1056-1067.
3. Liu Y. 2006. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney Int*, 69: 213-217.

Биологические особенности мезенхимных стромальных клеток, полученных из пупочного канатика человека: оценка перспективности их применения в регенеративной медицине

Смолянинов А.Б.^{1,2}, Айзенштадт А.А.^{1,2*}, Багаева В.В.¹, Золина Т.Л.¹, Александрова Л.В.¹, Енукашвили Н.И.^{1,3}

¹ Покровский банк стволовых клеток

Большой пр. В.О. 85, Санкт-Петербург 199026, Россия

*Тел.: +79217741547; aizendt@gmail.com

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, культивирование, пупочный канатик

Biological characteristics of human umbilical cord mesenchymal stromal cells: assessment of clinical regenerative application

Smolianinov A.B.^{1,2}, Aizenstadt A.A.^{1,2*}, Zolina T.L.¹, Alexandrova L.V.¹, Enukashvili N.I.^{1,3}

¹ Stem cell bank Pokrovsky, Ltd

¹ Bolshy Prospekt., V. O, 85, St. Petersburg 199166, Russian Federation

Tel.: +79217741547; aizendt@gmail.com

² Mechnikov's Northwestern State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation ³ Institute of Cytology, St. Petersburg, Russian Federation

Keywords: mesenchymal stem cells, cell expansion, umbilical cord

Введение: Мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются предшественниками клеток многих тканей человека и могут быть успешно применены при лечении и профилактики различных заболеваний [1]. Исторически сложилось, что основным источником материала для исследований МСК длительное время служил костный мозг. На данный момент все больше внимания исследователей уделяется МСК, полученным из пупочного канатика. Однако эти клетки описаны менее полно, чем МСК костного мозга или жировой ткани. Целью исследования являлось сравнение биологических свойств полученных клеток с МСК, выделенных из костного мозга и жировой ткани.

Материал и методы: Получены и проанализированы 10 культур МСК костного мозга, 7 культур МСК жировой ткани и 78 культур МСК пупочного канатика согласно опубликованным ранее методикам [2]. Поверхностные маркеры МСК выявляли с помощью меченных флуорохромами антител против CD34, CD45, CD90, CD105, CD73, CD13, CD10, CD44, CD14, CD117 на проточном цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter, США). Иммуносупрессивное действие МСК определяли по их влиянию на пролиферацию Т- и В-лимфоцитов (окраска CFSE) в составе моноклеарной фракции периферической крови здоровых доноров, в присутствии ФГА (10 нг/мл) или ЛПС (10 нг/мл), соответственно.

Результаты: Показано, что в среднем эффективность получения МСК из ПК после 1 пассажа составляет 3,1 млн (с минимумом 0,7 и максимумом 5,4) на каждые 10 см длины ПК. Количество МСК снижалось при увеличении временного интервала между родами и началом обработки материала, но не зависело от срока гестации, возраста матери и веса новорожденного.

Пролиферативная активность МСК пупочного канатика была выше, чем МСК из других источников. Время удвоения популяции МСК пупочного канатика и жировой ткани было схожим при культивировании до 6 пассажа (не превышало $57,5 \pm 12$ ч и 81 ± 22 ч, соответственно), и меньше ($P < 0,05$) на всех пассажах по сравнению с МСК, полученными из костного мозга. Пролиферативная активность МСК пупочного канатика сохранялась в течение максимального количества пассажей (до 10 пассажа) по сравнению с другими культурами МСК.

МСК, полученные из различных источников, имеют в целом сходный иммунофенотип, но культуры МСК пупочного канатика на ранних пассажах (до 3 пас) были неоднородны по экспрессии CD10 и CD13. Все МСК (более 99%) экспрессировали антиген CD90. Однако уровень экспрессии этого белка различался в культурах МСК, полученных из разных источников: средняя интенсивность флуоресценции в культурах МСК, полученных из пупочного канатика, составляла $123,5 \pm 51$ отн.ед, костного мозга – $48,3 \pm 26$ отн.ед, жировой ткани – 109 ± 48 отн.ед.

При анализе иммуносупрессивных свойств показано, что МСК из всех источников способны подавлять митоген-индуцированную пролиферацию Т-лимфоцитов при соотношении МСК и клеток моноклеарной фракции равном 1:1 и 1:10. При соотношении 1:100, МСК, полученные из костного мозга, снижали долю поделившихся Т лимфоцитов на $14 \pm 5,1$ %, в то время как МСК из жировой ткани и пупочного канатика на 30 ± 4 % и $27 \pm 3,7$ %, соответственно. Также все МСК с одинаковой эффективностью подавляли пролиферацию В-лимфоцитов при равном соотношении с клетками моноклеарной фракции. При уменьшении доли МСК (соотношение с клетками МНК 1:10) достоверное снижение пролиферации В-лимфоцитов наблюдали только при сокультивировании с МСК жировой ткани и пупочного канатика.

Заключение: Таким образом, из всех трех исследованных источников могут быть получены МСК, сходные по морфологическим признакам и иммунофенотипу. МСК пупочного канатика обладают более высоким пролиферативным потенциалом. Антипролиферативное действие МСК на Т- и В-лимфоциты носит дозозависимый характер и при снижении концентрации МСК является более выраженным у МСК пупочного канатика и жировой ткани, чем у МСК костного мозга. Представленные данные свидетельствуют о перспективности использования МСК пупочного канатика как более доступного и, предположительно, более эффективного аналога МСК костного мозга.

Список литературы:

1. De Miguel MP, Fuentes-Julián S, Blázquez-Martínez A. et al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells: advances and applications. Curr Mol Med 2012, 12: 574-591.
2. Айзенштадт А.А., Иванова Н.А., Багаева В.В., Смолянинов А.Б., Самойлович М.П., Климович В.Б. Внутриклеточные иммуноглобулины в линиях Namalva и U266 при сокультивировании с мезенхимными клетками. Цитология 2014, 56: 117-121.

Направленная дифференцировка МСК в хондроциты.**Подготовка биоимпланта для трансплантации**

Смолянинов А.Б.^{1,2}, Багаева В.В.^{1}, Айзенштадт А.А.^{1,2}, Александрова Л.В.¹, Золина Т.Л.¹*

¹ Покровский банк стволовых клеток

Наб. Макарова 18-18, Санкт-Петербург 199053, Россия

Тел.: +79213636944, e-mail: bagvar@mail.ru

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.

Мечникова,

Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, культивирование, жировая ткань, хондроциты

Chondrogenic differentiation of MSC. Bioimplant preparation for transplantation

Smolianinov A.B.^{1,2}, Bagaeva V.V.¹, Aisenstadt A.A.^{1,2}, Alexandrova L.V.¹, Zolina T.L.¹

¹ Stem cell bank Pokrovsky, Ltd

Nab. Makarova 18/18, St. Petersburg 199053, Russian Federation

Tel.: +79213636944; bagvar@mail.ru

² Mechnikov's Northwestern State Medical University St. Petersburg, Russian Federation

Keywords: mesenchymal stem cells, cell expansion, adipose tissue, chondrocytes

Введение: Трансплантация аутологичных хондроцитов для восстановления локальных дефектов суставного хряща была описана Бритбергом в 1994 году и с тех пор широко применяется в мировой практике. [1]. Однако этот метод имеет ряд недостатков, а именно при первичном заборе хрящевой ткани происходит дополнительная травматизация суставной поверхности. Кроме того, выделенные таким образом хондроциты обладают низкой пролиферативной активностью, что не позволяет использовать данный метод при обширных повреждениях сустава. Одним из возможных решений данной

проблемы является применение культур клеток, способных к хондрогенезу, а именно мезенхимальных стромальных клеток (МСК).

Материал и методы: Получены и проанализированы по 10 культур МСК костного мозга, жировой ткани и пупочного канатика согласно опубликованным ранее методикам [2]. МСК ЖТ были получены от доноров в возрастном диапазоне 30 - 92 лет. Все клетки проходили по 5 пассажей и были охарактеризованы по иммунофенотипическим маркерам. Поверхностные маркеры МСК выявляли с помощью меченных флуорохромами антител против CD34, CD45, CD90, CD105, CD73, CD13, CD10, CD44, CD14, CD117 на проточном цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter, США). Дифференцировка оценивалась с помощью иммунофлуоресцентной окраски на коллаген II типа.

Результаты и обсуждения: В ходе работы были выделены и охарактеризованы МСК костного мозга, пупочного канатика и жировой ткани. Было показано, что они обладают схожим иммунофенотипом и способностью к дифференцировке в хондрогенном направлении, однако пролиферативная активность выше у МСК ЖТ и ПК, по сравнению с МСК костного мозга. Кроме того, жировая ткань является наиболее легкодоступной, поэтому было принято решение рассматривать ее в качестве источника МСК для возможного клинического применения. Нами было замечено, что способность к адгезии и пролиферации более выражена у МСК ЖТ, полученных от доноров более молодого возраста, хотя по мере старения организма способность этих клеток к дифференцировке не утрачивается. Проведенное кариотипирование клеточных культур на 4-5 пассажах не выявило хромосомных аномалий и геномных мутаций в исследованных образцах, что свидетельствует о хромосомной стабильности на ранних пассажах культивирования.

Для восстановления полнослойных дефектов суставного хряща необходима трехмерная матрица-носитель, обладающая поровой структурой для пространственного расположения хондроцитов. В ходе реакции полимеризации фибриногена под действием тромбина и фактора свертываемости XIII образуется плотный сгусток, образованный полимерными нитями фибрина. В ходе экспериментов было показано, что в результате проведения реакции полимеризации в растворе, содержащем фибриноген и хондроциты, получается достаточно плотный сгусток, равномерно содержащий клетки. Дальнейшее культивирование полученного таким образом биоимпланта показало сохранение высокого уровня жизнеспособности клеток в составе фибринового сгустка ($92\% \pm 5$ на 10 сутки).

Выводы: Таким образом, легкодоступность, высокий уровень пролиферации, возможность направленной хондрогенной дифференцировки делает МСК ЖТ хорошим кандидатом для создания биоимплантов на основе фибриновой матрицы для замещения дефектов суставной поверхности.

Список литературы:

1. Stromps J-Ph., Paul N.E., Rath B., Nourbakhsh M., Bernhagen J., Pallua N. Chondrogenic Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells: A

New Path in Articular Cartilage Defect Management? Biomed Res Int. 2014; 2014: 740926.

2. Айзенштадт А.А., Иванова Н.А., Багаева В.В., Смолянинов А.Б., Самойлович М.П., Климович В.Б. Внутриклеточные иммуноглобулины в линиях Namalva и U266 при сокультивировании с мезенхимными клетками. Цитология 2014, 56: 117-121.

Исследования биомолекулярных механизмов компенсаторной реиннервации у больных спинальной мышечной атрофией 2 типа

Соколова М.Г.¹, Пенниайнен В.А.²

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова

Кирочная ул. 41, Санкт-Петербург 191015, Россия
e-mail: sokolova.m08@mail.ru

² Институт физиологии им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия
Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия (СМА) 2 типа, сыворотка крови, реиннервация, сенсорные ганглии, органотипическая культура, фактор роста нерва (ФРН), нейрит-ингибирующий эффект

Studies of biomolecular mechanisms of compensatory reinnervation in patients with spinal muscular atrophy type 2

Sokolova M.G.¹, Penniaynen V.A.²

¹ Mechnikov North-West State Medical University
Kirochnaya str.41, St. Petersburg 191015, Russian Federation
e-mail: sokolova.m08@mail.ru

² Pavlov Institute of Physiology, Russian Federation

Keywords: spinal muscle atrophy (SMA) of type 2, sensory ganglia, organotypic tissue culture, blood serum, NGF (nerve growth factor), reinnervation, neurite-inhibitory effect

Введение: Компенсаторная реиннервация относится к числу физиологических, универсальных механизмов, который запускается на фоне процесса денервации мышечных волокон. СМА 2 типа — наследственное заболевание, характеризующееся дегенеративным изменением в альфа-мотонейронах передних рогов спинного мозга и проявляется слабостью проксимальной мускулатуры, парезами, дыхательной недостаточностью и ранней смертностью. Изучение механизмов компенсаторной реиннервации и факторов, которые оказывают влияние на течение этого процесса, возможно, откроют для перед клиницистами новые перспективные терапевтические направления. Цель исследования: Изучение реиннервационного процесса у больных СМА 2 типа с помощью комплексного клинико-нейрофизиологического и лабораторного

метода с применением экспериментального исследования в органотипической культуре ткани.

Материалы и методы: Проведено клинико-неврологическое, нейрофизиологическое (ЭНМГ) и лабораторное обследование 10 больных СМА 2 типа. В сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием коммерческих иммуноферментных наборов RayBiotech, Inc. определяли концентрации производного фактора роста нервов (ФРН). Пороговые величины определения ФРН-14 пг/мл. Влияние действия сыворотки крови больных СМА 2 типа на рост нейритов сенсорных ганглиев оценивали с помощью метода органотипической культуры ткани. Исследованы 600 эксплантатов сенсорных ганглиев 10-12-дневных куриных эмбрионов, культивируемых в CO₂-инкубаторе (Sanyo) в течение 3 суток на подложках из коллагена в чашках Петри при 36,5 °С и 5% CO₂. Контрольные эксплантаты культивировали в условиях питательной среды стандартного содержания. В экспериментальных чашках в культуральную среду добавляли сыворотку крови больных СМА 2 типа. Для визуализации объектов использовали микроскоп «AxioStar Plus» («Carl Zeiss», Германия). Полученные изображения анализировали с помощью программы ImageJ. Для количественной оценки роста эксплантатов применяли морфометрический метод. Индекс площади (ИП) рассчитывали как отношение площади эксплантата к площади центральной зоны. Контрольное значение ИП принимали за 100%. Контрольную группу составили 30 здоровых человек и 300 эксплантатов сенсорных ганглиев 10-12-дневных куриных эмбрионов. Статистический анализ проводили с помощью программы STATISTICA 6.0 с вычислением t-критерия Стьюдента и t-критерия Манна-Уитни.

Результаты: По данным ЭНМГ-исследования у больных СМА 2 типа выявлено, что процесс реиннервации выражен слабо. Концентрация ФРН в сыворотке больных СМА 2 типа значительно выше, чем в контрольной группе. Впервые исследовано влияние сыворотки крови больных СМА 2 типа на рост нейритов сенсорных ганглиев 10-12 дневных куриных эмбрионов с помощью метода органотипической культуры ткани. Сыворотка крови 5 больных СМА 2 типа была исследована в широком диапазоне разведений (1:100–1:2). В разведениях 1:2, 1:10, 1:50 сыворотка больных полностью блокировала рост нейритов сенсорных ганглиев. При добавлении в культуральную среду сыворотки крови в разведении 1:70 наблюдали достоверное нейритингибирующее действие. ИП исследуемых эксплантатов был ниже контрольных значений в среднем на 25%. Статистический анализ выявил сильную

корреляцию (Spearman $R=-0,90$, $p<0,001$) между фактом ингибирования роста

нейритов сенсорных ганглиев куриных эмбрионов и концентрацией ФРН в сыворотке больных СМА 2 типа.

Выводы: Выявлено, что компенсаторные механизмы у больных СМА 2 типа, направленные на активацию аксональной реиннервации, работают недостаточно эффективно. Впервые получены данные о нейрит-ингибирующем действии сыворотки крови пациентов СМА 2 типа на рост нейритов сенсорных ганглиев, по-видимому, это связано с высокой концентрацией ФРН в сыворотке крови этих больных. Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что одним из биомолекулярных факторов, препятствующих или затрудняющих компенсаторную реиннервацию, является повышенная концентрация ФРН в крови больных СМА 2 типа.

Асимметричный диметиаларгинин и высокочувствительный С-реактивный белок у пациентов с ишемическими инсультами

Соловьева Л. Н.^{1}, Шмонин А.А.^{1,2}*

¹СПбГМУ имени академика И.П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации

* Тел.: +7 9110894035, e-mail: milastukova@gmail.com

² Северо-Западный Федеральный Медицинский Исследовательский Центр, Россия

Ключевые слова: атеросклероз, биомаркеры, стенозы сонных артерий, ишемический инсульт, ТИА

Asymmetric dimethylarginine and high-sensitivity C-reactive protein in patients with ischemic stroke

Soloveva L.N.¹, Shmonin A.A.^{1,2}

¹ First Saint-Petersburg Pavlov State Medical University, Russian Federation

*Phone +7 9110894035, e-mail: milastukova@gmail.com

² Northwestern Federal Medical Research Center, Russian Federation

Key words: atherosclerosis, biomarkers, carotid artery stenosis, ischemic stroke, TIA

Введение: Лабораторные биомаркеры атеросклероза могут быть ценным инструментом в диагностике и ведении больных с цереброваскулярной патологией, т.к. могут влиять на определение тактики лечения пациентов со стенозами внутренних сонных артерий (ВСА) [1-7]. Однако в настоящее время нет доказанных лабораторных критериев значимого атеросклеротического поражения ВСА, а в алгоритм диагностики инсульта включены только холестерин и липидные факторы [8], которые не всегда являются достаточно надежным прогностическими факторами риска развития инсульта [1]. **Цель исследования:** изучить концентрацию биомаркеров атеросклероза у пациентов в остром периоде ишемического атеротромботического инсульта.

Методы и материалы: В исследование включены 3 группы пациентов в возрасте 50-80 лет: 1-ая группа – 30 пациентов с 50-90% атеросклеротическими стенозами ВСА в остром периоде атеротромботического инсульта или транзиторной ишемической атаки (ТИА), 2-ая группа – 51 пациент с 50-90% атеросклеротическими стенозами ВСА, не переносившие сосудистых событий течение 30 дней до включения в исследование, и группа из 16 здоровых добровольцев без атеросклеротического поражения ВСА. Всем пациентам производилось определение сывороточного уровня биомаркеров атеросклероза (липопротеин-ассоциированной фосфолипазы А2 (ЛПА ФЛ А2), плазменного белка А, ассоциированного с беременностью (РАРР), липопротеина (а) (Лп(а)), асимметричного диметиларгинина (АДМА), С-реактивного белка, определенного высокочувствительным методом (вчСРБ) и липидного спектра крови) методом иммуноферментного анализа, ультразвуковое дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий (БЦА), проводился сбор анамнеза, оценка неврологического статуса. Критериями невключения являлись факторы риска не-атеротромботического инсульта. Для статистической обработки данных использовались тесты Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса.

Результаты: Сывороточный уровень вч СРБ (мг/л) и АДМА (мкмоль/л) в группе пациентов в острейшем периоде ишемического инсульта был значительно выше ($p < 0.05$), чем во 2-ой группе и группе здоровых добровольцев. При сравнении между тремя группами статистически значимые различия в сывороточной концентрации РАРР-А, ЛПА ФЛ А2, липопротеина (а) выявлены не были.

Заключение: Сывороточные уровни АДМА и вч СРБ значительно повышаются в остром периоде атеротромботического инсульта. Исследования АДМА и вчСРБ могут быть предложены для скринингового исследования у пациентов с гемодинамически значимыми стенозами ВСА для улучшения качества диагностики причин инсульта.

Список литературы:

4. Moussa ID, Rundek T, Mohr JP Asymptomatic Carotid Artery Stenosis: A Primer on Risk Stratification and Management. Informa UK Ltd. 2007; 141-148.
5. Elkind MSV, Tai W, Coates K, Paik MC, Sacco RL. High-Sensitivity C-Reactive Protein, Lipoprotein-Associated Phospholipase A2, and Outcome After Ischemic Stroke. Arch Intern Med. 2006; 166(19): 2073-2079.
6. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-Reactive Protein and Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in the Prediction of First Cardiovascular Events. N Engl J Med. 2002; 347(20) : 1557-1565.
7. Smolders B, Lemmens R, Thijs V. Lipoprotein (a) and Stroke A Meta-Analysis of Observational Studies. Stroke. 2007; 38(6): 1959-1966.

8. Fialová L, Pilecková N, Bauer J, Soukupová J, Kalousová M, Malbohan I et. al. Pregnancy-associated plasma protein-A in patients with cerebrovascular diseases-a pilot study. Prague Med Rep. 2006; 107(1): 37-45.
9. Chen S, Li N, Deb-Chatterji M, Dong Q, Kielstein JT, Weissenborn K et al. Asymmetric Dimethyarginine as Marker and Mediator in Ischemic Stroke. Review. Int. J. Mol. Sci. 2012; 13(12): 15983-16004.
10. Shintani S, Kikuchi S, Hamaguchi H, Shiigai T. High serum lipoprotein(a) levels are an independent risk factor for cerebral infarction. Stroke. 1993; 24 (7): 965-969.
11. AHA/ASA (2013). Available at <https://www.aan.com/Guidelines/Home/GetGuidelineContent/581>.

Ассоциация генетических полиморфизмов с клиническими проявлениями стоматологической патологии у больных с дисплазией соединительной ткани

*Статовская Е.Е. *, Кадурина Т.И.*

Северо-Западный государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова

Кирочная ул., д. 41, Санкт-Петербург 191015, Россия

*Тел. +7 812 303-51-12, e-mail: elenastat22@mail.ru

Ключевые слова: генетический полиморфизм, дисплазия соединительной ткани, стоматологическое здоровье

Association of genetic polymorphisms with clinical manifestation of dental pathology in patients with connective tissue dysplasia

Statovskaia E.E, Kadurina T.I.*

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

Kirochnaya str. 41, St. Petersburg 191015, Russian Federation

*Тел. +7 812 303-51-12, e-mail: elenastat22@mail.ru

Key words: genetic polymorphisms, connective tissue dysplasia, dental health

Цель исследования: изучить связь генетических полиморфизмов с анамнестическими, клинико-инструментальными данными стоматологических пациентов с дисплазией соединительной ткани (ДСТ).

Материалы и методы исследования: Обследованы 3 группы стоматологических пациентов с ДСТ легкой и средней степеней тяжести (N=106): с марфаноидным (n=24), элерсоподобным (n=42) и неклассифицируемым (n=40) фенотипами. У взрослых пациентов диагностика ДСТ осуществлялась с учетом Российских национальных рекомендаций «Наследственные нарушения соединительной ткани» (М.,

2012), а у пациентов 16-17 лет на основании Российских рекомендаций «Наследственные и мультифакторные нарушения соединительной ткани у детей» (М., 2014). Исследованы полиморфизмы генов *NOS3*, *PAI-1*, *IL1b*, *TNFA*, *PPARG*, *PGC1A*, семейства *GST* (*GSTM1*, *GSTT1*), *MMP1*.

Результаты исследований: Выявлены статистически значимые различия между группами пациентов по распределению генотипов *GSTT1* ($\pi^2=9,448$; $df=3$; $p=0,024$). По распределению остальных генотипов исследуемых генов различия оказались статистически не значимыми. Пациенты с различными генотипами *NOS3* отличались различным характером нарушений открывания рта, сопровождающих височно-нижнечелюстные расстройства ($\pi^2=9,925$; $df=4$; $p=0,042$); фенотипом десны преддверья рта переднего участка нижней челюсти ($\pi^2=10,52$; $df=4$; $p=0,033$), а также частотой выявления анамнестических и клинико-инструментальных признаков ДСТ: ПМК ($\pi^2=8,34$; $p=0,016$), повышенная трабекулярность ($\pi^2=8,387$ $p=0,015$), эндокринные нарушения ($\pi^2=14,33$, $p=0,007$), дорсалгии поясничного отдела ($\pi^2=8,268$, $p=0,016$) и артралгии нижних конечностей ($\pi^2=9,786$ $p=0,044$). Пациенты с различными генотипами гена *PAI-1* отличались: принадлежностью к различным генотипам гена *NOS3* ($\pi^2=10,35$; $df=4$; $p=0,035$), наличием различной степени болезненности при пальпации жевательных мышц ($\pi^2=8,567$; $df=2$; $p=0,014$), фенотипом десны ($\pi^2=9,882$; $df=4$; $p=0,043$), распространённостью заболеваний пародонта ($\pi^2=12,89$; $df=6$; $p=0,045$). Выявлены различия между группами пациентов с ДСТ по гену *GSTT1* ($\pi^2=9,448$; $df=3$; $p=0,024$). У большинства пациентов с ДСТ (86 чел.; 81,1%) установлен нулевой генотип, а у остальных (20 чел., 18,9%) - *del/del* гена *GSTT1*. Пациенты с нулевым и *del/del* генотипами гена *GSTM1* различались по цели посещений стоматолога ($\pi=13,24$; $df=6$; $p=0,040$). Больные с различными генотипами по гену *IL1B* отличались: по цели посещения стоматолога ($\pi^2=21,70$; $df=12$; $p=0,042$) и по фенотипу десны ($\pi^2=10,17$; $df=4$; $p=0,038$). Пациенты с различными вариантами генотипа гена *TNFA* ($\pi^2=34,22$; $df=18$; $p=0,013$) имели отличия по характеру предъявляемых жалоб, распространённости заболеваний пародонта ($\pi^2=13,43$; $df=6$; $p=0,037$), частоте встречаемости высокого неба ($\pi^2=11,99$; $df=4$; $p=0,018$), гиподонтии, включая адентию третьих моляров ($\pi^2=15,92$; $df=8$; $p=0,044$), по принадлежности к различным генотипам гена *PPARG* ($\pi^2=55,64$; $df=4$; $p=0,001$). У 17 чел. выявлена ассоциация между генотипами гена *MMP1* и склонностью к простудным и аллергическим ($\pi^2=15,51$; $df=6$; $p=0,017$), а у 36 - к сердечно-сосудистым заболеваниями ($\pi^2=9,420$; $df=2$; $p=0,009$). Пациенты с различными генотипами по гену *MMP1* отличались характером распределения генотипов гена *GSTT1* ($\pi^2=9,000$; $df=2$; $p=(0,011)$). Пациенты с различными генотипами гена *PPARG* достоверно различались по характеру шумов в ВНЧС ($\pi^2=10,35$; $df=4$; $p=0,035$), распространённости кариеса ($\pi^2=13,02$; $df=6$; $p=0,043$), частоте встречаемости дисколоритов зубов ($\pi^2=31,11$; $df=12$; $p=0,002$) и клинико-инструментальных признаков ДСТ: расширения корня аорты ($\pi^2=16,80$; $df=2$; $p = 0,001$), наличие ДХПЛЖ

($\pi^2=11,43$; $df=2$; $p=0,004$), характера распределения генотипов гена *GSTT1* ($\pi^2=6,345$; $df=2$; $p=0,041$), гена *TNFA* ($\pi^2=55,64$; $df=4$; $p=0,001$). Пациенты с генотипами *PGC1AB* статистически различны по классу окклюзионных соотношений ($\pi^2=19,10$; $df=8$; $p=0,015$) и частоте сердечно-сосудистых заболеваний в анамнезе ($\pi^2=6,471$; $df=2$; $p=0,039$).

Заключение: Получены данные, свидетельствующие о наличии связи между полиморфизмами анализируемых генов и анамнестическими данными, особенностями стоматологического статуса, а также клинко-инструментальными проявлениями соединительнотканной патологии у стоматологических больных с сопутствующей дисплазией соединительной ткани.

Распространенность генов вирулентности в клинических изолятах *Moraxella catarrhalis*

Столбникова Е.В.¹, Волкова М.О.², Железова Л.И.², Дмитриев А.В.¹,
Кветная А.С.²

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

² Научно-исследовательский институт детских инфекций федерального медико-биологического агентства России

Ключевые слова: *Moraxella catarrhalis*, патогенез, вирулентность

Prevalence of virulence genes in clinical isolates of *Moraxella catarrhalis*

Stolbnikova E.V.¹, Volkova M.O.², Zhelezova L.I.², Dmitriev A.V.¹,
Kvetnaya A.S.²

¹ Institute of experimental medicine, St. Petersburg, Russian Federation

² Institute of childhood infections, Russian Federation

Key words: *Moraxella catarrhalis*, pathogenesis, virulence

Введение: *Moraxella catarrhalis* (*M. catarrhalis*) – грамотрицательный диплококк, семейства *Neisseriaceae*, рода *Moraxella*, относящийся к условно-патогенным бактериям, способным вызывать инфекции верхних дыхательных путей человека. *M. catarrhalis* является наиболее распространенным бактериальным патогеном после *Haemophilus influenzae* и *Streptococcus pneumoniae*, вызывающим воспаление среднего уха у детей, нередко может являться причиной развития хронического обструктивного бронхита у взрослых [1-2]. В связи с этим активно ведутся исследования факторов патогенности *M. catarrhalis*, механизмов их действия и механизмов регуляции их экспрессии [3-5]. Очевидно, что именно совместное действие комплекса факторов патогенности позволяет микроорганизму колонизировать ткани и вызывать патологические процессы в организме хозяина. Цель исследования: изу-

чить распространенность генов вирулентности *hag*, *oprM*, *mcaP*, *m35*, *copB*, *pilA*, *olpA*, *lpxA*, *acrA*, *acrB*, кодирующих факторы патогенности, в клинических изолятах *Moraxella catarrhalis*.

Материалы и методы: В работе использовали 36 клинических изолятов *M. catarrhalis*, выделенных у пациентов с острыми гнойными отитами, пневмониями и у условно здоровых носителей. Штаммы *M. catarrhalis* выделяли у детей от 1 года до 8 лет и у лиц молодого возраста от 27 до 34 лет в период октябрь 2014 г. - февраль 2015 г. в НИИ детских инфекций (Санкт-Петербург). Определение принадлежности изолятов к *M. catarrhalis* проводили на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex LT (Bruker Daltonics, Germany). Культивирование штаммов осуществляли в жидкой среде Brain Heart Infusion и на плотной агаризованной среде Columbia. Штаммы выращивали в течение 18-24 часов при температуре +37°C. Наличие генов вирулентности у клинических изолятов *M. catarrhalis* определяли методом мультиплексной ПЦР с праймерами, подобранными с использованием программы Primer III.

Результаты: В результате исследования показано, что гены *m35* и *copB*, отвечающие за инвазивные свойства, обнаруживаются во всех штаммов *M. catarrhalis*. Ген *olpA*, кодирующий мембранный белок OlpA, который связывает фактор Н комплемента человека и способствует уклонению от иммунного ответа, обнаружен в 32 из 36 (89%) изолятов. Ген *lpxA*, который кодирует белок LpxA, также способствующий уклонению от иммунного ответа, выявлен во всех изолятах. Ген *hag*, кодирующий белок наружной мембраны MID/Hag, участвующий в адгезии *M. catarrhalis* к эпителиальным клеткам дыхательных путей человека и связывающий иммуноглобулины D, обнаружен в 34 из 36 (94%) изолятов. Ген *mcaP*, кодирующий второй адгезин *M. catarrhalis* (McaP), обнаружен в 35 из 36 (97%) изолятов. Гены *oprM*, *acrB* и *acrA*, отвечающие за устойчивость микроорганизма к β-лактамным антибиотикам, выявлены в 100%, 100% и 97% изолятах, соответственно. Ген *pilA*, который кодирует белок PilA, участвующий в формировании биопленок, обнаружен у 28 из 36 (72%) изолятов. В целом, по наличию генов вирулентности в 36 изолятах *M. catarrhalis* выявлены 7 генетических вариантов, при этом один из генетических вариантов, характеризующийся наличием всех 10 генов вирулентности, был характерен для 22 из 36 (61%) изолятов *M. catarrhalis*.

Заключение: Изоляты *M. catarrhalis*, выделенные в Санкт-Петербурге, характеризуются высокой степенью генетической гетерогенности по наличию генов вирулентности. При этом 61% изолятов принадлежат одному генетическому варианту, что позволяет предположить определенные эпидемические связи между ними. Дальнейшие исследования будут направлены на детальный молекулярный анализ изолятов с целью выявления факторов, которые обеспечивают данному генетическому варианту селективное преимущество в процессе взаимодействия «паразит-хозяин».

Список литературы:

10. Hassan F. 2013. Molecular mechanisms of *Moraxella catarrhalis*-induced otitis media. *Corr Allergy Asthma Rep*, 13, №5: 512-517.

11. Bootsma HJ, Hays JP, Hermans PW. 2009. Molecular aspects of *Moraxella catarrhalis* pathogenesis. *Microbiology and Molecular biology Reviews*, 73, №3: 389-406.
12. Lipski SL, Akimana C, Timple JM, Wooten RM, Lafontaine ER. 2007. The *Moraxella catarrhalis* autotransporter McaP is a conserved surface protein that mediates adherence to human epithelial cells through its N-terminal passenger domain. *Infection and immunity*, 75, №1: 314-324.
13. Su YC, Singh B, Riesbeck K. 2012. *Moraxella catarrhalis*: from interactions with the host immune system to vaccine development. *Future Microbiol*, 7, №9: 1073-1100.
14. Singh K, Bayrak B, Riesbeck K. 2012. A role for TLRs in *Moraxella*-superantigen induced polyclonal B cell activation. *Front Biosci (Schol Ed)*, 1, №4: 1031-1043.

**Определение мутаций в экзоне 12 гена JAK2 методом
пиросеквенирования**

Субботина Т.Н.^{1,3*}, Дунаева Е.А.², Миронов К.О.², Дрибноходова О.П.²,
Васильев Е.В.⁵, Ольховский И.А.^{1,4}

¹ Красноярский филиал ФГБУ «Гематологический научный Центр» МЗ Рос-
сии

* Академгородок 15, Красноярск 660036, Россия
Тел.: +7(391)2905513, e-mail: stn.25@mail.ru

² Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия

³ Сибирский федеральный университет, Россия

⁴ Красноярский научный Центр СО РАН, Россия

⁵ Краевая клиническая больница, Россия

*Ключевые слова: мутации в 12 экзоне гена JAK2; миелопролифератив-
ные заболевания; пиросеквенирование*

Detection of 12 JAK2 exon mutations by pyrosequencing

Subbotina T.N.^{1,3*}, Dunaeva E.A.², Mironov K.O.², Dribnokhodova O.P.²,
Vasiyiev E.V.⁵, Olkhovskiy I.A.^{1,4}

¹Krasnoyarsk branch of Hematology Research Center, Russian Federation

²Central research institute for Epidemiology, Moscow, Russian Federation

³Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

⁴Krasnoyarsk Scientific Center Krasnoyarsk, Russian Federation

⁵Krasnoyarsk regional hospital, Russian Federation

Keywords: exon 12 JAK2 mutations, myeloproliferative disorders, pyrosequencing

Введение: В соответствии с клиническими рекомендациями ВОЗ (2008 г.), для подтверждения диагноза одного из распространенных *bcr/abl* негативных миелопролиферативных заболеваний – истинной полицитемии (ИП) достаточно наличия высокого уровня гемоглобина и гематокрита, а также наличия соматической мутации в гене *JAK2*. Ключевым звеном патогенеза ИП является активация *JAK-STAT* сигнального пути, чаще всего обусловленная точечной мутацией *V617F* в экзоне 14 гена *JAK2*. Вместе с тем известно, что для небольшого числа *V617F*-отрицательных больных с клиническим диагнозом ИП характерны мутации в экзонах 12 и 13 гена *JAK2*. Описаны более 40 видов мутаций в данной области, обуславливающие исключительно развитие ИП [1, 2]. Частота таких мутаций среди пациентов с диагнозом ИП составляет 3% для европейской популяции [3] и 13% - для китайской [2]. Соответствующие данные для пациентов российской популяции в литературе не обнаружены.

Цель исследования: разработка метода определения мутаций в экзоне 12 гена *JAK2* методом пиросеквенирования.

Материалы и методы: Из 65 проб пациентов с ИП, собранных в лаборатории красноярского филиала Гематологического центра в период 2012-2014 гг., были отобраны 10 образцов ДНК *JAK2 V617F*-отрицательных пациентов с клиническим диагнозом и подтвержденной морфологической картиной костного мозга. Определение нуклеотидной последовательности фрагмента 12 экзона гена *JAK2* проводилось с помощью технологии пиросеквенирования по методике, описанной в [4]; реагенты для ПЦР и пробоподготовки произведены в ФБУН «Центральном НИИ эпидемиологии» («АмплиСенс», Россия), пиросеквенирование проведено на приборе «PyroMark Q24» с использованием набора «PyroMark Gold» («Qiagen», Германия). Для верификации наличия мутаций проводилось клонирование ДНК, выделенной из клинических образцов, в вектор *pGem-T* по стандартной методике («Promega», США) [5]. Секвенирование клонов проводилось с использованием реагентов и оборудования фирмы «Applied Biosystems» (США).

Результаты: Один из десяти выбранных для анализа образцов содержит соматическую мутацию *N542-E543 del* в области экзона 12 гена *JAK2*, наличие которой (как и другие мутации в экзоне 12) ведёт к нарушению конформационного взаимодействия киназного и псевдокиназного доменов белка *JAK2* в области расположения *V617*, что приводит к нарушению *JAK-STAT* сигнального пути и таким образом, к проявлению клинической картины ИП. В частности, пациент, в ДНК которого обнаружена данная мутация, мужчина 62-х лет, имеет картину выраженного полнокровия с умеренной спленомегалией и умеренным тромбоцитозом. На момент диагностики заболевания в июле 2013 г. присутствовал выраженный плеторический синдром, в периферической крови *Hb* 204 г/л, *Hct* 61,3%, эритроциты $6,43 \cdot 10^{12}$ /л, лейкоциты

8,0*10⁹/л, тромбоциты 250*10⁹/л. В течение 18 месяцев наблюдения рецидивирует клиника плеторического синдрома, сопровождающаяся артериальной гипертензией, имеется умеренная спленомегалия (по данным УЗИ), тенденция к тромбоцитозу при отсутствии лейкоцитоза и тромботических осложнений.

Заключение: Выявление соматической мутации в 12 экзоне гена JAK2 позволило подтвердить у данного пациента патогенетический механизм клинической картины ИП, обусловленный активностью JAK2. Разработанная методика позволит подтверждать случаи развития ИП у пациентов с отсутствием «классической» мутации в 14 экзоне гена JAK2.

Список литературы:

1. Scott LM. 2011. The JAK2 exon 12 mutations: a comprehensive review. *Am J Hematol*, 86 (8): 668-76.
2. Wu Z, Zhang X, Xu X, et al. 2014. The mutation profile of JAK2 and CALR in Chinese Han patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *J Hematol Oncol*, 7: 48.
3. Pardani A, Lasho TL, Finke C, et al. 2007. Prevalence and clinicopathologic correlates of JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythemia vera. *Leukemia*, 21(9): 1960–1963.
4. Миронов К.О., Дунаева Е.А., Дрибноходова О.П. и др. 2011. Детекция генетических полиморфизмов с использованием системы генетического анализа на основе пиросеквенирования PyroMark Q24. *Справочник заведующего КДЛ*, 4: 39-48.
5. Sambrook J., Russell D. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual*. (3-rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Тактика ведения пациенток с синдромом Шерешевского-Тернера на современном этапе

Уквальберг М.Е.¹, Гуменюк Е.Г.¹, Кормакова Т.Л.¹, Варламова Т.В.¹, Дианова И.Н.²

¹ Петрозаводский государственный университет

² Детская поликлиника №2

Ключевые слова: подростки, физическое и половое развитие, синтетические эстрогены, биоидентичные эстрогены, гормон роста

Tactics of maintaining the patients with Turner's Syndrome at the contemporary conditions

Ukvalberg M. E.¹, Gumenyuk E. G.¹, Kormakova T. L.¹, Varlamova T.V.¹, Dianova I.N.²

¹Petrozavodsk State University

² Children's clinic № 2

Key words: teenagers, physical and sexual development, synthetic estrogens, bio-identical estrogens, growth hormone

Введение: Синдром Шерешевского-Тернера (СШТ) обусловлен полной или частичной X-моносомией, представленной во всех или же в части клеток организма. Это хромосомное заболевание встречается с частотой 1:2000 - 1:2500 новорожденных девочек [1]. Основными задачами лечения больных с СШТ в детском и подростковом возрасте являются увеличение конечного роста, формирование вторичных половых признаков с установлением регулярного менструального цикла, коррекция пороков развития и профилактика остеопороза [2, 3]. Однако многообразие клинических проявлений заболевания, неоднородность патофизиологических механизмов их развития создают проблемы в достижении оптимальных результатов лечения. Цель исследования: Оценить эффективность использования современных методов лечения девочек-подростков с СШТ, направленных на улучшение качества их дальнейшей жизни.

Материалы и методы: Проведен ретроспективный и проспективный анализ физического и полового развития 9 девочек с синдромом Шерешевского – Тернера в возрасте от 9 до 15 лет, при использовании синтетических эстрогенов (СЭ), биоидентичных эстрогенов (БИЭ) и гормона роста (ГР). У всех пациенток исследовалось течение соматической патологии, оценивалось физическое и половое развитие, проводилось УЗИ органов малого таза, оценивался гормональный профиль.

Результаты: У 6 пациенток диагностирована типичная форма моносомии X-хромосомы (45,X), у 3 девочек - мозаицизм (45,X/46,XX). Двум девочкам диагноз по результатам кариологического анализа был поставлен до 5 летнего возраста, 1 девочке – в 14 лет, а остальным - в возрасте 11-12 лет, несмотря на то, что стигмы дисэмбриогенеза и фенотип СШТ визуализировались с раннего возраста. У всех обследованных пациенток отмечалась задержка роста – у 67% девочек на 3 стандартных отклонения (СО), у 33% - на 2СО. С целью коррекции роста 3 пациентки получали ГР. К 15 годам их рост достиг 155 ± 3 см. Балльная оценка полового развития только у 2 девочек с мозаицизмом соответствовала возрасту, в остальных случаях была ниже нормы. По результатам УЗИ органов малого таза в 100% случаев был выявлен половой инфантилизм. Яичники визуализировались только у пациенток с мозаицизмом. С целью формирования вторичных половых признаков всем пациенткам проводилась заместительная гормональная терапия эстрогенами. У 5 пациенток для развития вторичных половых признаков и увеличения размеров матки при достижении костного возраста 12 лет использовался СЭ этинилэстрадиол в дозировке 50мг, у остальных - использовались БИЭ: Прогинова до 4мг/сут. перорально и Дивигель до 4мг/сут. трансдермально. У девочек при использовании БИЭ менструальноподобная реакция отмечалась через 6-8 месяцев после начала лечения. При использовании СЭ – через 1,5 - 2 года, что объяснялось невозможностью увеличения

терапевтической дозы препарата из-за появления побочных эффектов. Эффективность лечения оценивалась по уровню ФСГ, ЛГ и эстрадиола. На фоне проводимого лечения уровни ФСГ и ЛГ уменьшались с почти в 2 раза - с $120 \pm 5,6$ МЕ/л до $55 \pm 6,7$ МЕ/л, ЛГ - $95 \pm 5,3$ МЕ/л до начала лечения и $35 \pm 4,5$ МЕ/л на фоне проводимой терапии. Уровень эстрадиола до лечения составлял $58 \pm 8,3$ пмоль/л, на фоне проводимой терапии - $140 \pm 8,2$ пмоль/л.

Выводы: При выявлении фенотипических признаков СШТ с рождения необходимо проведение кариологического анализа. Своевременно начатая терапия ГР с подключением БИЭ в возрасте 9-10 лет позволит оптимально моделировать сроки течения физиологического пубертата, формировать женские морфотипические особенности, необходимые для улучшения качества жизни.

Список литературы:

1. Дедов И.И., Петеркова В. А., Семичева Т. В., Волеводз Н. Н. Синдром Шерешевского-Тернера (патогенез, клиника, диагностика, лечение): Метод. рекомендации. М.: ГУЭНЦ РАМН, 2009. 47 с.
2. Morin A., Guimarey L.M., Apezteguia M., Santucci Z.C. Adult height in Turner Syndrome girls after long-term growth hormone treatment. *Medicina (B Aires)*. 2009. Vol .69. №4. P. 431-436.
3. Rosenfeld R.L., Devine N., Hunold J. et al. Salutary effects of combining early very low-dose systemic estradiol with growth hormone therapy in girls with Turner syndrome. *J. Clin Endocrinol. Metab.* 2005. Vol. 90. №12. P. 6424–6430.

Выявление мутаций известных рецессивных генов болезни Паркинсона в Северо-Западном регионе России методом таргетного секвенирования

Усенко Т.С.^{1,2}, Якимовский А.Ф.², Lesage S.⁴, Brice A.⁴, Пчелина С.Н.^{1,2,3}*

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Россия

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

ул. Льва Толстого 6-8, Санкт-Петербург 197089, Россия.

*Тел.: +7 (812) 347 55 46; Факс: +7 (812) 347 55 46; эл. адрес:
u.tatiana86@mail.ru

³Санкт-Петербургский Академический университет – Научно - образовательный центр, Россия

⁴Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, F-75013, France

Ключевые слова: Болезнь Паркинсона, рецессивные гены, таргетное секвенирование

Identification of mutations of known recessive genes in Parkinson's disease by target sequencing in the North-West Federal Region of Russia

Usenko T.S.^{1,2}, Yakimovskii A.F.², Lesage S.⁴, Brice A.⁴, Pchelina S.N.^{1,2,3}*

¹St. Petersburg Nuclear Physics Institute, Russian Federation

²First Pavlov State Medical University of St. Petersburg

L. Tolstoy str. 6-8, St. Petersburg 197089, Russian Federation

*Tel.: +7 (812) 347 55 46, fax: +7 (812) 347 55 46, e-mail: u.tatiana86@mail.ru

³St. Petersburg Academic University - Nanotechnology Research and Education Centre,

Russian Federation

Key words: Parkinson's disease, recessive genes, target sequencing

Введение: Болезнь Паркинсона (БП) - одно из наиболее тяжелых и распространенных нейродегенеративных заболеваний с частотой 1-2% среди лиц старше 60 лет. БП характеризуется селективной дегенерацией дофаминергических нейронов в черной субстанции головного мозга, но этиология заболевания остается неизвестной. За последние годы значительно продвинулось понимание генетических и физиопатологических механизмов, приводящих к молекулярным дефектам при БП [1]. На сегодняшний день выявлено 10 генов, ответственных за развитие моногенных форм БП, в том числе 4 гена (PARK2, PINK1, DJ-1 и ATR13A2), связанных с ранним началом БП по аутосомно-рецессивному типу наследования. Один из возможных подходов для выявления новых мутаций и определения частот мутаций рецессивных генов БП - экзомное секвенирование, основанное на выборочной расшифровке кодирующих последовательностей ограниченного числа произвольно выбранных генов (таргетное секвенирование) [2]. Цель данного исследования заключалась в выявлении мутаций известных рецессивных генов и оценке их частоты у пациентов с ранним началом БП в Северо-Западном регионе России методом таргетного секвенирования.

Материалы и методы: В исследование вошли 14 пациентов с ранним началом развития БП до 40 лет (средний возраст 37±3). Для выявления мутаций 7 известных рецессивных генов БП (PINK1, DJ1, PARK2, FBXO7, PLA2G6, ATR13A2, DNAJC6) использовали таргетное секвенирование на платформе MiSeq (Illumina, США) и набор NimbleGen SeqCap EZ Library (Roche, США). Выравнивание секвенсовых ридов выполнялось с использованием BWA-мет на основе референсного генома. Для выявления геномных вариантов у пациентов с БП применялось программное обеспечение CLC bio. Все варианты подтверждались секвенированием по Сенгеру.

Результаты: В ходе данного исследования нами был выявлен один пациент с мутацией rs34316445 гена FBXO7 в гетерозиготном состоянии. Остальные варианты (мутации и ОНП), выявленные таргетным секвенированием

ем, не были подтверждены секвенированием по Сенгеру, что, возможно, связано с качеством исходного материала, используемого для таргетного секвенирования (выделение ДНК не из свежей собранной крови, возраст банка ДНК).

Выводы: Данный метод требует использование ДНК высокого качества и позволяет быстро идентифицировать мутации в аутосомно-рецессивных генах, ответственных за развитие БП, а также оценить их частоту в популяции. С помощью таргетного секвенирования можно ближе подойти к разработке новых молекулярно - диагностических стратегий на основе фенотипа и относительной частоты мутаций генов, ответственных за развитие БП.

Передача технологии от научных исследований в клиническую практику позволит ускорить диагностику. Постановка диагноза на доклинической или начальной стадии развития БП открывает возможность своевременного нейропротективного применения лечения, которое может замедлить прогрессирование заболевания.

Список литературы

15. Corti O, Lesage S, Brice A. What genetics tells us about the causes and mechanisms of Parkinson's disease. *Physiol Rev* 2011, 91: 1161-218.
16. Edvardson S, Cinnamon Y, Ta-Shma A, et al. A deleterious mutation in DNAJC6 encoding the neuronal-specific clathrin-uncoating co-chaperone auxilin, is associated with juvenile parkinsonism. *PLoS One* 2012; 7: e36458.

Обмен птеринов при психоневрологических расстройствах

Хальчицкий С.Е.^{1,2}, Шапошников А.М.³*

¹Российский научный центр радиологии и хирургических технологий МЗ РФ
Ленинградская ул. 70, пос. Песочный, Санкт-Петербург 197758, Россия

* Тел. +7 9045539555, e-mail: s_khalchitski@mail.ru

²Научно-исследовательский психоневрологический институт им. В.М.
Бехтерева, Россия

³Научно-исследовательский институт гриппа, Россия

*Ключевые слова: тетрагидробиоптерин, неоптерин,
психоневрологические расстройства*

Pterines metabolism in psychoneurological disorders

Khalchitsky SE^{1,2}, Shaposhnikov AM³*

¹Russian Research Center of Radiology and Surgical Technologies
Leningradskaya ul., 70, pos. Pesochniy, Saint-Petersburg, 197758

*Tel. +7 9045539555, e-mail: s_khalchitski@mail.ru

²St.-Petersburg Research Psychoneurological Institute of V.M.Bekhterev

³Research Institute of Influenza

Key words: tetrahydrobiopterin, neopterin, psychoneurological disorders

Как известно, птерины, в частности, тетрагидробиоптерин (ВН4), играют важнейшую роль в метаболизме ароматических аминокислот. Тетрагидробиоптерин является кофактором всех гидроксилаз ароматических аминокислот и синтазы оксида азота. Наш опыт работы связан с выяснением роли ВН4 в патогенезе классической и атипичной форм фенилкетонурии (ФКУ). Было выявлено влияние ВН4 на активацию фенилаланингидроксилазы (ФАГ) при классической и “mild” формах ФКУ. В частности, при определении активности ФАГ у лиц с классической формой ФКУ при добавлении кофактора ВН4 активность фермента не возрастала, оставаясь на нуле, в то время как в контрольной группе она возрастала в десятки раз, достигая значения 61,5 мкмоль тирозина/г белка/час. У лиц с “mild” формой ФКУ добавление ВН4 увеличивало активность ФАГ до 7,2 мкмоль тир/г белка/час [1]. Таким образом, кофактор ВН4 играет важнейшую роль в организме, активируя ферменты гидроксирования ароматических аминокислот и участвуя в дальнейшем биосинтезе таких нейромедиаторов, как дофамин, норадреналин, норадреналин, серотонин.

При недостаточности ВН4 возникают тяжелые расстройства не только у больных ФКУ. В частности, при шизофрении, по данным [2], содержание ВН4 в плазме у больных шизофренией было на 34% ниже, чем в контрольной группе. В настоящее время в США реализуется исследовательский проект по лечению шизофрении препаратом Куван (фармацевтическая форма ВН4). В описании проекта указывается, что дисрегуляция биосинтеза ВН4 является одним из важных факторов патогенеза шизофрении, и проводится лечение больных шизофренией препаратом Куван из расчета 20 мг/кг массы тела в день [3].

Нарушения метаболизма ВН4 были зафиксированы и при других психоневрологических расстройствах, причем нормализация уровня ВН4 способствовала ремиссии заболевания [4]. В частности, при депрессии введение ВН4 в дозировке 0,9-1,0 г/сутки улучшало состояние больных через 5 часов после приема ВН4. У больных паркинсонизмом снижался тремор и гипокинезия через 4 часа после приема ВН4 [5]. Все это говорит о том, что недостаточность ВН4 влияет на синтез нейромедиаторов катехоламинового ряда, и эта недостаточность имеет широкий спектр клинических проявлений при психоневрологических расстройствах.

Кроме ВН4, еще одним важным биомаркером является неоптерин. Неоптерин (НП) синтезируется преимущественно в человеческих моноцитах и макрофагах после стимуляции интерфероном-гамма, продуцируемым Т-хелперами. При распознавании Т-лимфоцитами чужеродных или модифицированных клеток инициируется производство различных медиаторов - лимфокинов, например, интерферон- γ (INF- γ), который идентифицирован как единственный цитокин, индуцирующий значительное производство НП [6]. С помощью определения уровня НП возможна

идентификация гетерозиготных носителей фенилкетонурии после нагрузки L-фенилаланином [7].

Выявлено повышение концентрации НП в спинномозговой жидкости пациентов с шизофренией и аффективными состояниями, что свидетельствует о дисфункции иммунитета и барьерных функций мозга [8]. У пациентов с депрессией выявлено повышенное содержание НП и кинуренина при более значимом снижении концентрации триптофана, которое коррелировало с выраженностью когнитивных, тревожных и депрессивных нарушений. Снижение доступности триптофана играет важную роль в возникновении индуцированных терапией INF- α депрессивных нарушений [9].

Ценность мониторинга уровня НП как маркера клеточного иммунитета, несомненно, выше по сравнению с прямым анализом INF- γ . НП химически инертен и в неизменном виде выводится через почки. Кроме того, измерение уровня НП отражает эффект не только какого-либо одного цитокина, скорее это позволяет определять полный эффект иммунологической сети и взаимодействий в популяции моноцитов/макрофагов. Отражение множественной кооперации между иммунокомпетентными клетками, несомненно, является базисом основополагающей ценности исследований уровня НП как иммунодиагностического инструмента.

Список литературы:

1. Шапошников А.М., Хальчицкий С.Е. Естественные и технические науки 2007, № 5: 147-157.
2. Richardson MA et al. *Neuropsychobiology*. 2005;52(4):190-201.
3. Lieberman JA. Clinical Trials. Gov. identifier: NCT01706965, New York State Psychiatric Institute.
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01706965>
4. Hashimoto R et al.. *Neuropsychobiology* 1994, 29:57-60
5. Curtius HC et al. *J Neural Transm*, 1982;55:4:301-308
6. Oxenkrug G.F.. *J Neural Transm*.2011;118:1:75-85
7. Alós T et al. *J Inherit Metab Dis* 1993, 16:457-464
8. Bechter K et al. *J Psychiatr Res* 2010, 44:321-330
9. Capuron L et al. *Biol Psychiatry*. 2003; 54: 9: 906-914.

Медико-генетическое консультирование семей с фенилкетонурией

Хальчицкий С.Е.¹, Мхеидзе М.О.²

¹Российский научный центр радиологии и хирургических технологий МЗ РФ
ул. Ленинградская, 70, п. Песочный, Санкт-Петербург 197758, Россия
+7 812 596 85 43, s_khalchitski@mail.ru

²Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера

Ключевые слова: фенилкетонурия, мутация R408W, медико-генетическое консультирование

Counselling of PKU families

Khalchitski S.E.¹, Mkheidze M.O.²

¹ Russian Research Centre of Radiology and Surgical Technology
Leningradskaya street 70, Pesochnyi, St. Petersburg 197758, Russian Federation
+7 812 596 85 43, s_khalchitski@mail.ru

²The Turner Research Institute for Children's Orthopaedics, Russian Federation
Key words: phenylketonuria, mutation R408W, counseling

Введение: Фенилкетонурия (ФКУ, OMIM261600, 12q23.2) – наследственное нарушение обмена фенилаланина из-за дефицита активности фенилаланин-гидроксилазы (ФАГ, РАН, КФ 1.14.16.1), приводящее к тяжелой клинической симптоматике при отсутствии адекватной терапии. Целью работы явилась молекулярная верификация диагноза ФКУ и корректное медико-генетическое консультирование.

Материал и методы: За медико-генетической консультацией обратились 25 семей. Под нашим наблюдением находились 28 пробандов в возрасте от 2 мес. до 23 лет, 16 пробандов женского пола и 12 пробандов мужского пола. В 3 семьях по два ребенка страдали ФКУ, в том числе 1 семья имела пару MZ сестер и 2 семьи имели по два пораженных sibса. Все пациенты были выявлены по результатам массового неонатального скрининга. Для диагностики мутации R408W использовался диагностический набор PKU-408L производства ООО «Центр молекулярной генетики», Москва.

Результаты: В обследованной группе у 8 пробандов определен гомозиготный генотип R408W/R408 (4♀, 4♂), 16 компаундов по R408W мутации (9♀, 7♂) и у двух пробандов генотип не содержал данную мутацию (1♀, 1♂). Таким образом, 26 пробандов страдают ФКУ из-за дефицита активности ФАГ, в двух случаях данная форма ФКУ не является ни подтвержденной, ни исключенной.

Выводы: Корректное медико-генетическое консультирование подразумевает постановку точного диагноза. Для моногенных заболеваний, характеризующихся выраженным генетическим полиморфизмом и генетической гетерогенностью, окончательная верификация диагноза основана на результатах молекулярного исследования, которое дает представление о том, какое влияние данная мутация оказывает на структуру и активность фермента при наследственных ферментопатиях. Мутация R408W, представляющая собой замену аргинина в позиции 408 триптофаном, является самой частой причиной ФКУ в ряде западноевропейских популяций и России. Как правило, эта мутация приводит к тяжелой форме заболевания. Остаточная активность ФАГ у больных ФКУ гомозиготных по этой мутации не превышает 3%. Аргинин, находящийся в 408 позиции, при нормальной конформации мономера фермента находится в глубине молекулы и образует водородные связи с карбонильными кислородами остатков лейцина, находящихся в 308 и 311 положениях. Замена аргинина в этом положении на более объемный триптофан приводит к тому, что каталитический центр и тетрамеризующий домен фер-

мента оказываются сближенными, что нарушает нормальный процесс олигомеризации фермента. При выяснении этиологии и патогенеза моногенного заболевания практическому врачу важно представлять, какое влияние та или иная мутация оказывает на структуру, синтез и активность конечного белкового продукта (фермента) в случае структурного гена. Также важно знать, какую роль играет анализируемый ген в последующей метаболической цепи, какие патологические изменения метаболизма возникают в результате рассматриваемой мутации, какие морфологические нарушения могут возникнуть в результате этих нарушений. Только тогда молекулярно-генетический диагноз даст понимание, какие клинические проявления следует ожидать в результате возникновения или наследования данной мутации. Использование короткой панели мутаций, например, по гену ФАГ, являющихся наиболее частыми для определенной популяции, - это лишь промежуточный шаг на пути верификации клинического диагноза. Следует учитывать и факт мощных миграционных процессов, захвативших население России, в том числе население Санкт-Петербурга и Ленинградской области, что существенно влияет на генетическую структуру обследуемой популяции.

Круглый стол: Парадоксы геномной медицины

Хромов-Борисов Н.Н.^{1}, Рубанович А.В.²*

¹Российский НИИ травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

*Россия, 197022, Санкт-Петербург, Вяземский пер., д. 6, кв. 196;
+7 952 204 8949; Nikita.KhromovBorisov@gmail.com

Ключевые слова: геномная медицина, баллы генетического риска, статистическая значимость, множественные сравнения, парадокс Фридмана, заблуждение обвинителя

Roundtable: Paradoxes of Genomic Medicine

Khromov-Borisov N.N.^{1}, Rubanovich A.V.²*

¹Vreden Russian Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Saint Petersburg, Russia

²Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

*Russia, 197022, Saint Petersburg, Vyazemsky lane, 6-196,
+7 952 204 8949; Nikita.KhromovBorisov@gmail.com

Keywords: genomic medicine, genetic risk scores, statistical significance, multiple comparisons, Friedman's paradox, prosecutor's fallacy

Наука не всесильна, и ее прогресс обусловлен осознанием и признанием ее принципиальных запретов, иллюзий, скрытых ловушек и парадоксов.

Парадокс генетической уникальности. Каждый человек генетически уникален - различаются даже монозиготные близнецы. Поэтому мечты об индивидуализированной геномной медицине разбиваются о методологию клинических исследований, потому что практически невозможно доказать, что конкретно данному пациенту с уникальным генотипом помогло именно данное персонально подобранное средство или способ лечения. Для этого требуется сравнивать большие выборки генотипически одинаковых субъектов («чистых линий») с данной болезнью и без нее.

Парадокс генетического разнообразия. Типы генетического полиморфизма у человека разнообразны (SNP, CNV и проч.), и число вариантов последовательностей ДНК (аллелей) исчисляется миллионами, а число их возможных комбинаций (генотипов) явно превышает численность населения Земли (7,26 млрд. человек). В таком случае статистическая значимость выявляемых «генетических ассоциаций» слишком часто будет ложной. В статистике это явление известно как «парадокс Фридмана».

Парадокс размытости фенотипов. Фенотипы с низко пенетрантным плеiotропным полигенным наследованием плохо различимы. Если у человека в данный момент болезнь отсутствует, это не означает, что она никогда у него не проявится. Если человек ведет сидячий образ жизни, это не означает, что он потенциально предрасположен к высоким спортивным достижениям.

Парадокс контрольной группы. Из-за размытости фенотипов в геномной медицине «контрольная группа» часто является смесью (в неизвестных пропорциях) субъектов без болезни (или без склонности к талантам) и субъектов с еще не проявившейся болезнью (или талантом). Это означает, что выборки формируются не по схеме «случаи-контроли», а по схеме «случаи-когорты», и к ним нужно применять принципиально иные процедуры статистического моделирования и анализа. В качестве контрольной группы нередко отбирают доноров, и в их выборках часто наблюдается отклонение от равновесия Харди-Вайнберга (РХВ). В частности мы обнаружили такие отклонения в считавшихся бесспорными классических работах о связи групп крови системы АВ0 с болезнями, и именно из-за этого выявляемые связи на поверку оказываются иллюзорными.

Парадокс суммирования баллов генетического риска. При суммировании баллов генетического (полигенного) риска (GRS – genetic risk scores, или PGRS – polygenic risk scores) очень часто аллели объявляются «рисковыми» только на основании их более высокой частоты в группе субъектов с болезнью, чем в группе без нее. Мы показали, что если для сравнения этих групп использовать обычные статистические критерии (t , Z), то их ожидаемое значение при гипотезе H_0 равно не нулю, а $\sqrt{2m/\pi}$, где m – число анализируемых локусов. Тогда получается, что если использовать обычную статистику критерия со средним значением 0, то любые 5 и более

локусов в среднем покажут *мнимые* различия по PGRS со значениями $P_{val} \leq 0,04$.

Парадокс статистической значимости. Статистическая значимость наблюдаемых в опыте эффектов вовсе не означает их практическую (клиническую) ценность. Эффект может быть *статистически* высоко значимым, но его размер может оказаться *практически ничтожным*. В частности мы показали, что когда нижняя граница 95%-го доверительного интервала для отношения шансов $OR_L < 2,2$, тогда предсказательная ценность маркера клинически ничтожна. Маркер может быть хорошим классификатором, если $OR_L > 5,4$ (при минимальной частоте маркера $MAF > 0,3$). Этому условию удовлетворяют лишь очень немногие генетические онко-маркеры (например, *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*).

Парадокс множественных сравнений. Если число категорий больше двух, то к ним нельзя применять обычные двухвыборочные критерии, и для попарных сравнений нужны поправки на их множественность.

Парадокс обратной вероятности («заблуждение обвинителя»). Вероятность наблюдать данный генотип G^+ у субъекта с болезнью D^+ не есть вероятность этой болезни у субъекта с данным генотипом: $P(G^+|D^+) \neq P(D^+|G^+)$. Иными словами, чувствительность, $Se = P(G^+|D^+)$, и специфичность, $Sp = P(G^-|D^-)$, генетического теста мало что говорят о диагностических ценностях (предсказательных вероятностях) его положительных, $PPV = P(D^+|G^+)$, и отрицательных, $NPV = P(D^-|G^-)$, результатов.

Современные возможности оптимизации фармакотерапии у детей с резистентными формами эпилепсии

Цоцонава Ж.М., Кантемирова Б.И.

Астраханский государственный медицинский университет

Бакинская ул., 121, Астрахань 414000, Россия

Тел. +7 9054808030, e-mail: tsotsonava02@yandex.ru

Ключевые слова: эпилепсия, биотрансформация, фармакогенетика

Modern possibilities of optimization of pharmacotherapy in children with drug-resistant forms of epilepsy

Tsotsonava Zh. M., Kantemirova B. I.

Astrakhan State Medical University
Bakinskaya street, 121, Astrakhan 414000, Russian Federation
Phone +7 9054808030, e-mail: tsotsonava02@yandex.ru

Key words: epilepsy, biotransformation, pharmacogenetics

Введение: Прогресс в лечении эпилепсии во многом связан с достижениями молекулярной генетики. За последнее время получены данные, свидетельствующие о роли генетического полиморфизма метаболических систем в фармакокинетике и фармакодинамике антиконвульсантов [2]. Интенсификация научных исследований в этом направлении может иметь существенные клинические последствия [3,5]. Установлено, что при носительстве генов, ассоциированных с быстрым метаболизмом лекарственных средств (ЛС), наблюдается снижение эффективности антиконвульсантов; напротив, при наличии генотипов, ассоциированных с медленным метаболизмом ЛС-субстратов, часто возникают побочные эффекты, связанные с кумуляцией препаратов в плазме крови. Выявление ассоциаций: полиморфных аллелей генов у больных эпилепсией и направленность ответов на лекарственную терапию позволяет разрабатывать методы персонализированной терапии с учетом биохимической индивидуальности каждого пациента. Концепция персонализированной медицины все больше привлекает внимание специалистов, поскольку особенности метаболизма конкретного больного определяет в целом эффективность лечения заболевания [1,6]. Проблема рациональной антиэпилептической терапии особенно актуальна для больных с фармакорезистентной эпилепсией [4]. Цель исследования – изучить частоту полиморфных генотипов CYP2C19 у детей резистентным течением эпилепсии.

Материалы и методы: Фармакогенетическое тестирование проведено у 30 детей с различными формами фармакорезистентной эпилепсии (средний возраст $7,1 \pm 5,1$ лет). В качестве биологического материала использовалась цельная кровь, полученная из кубитальной вены, собранная в пробирки с ЭДТА. Определение полиморфизма CYP2C19 (по полиморфному маркеру G681A) осуществляли методом полимеразной цепной реакции, предварительно выделив ДНК из образцов крови, в лаборатории Научно-исследовательского института акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург.

Результаты: С учетом данных комплексной оценки клинических, лабораторных, электрофизиологических, нейровизуализационных методов исследования были диагностированы следующие формы эпилепсии: синдром Веста – 9 чел., симптоматическая лобная эпилепсия – 6 чел., симптоматическая височная эпилепсия – 8 чел., криптогенная

генерализованная эпилепсия – 7 чел. Все пациенты получали комбинированную антиэпилептическую терапию: препараты вальпроевой кислоты в следующих сочетаниях: с топираматом (40 %), с леветирацетамом (40 %), с трилепталом (20 %), с томироматом и леветирацетамом (по 10 %). Средняя суточная дозировка вальпроевой кислоты была в пределах $32,3 \pm 5,2$ мг/кг/сут. На этом фоне значительного контроля над приступами добиться не удавалось. Результаты фармакогенетического исследования были следующими: генотип GA (гетерозиготный), ассоциированный с медленным метаболизмом лекарственных средств-субстратов CYP2C19, оперелен у 9 пациентов (30%). Другой генотип AA (гомозиготный A), ассоциированный с медленным метаболизмом, выявлен не был. Генотип GG, ассоциированный с быстрым метаболизмом АЭП, обнаружен у 21 больного (70 %). Отмечалась достоверная разница в концентрации препаратов вальпроевой кислоты между пациентами с различным полиморфизмом генов CYP2C19: генотип GG – $57,4 \pm 5,6$ мкг/мл; генотип GA – $79,2 \pm 7,5$ мкг/мл ($p < 0,01$).

Заключение: Пациенты с генотипом GG нуждаются в назначении более высоких доз препаратов вальпроевой кислоты, поскольку быстрая биотрансформация АЭП способствует снижению терапевтической их концентрации в крови. Носители генотипов AA, напротив, нуждаются в медленном титровании дозы, поскольку относятся к группе риска по нежелательным побочным реакциям, связанным с медленной биотрансформацией и кумуляцией препаратов.

Список литературы:

1. Гузева О.В. 2014. Оптимизация диагностики и обоснование персонализированной терапии эпилепсии у детей: Дис. ...докт. мед. наук. С-Пб: 2014; 361 с.
2. Kwan P., Brodie M.T. 2000. Early identification of refractory epilepsy. N. Engl. J. Med. 2000; 342: 314-319.
3. Klotz, U. 2007. The role of pharmacogenetics in the metabolism of antiepileptic drugs: pharmacokinetic and therapeutic implications / U. Klotz // Clin. Pharmacokinet. - 2007. - Vol. 46, № 4. - P. 271-279.
4. Loscher, W. 2009. Molecular mechanisms of drug resistance in status epilepticus / W. Loscher // The Innsbruck Colloquium on Status Epilepticus, 2-4 April 2009. - Innsbruck, 2009. - P. 34.
5. Сычев ДА., Раменская ГВ., Игнатъев ИВ. 2007. Клиническая фармакогенетика: уч. пособ. Под ред. академика РАМН В.Г. Кукеса и академика РАМН Н.П. Бочкова. М: 2007; 248 с.
6. Шнайдер НА., Сычев ДА., Бочанова ЕН., Шаповалова ЕА., Дмитренко ДВ., Пилюгина М.С. 2011. Значение фармакогенетики вальпроевой кислоты в индивидуальном подходе к лечению страдающих эпилепсией женщин фертильного возраста. Журнал неврологии и психиатрии. Эпилепсия. 2011; 5: с. 31-37.

**Мутации гена транстиретина в группе пациентов
с поражениями миокарда в Санкт-Петербурге**

Шавловский М.М.^{1,2,3}, Грудина Н.А.¹, Соловьев К.В.¹, Гудкова А.Я.³,
Семернин Е.Н.³, Крутиков А.Н.³, Полякова А.А.³, Шляхто Е.В.³*

¹ Институт экспериментальной медицины
ул. акад. Павлова 12, Санкт-Петербург 197376, Россия

*E-mail: mmsch@ramdler.ru

² СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³ Первый СПб МГУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

*Ключевые слова: белки фибриллогенные, амилоидозы,
транстиретин, мутации, ген транстиретина, кардиомиопатии*

**Transthyretin gene mutations in patients with myocardial diseases in St.
Petersburg**

Shavlovsky M.M.^{1,2,3}, Grudinina N.A.¹, Solovyov K. V.¹, Gudkova A.Ya.³,
Semernin E.N.³, Krutikov A.N.³, Polaykova A.A.³, Shlaykhto E.N.³*

¹ Institute of Experimental Medicine
acad. Pavlov str. 12, St. Petersburg 197376, Russian Federation,

*E-mail: mmsch@ramdler.ru

² North-Western State Medical University n. a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg,
Russian Federation

³ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian
Federation

*Key words: fibrillogenic proteins, amyloidoses, transthyretin, mutations,
transthyretin gene, cardiomyopathy*

Введение: Среди редких заболеваний особое место занимают амилоидозы, или конформационные протеопатии, причиной которых являются нарушения пространственной организации белковых молекул. В настоящее время число амилоидозов достигло 31 [1]. Из амилоидозов наиболее известны болезнь Альцгеймера и осложнения диабета типа 2. К наследственным амилоидозам в первую очередь относится транстиретиновый амилоидоз (мутации в гене транстиретина), главными проявлениями которого являются симптомы со стороны нервной системы и миокарда [2]. Поскольку наиболее значимыми при этом амилоидозе являются поражения сердечной мышцы, нами была предпринята попытка определения спектра мутаций в гене транстиретина у больных с рестриктивными кардиомиопатиями, находящихся на лечении в клинике факультетской терапии 1 СПбМГУ им. акад. И.П. Павлова.

Материалы и методы: Всего обследованы около 300 больных. Забор крови и последующий анализ осуществлялись с учетом информированного согласия пациентов. Исследование включало выделение образцов ДНК из клеток крови пациентов и поиск мутаций гена транстиретина при помощи

анализа ПЦР-продуктов всех 4 экзонов. Дальнейшая идентификация мутаций осуществлялась путем секвенирования.

Результаты: Выявлены пациенты, в структуре транстиретинового гена которых были обнаружены нуклеотидные замены [3-5]. Наиболее частыми оказались изменения, приводящие к заменам V30M в белке. Данная мутация является наиболее распространенной в мире причиной развития семейной (наследственной) полинейропатии [2]. Наши случаи уникальны в том плане, что эта мутация была обнаружено у больных с поражением сердца. Ретроспективный анализ позволил установить, что эти пациенты первоначально страдали расстройствами со стороны периферической нервной системы. Однако диагноз наследственного амилоидоза был поставлен, к сожалению, на стадии кардиомиопатии. Помимо пациентов с точно установленными амилоидогенными мутациями, в обследованной группе больных были выявлены носители других мутаций в гене транстиретина. С учетом данных литературы нам кажется интересным повышенный уровень изменений в структуре гена транстиретина в группе больных с повреждением миокарда. Конечно, эти случаи не являются проявлением амилоидоза, но могут быть использованы для оценки генетического статуса больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями при мета-анализе данных разных исследований.

Выводы: Полученные нами результаты изучения спектра мутаций в гене транстиретина согласуются с данными литературы. Молекулярно-генетическое подтверждение диагноза транстиретинового амилоидоза весьма важно с точки зрения дифференциальной диагностики между транстиретиновым и легкоцепевым амилоидозами, при которых стратегия терапии абсолютно различна.

Список литературы:

12. Sipe J.D. et al. Nomenclature 2014: Amyloid fibril proteins and clinical classification of the amyloidosis. Amyloid 2014,e1744-2818.
13. Connors L.H. et al. Tabulation of transthyretin (TTR) variants. *Amyloid* 2003, 10: 160-184.
3. Шавловский М.М. Молекулярные и генетические основы этиопатогенеза амилоидозов. *Медицинский академический журнал* 2010, 10(4): 63-81.
4. Соловьев К.В., Грудинина Н.А., Семернин Е Н, Морозова И.В., Смирнова С.А., Поляков Д.С., Алейникова Т.Д., Шляхто Е.В., Гудкова А.Я., Шавловский М.М. Мутации V30M, H90N и del9 в гене транстиретина у больных с кардиомиопатиями в Санкт-Петербурге. *Генетика* 2011, 47(4): 543-549.
5. Семернин Е.В., Полякова А.А., Крутиков А Н., Козленок А.В., Стрельцова А.А., Грудинина Н.А., Соловьев К.В., Скоромец АА., Рыбакова М.Г., Шляхто Е.В., Шавловский М.М., Гудкова А.Я.

Системные формы амилоидоза в когорте пациентов с рефрактерной хронической сердечной недостаточностью в Санкт-Петербурге. Сборник научных трудов конференции "Редкие (орфанные) заболевания и врожденные пороки развития. Современные возможности диагностики, профилактики, лечения и реабилитации" К 45-летию Медико-генетического центра 2014: 204-217.

Прогностическое значение молекулярно-генетической диагностики синдрома Жильбера у пациентов ВРТ и кандидатов в доноры ооцитов

Щелочков А.М.

«Медицинская компания ИДК» ГК «Мать и дитя»,

Энтузиастов ул., 29, г. Самара, Российская Федерация, 443067

Тел. +7 (800) 250-24-24, e-mail: sshel@mail.ru

Ключевые слова: ВРТ, ЭКО, донорство ооцитов, синдром Жильбера

Prognostic value of molecular genetic diagnostics of Gilbert syndrome in ART programs (IVF) patients and in candidates for oocyte donation

Shchelochkov A.M.

"Medical Company IDK" GC "Mother and Child",

Enthusiast's str., 29, Samara, Russian Federation, 443067

Tel. +7 (800) 250-24-24, e-mail: sshel@mail.ru

Key words: ART, IVF oocyte donation, Gilbert's syndrome

Введение: Синдром Жильбера (ОМIM 143500) известен как доброкачественная ферментопатия, обусловленная мутацией в промоторной части гена UGT1A1 (динуклеотидная инсерция в области ТА повтора – 7 вместо 6) [1]. Синонимы синдрома «пигментный гепатоз», «доброкачественная семейная гипербилирубинемия» отражают общепринятое отношение к данной ферментопатии как к незначительной, своего рода некоторой особенности организма. Однако симптомокомплекс гипербилирубинемии может в значительной степени снизить качество жизни. Пациенты испытывают кожные проявления, расстройства пищеварения, раздражительность, депрессии, утомляемость, снижение памяти, в детском

возрасте – плохую успеваемость, стрессы [2]. В течение всей жизни пациенты вынуждены соблюдать ограничения в диете (мясо, жареные или жирные продукты, пряности, консервированные продукты), физических нагрузках (профессиональный спорт недопустим), избегать стрессов и умственных нагрузок, ограничивать время инсоляций, исключить алкоголь. Существенным фактором является то, что прием многих лекарственных препаратов может спровоцировать обострения [3]. Поскольку пациенты, проходящие лечение методами (экстракорпоральное оплодотворение, ЭКО) и доноры ооцитов подвергаются медикаментозной гормональной стимуляции овуляции, то у пациентов с синдромом Жильбера высока вероятность гипербилирубинемии, следствием которой является отмена проводимого лечения и связанные с этим материальные и моральные потери, что нередко встречается в практике клиник ЭКО.

Целью данного исследования явилось определение прогностического риска обострения синдрома Жильбера у кандидатов в доноры ооцитов при назначении им гормональной терапии (индукции овуляции).

Материал и методы: Проведено молекулярно-генетическое исследование у кандидатов в доноры ооцитов и пациентов с гипербилирубинемией на наличие мутации гена UGT1A1 методом ПЦР для выяснения частоты носительства различных вариантов мутации гена синдрома Жильбера.

Результаты: Всего обследованы 50 пациентов. В первой группе (25 человек) были кандидаты в доноры ооцитов, соматически здоровые, получившие допуск терапевта. Во второй группе (25 пациентов) были обследуемые по направлениям лечащих врачей для исключения синдрома Жильбера. В первой группе была выявлена мутация гена UGT1A1 в гомозиготе у 4%, в гетерозиготе у 36%. Во второй группе у 36% обследуемых была выявлена гомозигота мутации гена UGT1A1 и гипербилирубинемия (общий билирубин в крови выше 20 мкмоль/л) и у 40% выявлена гетерозигота при нормальном уровне билирубина.

Выводы: Выявлено, что гомозиготное носительство мутации гена UGT1A1 ассоциировано с повышенной частотой гипербилирубинемии, что может являться осложнением гормональной стимуляции овуляции. У таких пациентов высок риск отмены программ ЭКО или программ донации ооцитов. Среди условно здоровых кандидатов в доноры ооцитов и пациентов, проходящих лечение методами вспомогательных репродуктивных технологий (ЭКО), 4% являются носителями гомозиготной мутации гена UGT1A1, и стимуляция овуляции может вызвать у них отмену соответствующей программы. В связи с этим рекомендуется предварительное обследование данных категорий пациентов для профилактики гипербилирубинемии или принятия решения о допуске к донорству.

Список литературы:

1. Claridge LC, Armstrong MJ, Booth C, Gill PS. Gilbert's syndrome. BMJ 2011, 342:d2293.
2. Радченко ВГ, Шабров АВ, Зиновьева ЕН. Основы клинической гепатологии. Заболевания печени и билиарной системы. Диалект; М.: «БИНОМ», 2005г.
3. Sticova E, Jirsa M. New insights in bilirubin metabolism and their clinical implications. World J Gastroenterol 2013, 19: 6398-6407.

Регулярные структурные хромосомные перестройки, приводящие к появлению мозаичных аномалий: доказательство существования локус-специфичной конституциональной хромосомной нестабильности
 Юров И.Ю.^{1,2,3}, Ворсанова С.Г.^{1,2,4}, Зеленова М.А.^{1,2,4}, Колотий А.Д.^{1,2},
 Демидова И.А.^{1,2,4}, Кравец В.С.^{1,2,4}, Гордеева М.Л.², Юров Ю.Б.^{1,2,4}

¹ Научный центр психического здоровья, Россия

² Обособленное структурное подразделение РНИМУ им. Н.И. Пирогова «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии» Минздрава России

³ Российская Медицинская Академия Последипломного Образования, Россия

⁴ Московский городской психолого-педагогический университет, Россия
 Загородное шоссе 2, Москва 117152, Российская Федерация
 Тел.: +74959528990, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Ключевые слова: структурные хромосомные перестройки, мозаичные перестройки, локус-специфичная хромосомная нестабильность

Regular structural chromosome rearrangements leading to mosaicism: evidence for the existence of locus-specific constitutional chromosome instability
 Iourov I.Y.^{1,2,3}, Vorsanova S.G.^{1,2,4}, Zelenova M.A.^{1,2,4}, Kolotii A.D.^{1,2}, Demidova I.A.^{1,2,4}, Kravets V.S.^{1,2,4}, Gordeeva M.L.², Yurov Y.B.^{1,2,4}

¹ Mental Health Research Center, Russian Federation

² Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Federation

³ Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Federation

⁴ Moscow State University of Psychology and Education, Russian Federation
 Zagorodnoe sh. 2, Moscow 117152, Russian Federation
 Tel.: +74959528990, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Keywords: structural chromosomal rearrangements, mosaic rearrangements, locus-specific chromosome instability

Введение: Происхождение соматических изменений генома, проявляющихся в виде структурных хромосомных перестроек, остается неизвестным. Тем не менее, общепризнано, что восприимчивость к структурным хромосомным перестройкам может являться следствием изменений последовательности ДНК, фланкирующих точки разрыва или хромосомных перестроек [1].

Цель работы: Проанализировать изменения генома у 200 детей с умственной отсталостью, аутизмом, эпилепсией и/или врожденными пороками развития.

Методы исследования: Высокоразрешающее молекулярное кариотипирование (1кб и более).

Результаты и обсуждение: Было обнаружено, что мозаичные соматические структурные хромосомные перестройки могут находиться в одном участке с регулярными. Мы выявили 8 случаев (4%) (4 дупликации и 4 делеции), в которых небольшие регулярные хромосомные перестройки находились в участках, затронутых большими по размеру мозаичными делециями и дупликациями. Обнаруженные перестройки были следующими: мозаичная дупликация dup3p26.3p26.1 (5,8 Мб) и регулярная дупликация dup3p26.1 (2,9 Мб); мозаичная дупликация dup14q32.13q32.2 (4,5 Мб) и регулярная дупликация dup14q32.2 (1,8 Мб); мозаичная дупликация dup17p13.1p11.2 (6,9 Мб) и регулярная дупликация dup17p12 (1,4 Мб); мозаичная дупликация dup18p11.32p11.31 (5,3 Мб) и регулярная дупликация dup18p11.32p11.31 (4,8 Мб). Также были выявлены следующие делеции: мозаичная делеция del5q35.1q35.3 (9,2 Мб) и регулярная делеция del5q35.2q35.3 (2,3 Мб); мозаичная делеция del14q11.2 (2,2 Мб) и регулярная делеция del14q11.2 (0,5 Мб); мозаичная делеция del15q13.1q14 (8,2 Мб) и регулярная делеция del15q13.2q13.3 (2 Мб); мозаичная делеция delXp22.32p22.2 (4,7 Мб) и регулярная делеция delXp22.31 (0,7 Мб). Полученные данные позволяют предположить, что небольшие регулярные структурные изменения (CNV) могут лежать в основе локус-специфической конституциональной хромосомной нестабильности, приводящей к большим соматическим перестройкам. Наше предположение поддерживается предыдущими исследованиями изменений, характерных для определенных участков генома и лежащих в основе микроделеций и дупликаций в некоторых из вышеописанных участков [2-4].

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-15-00411).

Список литературы:

1. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. 2014. In silico molecular cytogenetics: a bioinformatic approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research. *Molecular cytogenetics*, 7(1), 1-11.

2. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Соловьев И.В., Юров Ю.Б. 2008. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клинико-биологические аспекты. М.: Медпрактика.
3. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. 2014. Геномные и хромосомные болезни центральной нервной системы. Молекулярные и цитогенетические аспекты. Москва, МЕДПРАКТИКА-М, 384с.
4. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Kurinnaia O.S., Zelenova M.A., Silvanovich A.P., Yurov Y.B. 2012. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies. *Molecular Cytogenetics*, V5, №1, 10.

Анеуплоидия аутосом при заболеваниях головного мозга

Юров И.Ю.^{1,2,3}, Зеленова М.А.^{1,2,4}, Ворсанова С.Г.^{1,2,4}, Шаронин В.О.¹, Юров Ю.Б.^{1,2,4}

¹ Научный центр психического здоровья, Россия

² Обособленное структурное подразделение — НИКИ педиатрии РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

³ Российская медицинская академия последипломного образования

⁴ Московский городской психолого—педагогический университет
Загородное шоссе 2, Москва 117152, Россия

Тел.: +74959528990, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Ключевые слова: головной мозг, анеуплоидия, аутосомы, заболевания головного мозга

Autosomal aneuploidy in the diseased brain

Iourov I.Y.^{1,2,3}, Zelenova M.A.^{1,2,4}, Vorsanova S.G.^{1,2,4}, Sharonin V.O.¹, Yurov Y.B.^{1,2,3}

¹ Mental Health Research Center, Russian Federation

² Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Federation

³ Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Federation

⁴ Moscow State University of Psychology and Education, Russian Federation
Zagorodnoe sh. 2, Moscow 117152, Russian Federation

Tel.: +74959528990, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Keywords: the human brain, aneuploidy, autosomes, brain disorders

Введение: Многочисленные исследования показывают, что анеуплоидия аутосом приводит к заболеваниям, характеризующимся нарушением нервно-психических функций. Однако в настоящее время большинство подобных исследований проводится на лимфоцитах периферической крови, реже – на буккальном эпителии и клетках кожи, тогда как на данный момент

известно, что повышенные уровни анеуплоидии по определенным хромосомам обнаруживаются у пациентов с психическими заболеваниями в клетках головного мозга [1]. По-видимому, повышенные уровни анеуплоидии разных аутосом связаны с нарушениями работы мозга [2]. Однако для подтверждения этого предположения и определения вклада отдельной хромосомы в патогенез заболевания необходимо рассматривать каждую хромосому в отдельности, как в контрольной группе, так и у пациентов с болезнями мозга [3].

Цель работы: Проанализировать результаты исследований по анеуплоидии в головном мозге на примере хромосомы 21, имеющей характерные фенотипические проявления при обнаружении в клетках крови (регулярная форма моносомии по данной хромосоме является летальной, трисомия приводит к синдрому Дауна).

Результаты и обсуждение: Исследования головного мозга индивидуумов без признаков нервных и психических заболеваний позволили определить фоновый уровень анеуплоидии хромосомы 21 как 4%. Изучение пациентов с болезнями мозга выявило повышение уровня анеуплоидии хромосомы 21 в головном мозге у взрослых с болезнью Альцгеймера, в некоторых случаях до 15%. Важно отметить, что в головном мозге индивидуумов с синдромом Дауна к 30 годам наблюдаются изменения, которые при гистологическом исследовании неотличимы от обнаруживаемых при болезни Альцгеймера, а также отмечаются проявления деменции и нейродегенерации. Предполагается, что увеличение числа копий гена *APP*, продуцирующего белок - предшественник бета-амилоида и расположенного на хромосоме 21, приводит к патологическим изменениям в мозге. В качестве вероятной причины анеуплоидии хромосомы 21 в головном мозге называют нарушение цикла деления клетки, в частности нерасхождение хромосом [4]. Таким образом, показано, что результаты исследований уровня анеуплоидии определенных хромосом в клетках головного мозга и лимфоцитах периферической крови различаются, что является основанием для дополнительного изучения отдельной хромосомы как в клетках крови, так и головного мозга пациентов с нервно-психическими заболеваниями и в контрольных группах.

Исследование осуществлено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-35-00060).

Список литературы:

1. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Соловьев И.В., Юров Ю.Б. 2008. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клинико-биологические аспекты. М.: Медпрактика.
2. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. 2008. Molecular cytogenetics and cytogenomics of brain diseases. *Curr. Genomics*, Vol. 9, P.452 – 465.
3. Yurov Y. B., Vorsanova S. G., Iourov I. Y. 2009. GIN'n'CIN hypothesis of brain aging: deciphering the role of somatic genetic instabilities and neural aneuploidy during ontogeny. *Molecular cytogenetics*, 2, 23.

4. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Liehr T, Yurov Y.B. 2009. Aneuploidy in the normal, Alzheimer's disease and ataxia-telangiectasia brain: differential expression and pathological meaning. *Neurobiology of Disease*, 34, P.212–220.

Организация и нестабильность генома в мозге при шизофрении

Юров Ю.Б.^{1,2,3}, Ворсанова С.Г.^{1,2,3}, Лиер Т.⁴, Юров И.Ю.^{1,2,5}

- ¹ ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Российская Федерация
² Обособленное структурное подразделение РНИМУ им. Н.И. Пирогова «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии» Минздрава России
³ Московский городской психолого-педагогический университет, Россия
⁴ Институт генетики человека, Йена, Германия.
⁵ Российская Медицинская Академия Последипломного Образования, Россия
 Загородное шоссе, 2, Москва 117152, Россия
 Тел.: +74959528990, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Ключевые слова: хромосомная/геномная нестабильность, мозг при шизофрении, организация генома

The organization and instability of genome in the brain of schizophrenia patients

Yurov Y.B.^{1,2,3}, Vorsanova S.G.^{1,2,3}, Liehr T.⁴, Iourov I.Y.^{1,2,5}

- ¹ Mental Health Research Center, Russian Federation
² Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Federation
³ Moscow State University of Psychology and Education, Russian Federation
⁴ Institute of Human Genetics, Jena, Germany
⁵ Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Federation
 Zagorodnoe sh. 2, Moscow 117152, Russian Federation
 Tel.: +74959528990, e-mail:ivan.iourov@gmail.com

Keywords: chromosome/genome instability, schizophrenia brain, genome organization

Введение: Неоднократно отмечалось, что хромосомная/геномная нестабильность и аномалии влияют на головной мозг при шизофрении. Кроме того, специфическим изменениям в организации генома сопутствует геномная нестабильность, что предполагает наличие клеточного (эндо) фенотипа [1-3].

Цель работы: Исследовать нестабильность и организацию генома на уровне хромосом в головном мозге при шизофрении.

Материалы и методы: Для проведения исследования было использовано интерфазное хромосом-специфичное многоцветное окрашивание (ICS-МСВ) [3, 4]. Были проанализированы 12 образцов головного мозга пациентов с шизофренией и 12 образцов мозга индивидуумов из контрольной группы.

Результаты и обсуждения: Обнаружены значительные различия между результатами анализа мозга пациентов с шизофренией и индивидуумов из контрольной группы. Расположение хромосом в интерфазных ядрах в мозге при шизофрении полностью отличается от такового в контрольной группе. Было выявлено, что количество клеток с геномной/хромосомной нестабильностью, проявляющейся в форме анеуплоидии и разрывов в хромосоме 1, составляет 10-40%. Практически все клетки демонстрировали фенотип, характерный для хромосомной нестабильности. Кроме того, в 23-48% клеток головного мозга больных шизофренией отмечалась локализация хромосомы 1 на периферии ядра, в отличие от контрольных индивидов, у которых хромосома 1 находилась около ядрышка. Так как вышеупомянутая ядерная организация характерна для клеточных популяций, в которых отмечается хромосомная нестабильность [2], мы предположили, что эти изменения могут способствовать возникновению нестабильности генома в клетках головного мозга при шизофрении. Соответственно, внутриядерная организация хромосом в клетках головного мозга, предположительно, является новым (ранее не описанным) эпигенетическим механизмом шизофрении.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-35-00060).

Список литературы:

1. Yurov Y.B., Vostrikov V.S., Vorsanova S.G., Monakhov V.V., Iourov I.Y. 2001. Multicolor fluorescent in situ hybridization on post-mortem brain in schizophrenia as an approach for identification of low-level chromosome aneuploidy in neuropsychiatric diseases. *Brain Development*, V.23, N12, P.186-190.
2. Iourov I. Y., Vorsanova S. G., Yurov Y. B. 2006. Chromosomal variation in mammalian neuronal cells: known facts and attractive hypotheses. *International review of cytology*, 249, 143-191.
3. Yurov Yu. B., Iourov I.Yu., Vorsanova S.G., Demidova I.A., Kravets V.S., Beresheva A.K., Kolotii A.D., Monakhov V.V., Uranova N.A., Vostrikov V.M., Soloviev I.V., Liehr T. 2008. The schizophrenia brain exhibits low-level aneuploidy involving chromosome 1. *Schizophrenia Research*, Vol.98, P.139-147.
4. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. 2012. Single cell genomics of the brain: focus on neuronal diversity and neuropsychiatric diseases. *Current Genomics*, 13, P.477-488.

Наследственные болезни в офтальмологии: 30 лет наблюдения*Январева О.К.¹, Мхеидзе М.О.²*¹Медицинский центр СПбГУ

Университетская наб. 7-9, Санкт-Петербург 199034, Россия

+7 (812) 3282000, okjanw@yandex.ru²Научно-исследовательский детский ортопедический институт
им. Г.И. Турнера*Ключевые слова: глазные болезни, наследственные болезни***Hereditary diseases in ophthalmology: 30 years of observation***Janvareva O.K.^{1*}, Mkhaidze M.O.²*¹Medical Centre of St. Petersburg State University, Russian Federation

Universitetskaya nab. 7-9, St. Petersburg 199034, Russian Federation

+7 (812) 3282000, okjanw@yandex.ru²The Turner Research Institute for Children's Orthopaedics, Russian Federation*Key words: ophthalmic disorders, hereditary diseases*

Введение: Диагностика врожденных и наследственных заболеваний не является раритетной для современной мировой офтальмологической практики. Установление типа наследования заболевания открывает путь к корректному прогнозу и медико-генетическому консультированию. Целью настоящего исследования явилась диспансеризация больных с наследственной патологией, их кровных родственников для выявления групп риска развития наследственного поражения органа зрения, для уточнения прогноза течения заболевания и прогноза потомства.

Материалы и методы: 25814 пациентов в возрасте 1мес.-30 лет консультированы нами с 1985 г. до 2015г. Используются стандартные офтальмологические методики и методы медико-генетического исследования пробандов и их кровных родственников.

Результаты: 405 пациентов (1,57%) страдали врожденными и наследственными заболеваниями. В их число вошли моногенные формы: 1) заболевания с аутосомно-доминантным типом наследования (АД): вителлиформная макулярная дистрофия, болезнь Беста, (n-30), синдром Марфана (n-5), синдром Ваарденбурга (n-12), синдром Гольденхара (n-6), синдром Крузона (n-2), синдром Прингла-Бурневилля (n-1), синдром Ригера (n-1), синдром Стоджа-Вебера-Краббе (n-3); 2) заболевания с аутосомно-рецессивным типом наследования (АР): альбинизм, 59,3% обследованных, синдром Аша (Usher syndrome, n-24), синдром Эллерса-Данло VI типа (n-1), макулодистрофии Гольдманна-Фавре (n-3) и Штаргардта (n-10); 3) заболевания с X-сцепленным типом наследования: синдром Блоха-Сульцбергера (ХД, n-5); 4) болезни лизосомного накопления, в том числе GM2 ганглиозидозы: болезнь Тея-Сакса (АР, n-3), болезнь Сандхоффа (АР, n-2); мукополи-

сахаридозы МПСІ (АР, n-1) и МПСІV (АР, n-1); нейрональные цероидные липофуусцинозы: болезнь Баттена-Фогта-Шпильмеера (АР, n-1), болезнь Бильшовски-Янски (АР, n-1); 5) генетически гетерогенная тапеторетинальная абиотрофия типа пигментного ретинита Лебера (n-15). Из группы хромосомных больных под нашим наблюдением находились больные с трисомией 21 (болезнь Дауна, n-37). Эмбриопатии представлены синдромом Грегга (n-1).

Генеалогический анализ позволил выявить кровных родственников пробандов не только с ранними признаками заболеваний глаз, но и с их латентными формами. Все пациенты получали специализированную, адекватную диагностическую и лечебную помощь в ходе диспансерного наблюдения.

Выводы:

1. У офтальмологических больных представлен широкий спектр наследственных заболеваний с АД, АР и X-сцепленным типом наследования, а также хромосомные болезни.
2. На основании генеалогического анализа установлены группы риска по наследственной патологии для дальнейшего диспансерного наблюдения.
3. Осуществлено медико-генетическое консультирование в семьях пробандов.
4. Выявление патологии органа зрения как раннего симптома мультиорганного поражения – залог ранней диагностики наследственного заболевания.

КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

Клиническое наблюдение болезни Ниманна-Пика тип С, выявленной в условиях психиатрического отделения

Волкова И.А.¹, Поляков Ю.И.¹, Булатникова М.А.²

¹Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН, Санкт-Петербург, Россия

²Медицинский центр «Покровский» Покровского банка стволовых клеток, Санкт-Петербург, Россия

Case report of Niemann-Pick disease (type C) detected in a psychiatry unit

Volkova I.A.¹, Polyakov Yu.I.¹, Bulatnikova M.A.²

¹Human brain institute n. a. N.P. Bekhtereva, St. Petersburg, Russian federation

²Stem cell bank Pokrovsky, St. Petersburg, Russian Federation

Tel. +7(921)9584157, e-mail: anatrina@gmail.com

Болезнь Ниманна-Пика тип С - наследственное нейродегенеративное заболевания из группы лизосомных болезней накопления. Этиопатогенез за-

болевание связан с мутациями в генах NPC1 и NPC2, кодирующими внутрилизосомальные белки участвующие в метаболизме холестерина, сфинголипидов. Разработана и используется в лечебных целях патогенетическая терапия – препарат миглустат. Клиническая диагностика БНП-С представляет значительные сложности, что обусловлено широким фенотипическим полиморфизмом заболевания. В настоящее время разработана шкала вероятности Ниманна-Пика С. Вертикальный офтальмопарез и геластическая катаплексия, включенные в нее, наиболее патогномоничны для данного заболевания.

Больная Б., 14 лет, поступила на отделение впервые. Со слов матери, беспокоят прогрессирующее интеллектуально-мнестическое снижение, наличие приступов «выраженной мышечной слабости», периодически сопровождающихся падениями без утраты сознания на фоне смеха, радости (геластическая катаплексия), нарушение мелкой моторики рук, походки, нарушения глотания, дневной энкопрез. Предъявляемые жалобы возникли и достаточно быстро прогрессировали с 9-летнего возраста по настоящее время. В анамнезе малый вес при рождении (2,9 кг), выраженная желтуха новорожденных, ветрянка и краснуха в 7 лет. До начала заболевания в психомоторном развитии не отставала. В течение всего периода болезни наблюдалась по поводу идиопатической эпилепсии, деменции, невроза) без какого-либо эффекта от терапии. При обследовании обращала на себя внимание нетипичность для перечисленных выше заболеваний нарушений как в психическом, так и в неврологическом статусе. При объективном осмотре: пациентка в формально ясном сознании, контакту доступна. Ориентирована в собственной личности полностью, в пространстве приблизительно, во времени дезориентирована. На вопросы отвечает односложно, формально, понимает только простые короткие предложения. Эмоции обеднены, но в целом адекватны. Подчиняема, добродушна. Мышление конкретное. Выраженные признаки амнестического расстройства. Хорошо сохранены навыки письма, читает, но информацию не усваивает. Счет с затруднениями в пределах десяти. Гностических нарушений нет, праксис нарушен. Выражена повышенная истощаемость психических процессов. В непривычной ситуации становится тревожной с усилением стереотипных действий. В неврологическом статусе: походка спастико-атактическая. Со стороны ЧМН: горизонтальный нистагм, вертикальный надъядерный офтальмопарез, дизартрия. Рефлексы с рук оживлены, больше слева. Коленно-пяточная проба с атаксией с двух сторон. Тонус в левой руке повышен по экстрапирамидному типу, в ногах по пирамидному типу. Шаткость в позе Ромберга. Нарушение мелкой моторики в руках. Соматически без актуальной патологии. ЭЭГ мониторинг: полиморфная эпилептиформная активность высокой мощности в бодрствовании и во время сна. МРТ головного мозга: Смешанная заместительная гидроцефалия. ПЭТ с F¹⁸ дезоксиглюкозой: гипометаболизм глюкозы в медиальной коре лобных долей, конвекситальной коре лобной и височной долей левого большого полушария, левом зрительном бугре, в стволе и мозжечке. Учитывая наличие типичной клинической картины болезни Ниманна-Пика тип С, пациентке был выстав-

лен клинический диагноз данного заболевания, который подтвержден молекулярно-генетически: методом прямого секвенирования выявлены две патогенные мутации в компаундном состоянии с.3041+2delT и с.2438C>G (pSer813Term).

Многостороннее обследование пациентов с нетипичной клинической картиной в рамках психиатрического отделения многопрофильной клиники позволяет улучшить диагностику и прогноз, благодаря разработанной терапии, у пациентов с редко встречающимися нейрометаболическими болезнями.

Подбор персонализированной терапии у больного с симптомной наследственной тромбофилией и гипергомоцистеинемией

*Васильев Д.В. *, Васильева О.В.*

*Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьков, Украина

Корчагинцев ул., 58, Харьков, Украина, 61176

*Тел.: +380677514549, e-mail: vasilyevd@yandex.ru

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина
Ключевые слова: тромбофилия, гипергомоцистеинемия, молекулярная диагностика, лечение

Selection of a personalized treatment for a patient with symptomatic hereditary thrombophilia and hyperhomocysteinemia

*Vasylyev D.V. *, Vasylieva O.V.*

*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Study, Kharkiv, Ukraine

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

Korchagintsev Str., 58, Kharkiv, Ukraine, 61176

*Tel.:+ 380677514549, e-mail: vasilyevd@yandex.ru

Key words: thrombophilia, hyperhomocysteinemia, molecular diagnostics, treatment

Введение: Большое практическое значение на современном этапе развития молекулярной медицины приобретают исследования полиморфизмов генов предрасположенности к кардиоваскулярным заболеваниям. Последнее десятилетие отмечено значительным ростом числа исследований, посвященных гипергомоцистеинемии (ГГЦ) как одной из причин, обуславливающих развитие тромбофилии [1]. Гомоцистеин (ГЦ) обладает выраженным токсическим действием, проявляющимся прежде всего нарушением эндотелиальной функции, поэтому повышение уровня ГЦ в крови имеет выраженный атерогенный и тромбофилический эффекты. Последние вызваны токсическими метаболитами ГЦ, которые повреждают эндотелий сосудов, обнажая

субэндотелиальный матрикс и гладкомышечные клетки, что стимулирует агрегацию тромбоцитов и тромбообразование [3]. **Цель работы:** Иллюстрация возможности подбора персонализированной патогенетической терапии у пациента с наследственной тромбофилией и ГГЦ по результатам биохимических и молекулярно-генетических исследований.

Материал и методы: Анализ клинического наблюдения 40-летнего пациента П., находившегося на лечении в ГУ «ИОНХ им. В.Т. Зайцева НАМНУ» с диагнозом: острый рецидивный тромбоз глубоких вен (ТГВ) правой нижней конечности.

Результаты: Пациент поступил в клинику с проявлениями острого рецидивного ТГВ правой нижней конечности, подтвержденного результатами ультразвукового дуплексного флебоангиосканирования с проведением компрессионных проб. Генеалогический анализ выявил отягощенность родословной сердечно-сосудистой патологией по материнской линии. Лабораторно-клинический анализы крови, мочи и общебиохимический анализы особенностей не выявили. При проведении дополнительного биохимического обследования крови выявлено повышение уровня ГЦ до 40,79 (при норме 5,46-16,2) мкмоль/л. Учитывая рецидив острого ТГВ правой нижней конечности у больного с ГГЦ, а также отягощенность родословной сердечно-сосудистой патологией, больному было рекомендовано молекулярное исследование генов, ассоциированных с развитием тромбофилий. В результате ПЦР-исследования образцов крови у больного обнаружено наличие гомозиготного компаунда полиформизмов G20210A A/A гена F2-протромбина и A222V (677 C/T) гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), а также гетерозиготное носительство лейденской мутации (гена F5 G1691A).

Заключение: Известно, что в обычном состоянии у носителя лейденской мутации может и не быть тромбозов. Тромбозы развиваются при наличии факторов риска [2]: ГГЦ, мутации MTHFR и гена протромбина, что имело место у нашего пациента. Вариант А полиформизма G20210A приводит к повышенной экспрессии гена и является маркером риска развития тромбозов и инфаркта миокарда. Фермент MTHFR катализирует восстановление 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат, который является активной формой фолиевой кислоты, необходимой для образования метионина из ГЦ и далее – S-аденозилметионина, играющего ключевую роль в процессе метилирования ДНК. Наличие тромбофилии, свойственной формам, ассоциированным с гомозиготностью по полиморфизму MTHFR, 677 C/T, требует индивидуальной коррекции и базовой терапии.

Помимо стандартной антитромботической терапии, обязательным для пациентов с симптомной ГГЦ является назначение специальной диеты, с ограничением продуктов, богатых метионином, и включением продуктов, обогащенных кофакторами фолатного цикла (фолиевая кислота, витамины B6 и B12, бетаин). Учитывая выявленные изменения, больному была назначена вышеуказанная диета, ношение эластического компрессионного

трикотажа, антикоагулянтная терапия и венотоники. Проведенная терапия, при дальнейшем наблюдении в динамике, привела к нормализации уровня ГЦ в крови, что позволяет надеяться на стойкую ремиссию у пациента с ГЦ и наследственной формой тромбофилии.

Список литературы:

1. Сироткина О.В. Молекулярные основы развития тромбозов и подбора антитромботических препаратов. Медицинская генетика 2006, 5: 29–34.
2. Bertina RM, Koeleman BP., Koster I et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature 2004, 369: 64-67.
3. Zetterberg H et al. No association between the MTHFR A1298C and transcobalamin C776G genetic polymorphisms and hyperhomocysteinemia in thrombotic disease. Thromb Res 2002, 108: 127–131.

Возможности молекулярного кариотипирования: анализ мозаичных форм различных анеуплоидий

*Васин К.С.^{1,2,3}, Ворсанова С.Г.^{1,2,3}, Коростелев С.А.⁴, Колотий А.Д.^{1,2},
Демидова И.А.^{1,2,3}, Юров И.Ю.^{1,2,5}*

¹ Научный центр психического здоровья, Россия

² Обособленное структурное подразделение - НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

³ Московский городской психолого-педагогический университет, Россия

⁴ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

⁵ Российская медицинская академия последиplomного образования
Загородное шоссе, 2, Москва 117152, Россия

Тел. +74959528990, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Ключевые слова: мозаицизм, трисомия хромосомы 8, молекулярное кариотипирование

Potential of molecular karyotyping: analysis of mosaic forms of different aneuploidies

*Vasin.K.S.^{1,2,3}, Vorsanova S.G.^{1,2,3}, Korostelev S.A.⁴, Kolotii A.D.^{1,2},
Demidova I.A.^{1,2,3}, Iourov I.Y.^{1,2,5}*

¹Mental Health Research Center, Russian Federation

²Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Federation

³Moscow State University of Psychology and Education, Russian Federation

⁴Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

⁵Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Federation
Zagorodnoe sh. 2, Moscow 117152, Russian Federation

Tel.: +74959528990, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Keywords: mosaicism, trisomy, chromosome 8, molecular karyotyping

Введение: При анеуплоидии хромосом часто обнаруживаются мозаичные формы, частота которых не всегда известна. Тем не менее, даже незначительная часть аномального мозаичного клона может быть причиной явных фенотипических проявлений хромосомных синдромов. Причём, аномальный клон может присутствовать в низком проценте и цитогенетическим методом трудно выявить мозаичную форму [1]. В последнее время появился метод молекулярного кариотипирования (метод array CGH), который эффективно выявляет аномалии генома, но пока необоснованно редко используется в исследованиях мозаицизма. На примере трисомии хромосомы 8, где преобладают мозаичные формы в отличие от многих аутосомных трисомий [2], где встречаются регулярные аномалии хромосом, мы показываем возможности молекулярного кариотипирования в выявлении мозаицизма низкого уровня.

Цель: Оценить возможности молекулярного кариотипирования для диагностики низкопроцентной мозаичной формы хромосомной аномалии (трисомии хромосомы 8).

Методы: В настоящей работе было проведено цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое исследование: сравнительная геномная гибридизация (array CGH) клеточного материала ребёнка семи лет с множественными пороками развития.

Результаты и обсуждение: В данной работе представлен ребёнок 7 лет с множественными пороками развития, микроанамалиями, пороками сердечнососудистой и мочеполовой систем, нейрогенной дисфункции мочевого пузыря и задержкой нервно-психического развития. В результате проведенного цитогенетического анализа был обнаружен кариотип: 46,XY,9qh. Исходя из клинических признаков и отсутствия аномального кариотипа, было проведено молекулярное кариотипирование. При молекулярно-цитогенетическом исследовании была выявлена мозаичная форма трисомии хромосомы 8. Учитывая соотношение интенсивности сигналов, можно сделать вывод о том, что трисомия является мозаичной (число аномальных клеток не менее 20%). Известно, что при трисомии хромосомы 8 преобладают мозаичные формы в отличие от многих аутосомных трисомий, где встречаются регулярные аномалии хромосом [2, 3]. В свою очередь не всегда удаётся выявить мозаичную форму цитогенетическим методом, так как клетки с аномальным клоном имеют более низкую пролиферацию относительно клеток с нормальным набором хромосом [2]. В нашей работе показано, что при помощи молекулярного кариотипирования (array CGH) можно выявлять низкопроцентный мозаицизм и определить долю аномальных клеток. Исследование выполнено за счет гранта Российского Научного Фонда (проект №14-15-00411).

Список литературы:

1. Iourov I.Yu., Vorsanova S.G., Yurov Yu.B. 2008. Chromosomal mosaicism goes global. *Molecular cytogenetic*, V.1, N26, P.1-7.

2. Ворсанова С.Г., Юров И.Ю., Соловьев И.В., Юров Ю.Б. 2008. Гетерохроматиновые районы хромосом человека: клиничко-биологические аспекты. М.: Медпрактика.
3. Iourov I.Yu., Vorsanova S.G., Yurov Yu.B. 2008. Molecular cytogenetics and cytogenomics of brain diseases. *Current Genomics*, Vol.9, №7, P.452-465.

Эффективность метода SNP array/молекулярного кариотипирования для выявления множественных аномалий генома

Зеленова М.А.^{1,2,3}, Ворсанова С.Г.^{1,2,3}, Юров Ю.Б.^{1,2,3}, Балева Л.С.², Сипягина А.Е.², Юров И.Ю.^{1,2,4}

¹ Научный центр психического здоровья, Москва, Россия

² Обособленное структурное подразделение ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Научно-исследовательский клинический институт педиатрии Минздрава России Москва, Россия

³ Московский городской психолого-педагогический университет, Москва, Россия

⁴ Российская Медицинская Академия Последипломного Образования, Москва, Россия

Загородное шоссе, 2, Москва 117152, Россия
Тел.: +74959528990, e-mail: ivan.iourov@gmail.com

Ключевые слова: SNP array/молекулярное кариотипирование, множественные микроаномалии генома, врожденные пороки развития

Detection of multiple genome microanomalies using SNP array/molecular karyotyping

Zelenova M.A.^{1,2,3}, Vorsanova S.G.^{1,2,3}, Yurov Y.B.^{1,2,3}, Baleva L.S.², Sipyagina A.E.², Iourov I.Y.^{1,2,4}

¹ Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation

² Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

³ Moscow State University of Psychology and Education

⁴ Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health, Moscow,

Russian Federation

Zagorodnoe sh. 2, Moscow 117152, Russian Federation
Tel.: +74959528990, email:ivan.iourov@gmail.com

Keywords: SNP array/molecular karyotyping, multiple genome microanomalies, congenital malformations

Введение: Исследование генома детей с врожденными пороками развития, умственной отсталостью, аутизмом и другими нарушениями психического и физического развития часто ограничено использованием только цитогенетического анализа. Данный метод, однако, обладает разрешением не более 5 млн. пн, что делает невозможным обнаружение вариаций числа копий последовательности ДНК (CNV), которые являются одной из наиболее частых причин врожденных пороков развития [1].

Цель работы: Обследование девочки 5 лет с микроцефалией, аномалией Денди-Уокера, воронкообразной грудной клеткой, аномалиями пальцев, задержкой психомоторного и физического развития с помощью цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов.

Результаты и обсуждение: При цитогенетическом анализе девочки был выявлен нормальный кариотип с гетерохроматиновыми вариантами хромосом: 46,XX,1qh-, 9qh+,22pstk+. Несмотря на то, что данный анализ не выявил аномалий хромосом, нельзя было исключить наличие аномалий генома. Исходя из клинических признаков, было решено провести SNP array/молекулярное кариотипирование, с последующим применением биоинформатического метода [2]. Настоящий метод способен выявить микроперестройки размером до 1000 пн., что не позволяет сделать классическая цитогенетическая диагностика. С помощью SNP array/ молекулярного кариотипирования было выявлено 8 дупликаций на хромосомах X, 1, 3, 21. Важно отметить, что дупликация в участке 1q44 расположена в критическом участке микроделеционного синдрома 1q44 (1q43-q44) и делеций, ассоциированных с аномалией Денди-Уокера. Необходимо подчеркнуть, что, несмотря на то, что в этом участке описан микроделеционный синдром, а мы выявили дупликацию, аномалия Денди-Уокера присутствовала в клиническом описании ребенка. Другие выявленные микроаномалии генома затронули следующие гены: *WNT7A*(3p25.1), *S100B* и *PRMT2*(21q22.3), *PHEX*(Xp22.11), *PHF6*(Xq26.2), *SLC9A6*(Xq26.3), *AFF2*(две дупликации в участке Xq28), *FMR1*(Xq27.3). Таким образом, несмотря на то, что цитогенетический метод не выявил хромосомных перестроек, с помощью метода SNP array/молекулярного кариотипирования выявлены микроаномалии хромосом. После проведения молекулярно-цитогенетического анализа можно сказать, что у ребенка наблюдаются многочисленные вариации генома, исследование которых заслуживает особого внимания в подобной когорте детей.

Список литературы:

1. Iourov, I. Y., Vorsanova, S. G., Kurinnaia, O. S., Zelenova, M. A., Silvanovich, A. P., Yurov, Y. B. 2012. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian

cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies. *Mol Cytogenet*, 5(1), 46.

2. Iourov, I. Y., Vorsanova, S. G., Yurov, Y. B. 2014. In silico molecular cytogenetics: a bioinformatic approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research. *Molecular cytogenetics*, 7(1), 1-11.

Случай дупликации короткого плеча хромосомы 3 у девочки со сниженным интеллектом, пороком сердца и микроаномалиями развития

Куринная О.С.^{1,2,3}, Ворсанова С.Г.^{1,2,3}, Юров Ю.Б.^{1,2,3}, Зеленова М.А.^{1,2,3}, Колотий А.Д.^{1,2}, Воинова В.Ю.^{1,2,3}, Юров И.Ю.^{1,2,4}

¹ Обособленное структурное подразделение — НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

² Научный центр психического здоровья, Москва, Россия

³ Московский городской психолого-педагогический университет, Россия

⁴ Российская Медицинская Академия Последипломного Образования ул. Талдомская, 2, Москва 127412, Россия

Тел.: +74954841948, e-mail: svorsanova@mail.ru

Ключевые слова: молекулярное карiotипирование, дупликация короткого плеча хромосомы 3

A case of partial chromosome 3 short arm duplication in a girl with mental retardation, congenital heart malformation and developmental microabnormalities

Kurinnaya O.S.^{1,2,3}, Vorsanova S.G.^{1,2,3}, Yurov Y.B.^{1,2,3}, Zelenova M.A.^{1,2,3}, Kolotii A.D.^{1,2}, Voinova V.Y.^{1,2,3}, Iourov I.Y.^{1,2,4}

¹ Research and Clinical Institute for Pediatrics at the Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Federation

² Mental Health Research Center, Russian Federation

³ Moscow State University of Psychology and Education, Russian Federation

⁴ Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Federation Taldomskaya str., 2, Moscow 127412, Russian Federation

Tel.: +74954841948, e-mail: svorsanova@mail.ru

Keywords: molecular karyotyping, duplication of the short arm of chromosome 3

Цель исследования: Выявление и уточнение структурной хромосомной аномалии с применением высокоразрешающих молекулярно-цитогенетических методов [1].

Материалы и методы: Обследование девочки 2-х лет со сниженным интеллектом, прооперированным пороком сердца (дефект межжелудочковой перегородки и открытый аортальный проток), широким, уплощенным лицом,

расщелиной неба, короткими пальцами стоп, сандалевидной щелью, синдактилией II-III пальцев стоп, эпилепсией и атаксией методами цитогенетического анализа и молекулярно-цитогенетического исследования при использовании серийной сравнительной геномной гибридизации (array CGH) [2].

Результаты и обсуждение: При проведении цитогенетического исследования был обнаружен дополнительный хромосомный материал неизвестного происхождения на коротком плече хромосомы 3, а также экстремальное увеличение гетерохроматинового блока на хромосоме 1 и увеличение спутников на хромосоме 21. Результаты цитогенетического исследования: 46,XX,add(3)(p26),1qh+++ ,21ps+. С помощью серийной сравнительной геномной гибридизации у девочки была выявлена дупликация короткого плеча хромосомы 3 в участке 3p26.3p24.3 размером 15,426 млн пн, затронувшая 176 генов, 75 из которых индексированы в OMIM и связаны с умственной отсталостью, кардиомиопатией, синдромом удлиненного интервала QT, анемией Фанкони, спиноцеребеллярной атаксией. Лицевые аномалии, которые наблюдались у ребенка, были похожи на описанные ранее признаки, отмечаемые у детей с трисомией короткого плеча хромосомы 3 [1]. Кроме того, в коротком плече хромосомы 3 в участке 3p26.3, граничащем с участком дупликации, была обнаружена делеция размером 1,120 млн пн, затронувшая ген *CHL1* полностью и первый экзон гена *CNTN6*. Таким образом, у девочки наблюдалась сложная хромосомная перестройка. Представленный случай демонстрирует пример того, что визуально определяемое увеличение хромосомного материала может сочетаться также с микроделецией генома в перестроенной хромосоме, которая выявляется только с помощью высокоразрешающих методов исследования, таких как молекулярное кариотипирование [2,3].

Работы выполнены при финансовой поддержке Российского фонда (грант № 14-35-00060).

Список литературы:

1. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышов В.Н. 2006. Медицинская цитогенетика (учебное пособие). М. Медпрактика–М.
2. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Kurinnaia O.S., Zelenova M.A., Silvanovich A.P., Yurov Y.B. 2012. Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies. *Molecular Cytogenetics*, V5, №1, 10.
3. Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. 2014. In silico molecular cytogenetics: a bioinformatic approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research. *Molecular cytogenetics*, 7(1), 1-11.

Болезнь Гоше (клиническое наблюдение)*Тадтаева З.Г.*

Детская Городская Больница Святой Ольги
 Земледельческая ул., 2, Санкт-Петербург 194156, Россия
 Тел.: +7 (812) 2955000, e-mail: tadtaeva2003@mail.c

*Ключевые слова: болезнь Гоше***Gaucher disease: a case report***Tadtaeva Z.G.*

St. Olga Children's Hospital
 Zemledelcheskaya str., 2, St. Petersburg 194156, Russian Federation
 Tel.: +7 (812) 2955000, e-mail: tadtaeva2003@mail.ru

Key words: Gaucher disease

Болезнь Гоше – редкое прогрессирующее наследственное заболевание из группы лизосомных болезней накопления, обусловленное мутациями в генах, ответственных за синтез лизосомального гидролитического фермента бета-глюкоцереброзидазы. Недостаточность этого фермента приводит к нарушению утилизации липидов (глюкоцереброзидов) и накоплению их в макрофагах преимущественно в костном мозге, селезенке и печени. Выделяют 3 типа болезни. Тип 2 является наиболее злокачественной формой заболевания, проявляющаяся в периоде новорожденности. Приводим описание клинико-неврологических проявлений болезни Гоше 2 типа.

Ребенок М., 7 месяцев поступил на неврологическое отделение с жалобами на задержку психомоторного развития, спастичность мышц конечностей, поперхивание жидкой пищей. Болен с рождения. С первых дней жизни отмечались срыгивания, тенденция к запрокидыванию головы назад с 1,5 месяцев, нарастание спастичности мышц. Акушерский анамнез отягощен. Беременность протекала на фоне анемии, носительства вируса папилломы человека HPV 16,31 типа. Роды в срок, на дому. Вес при рождении 3300 гр., длина 51 см, оценка по шкале Апгар 7/8 баллов. Выписан в срок.

Состояние при поступлении средней тяжести. В сознании. Пониженного питания (гипотрофия 1 степени). Физическое развитие низкое, гармоничное. ЧСС 123 удара в минуту. Тоны сердца ритмичные. ЧД 18 в минуту. Дыхание проводится во все отделы. Живот мягкий. Выраженная гепатоспленомегалия. Селезенка достигает малого таза). Физиологические отправления в норме. Неврологически: на осмотр реагирует адекватно. Захватывает игрушки, тянет их в рот. Произносит отдельные звуки. Лежит в позе «децеребрационной ригидности», на спине лежать не может. Со стороны черепных нервов: сходящееся косоглазие, псевдобульбарный синдром, дисфония. В двигательной сфере: ограничение движений в конечностях, спастический тетрапарез. Конtrakтуры в области тазобедренных и коленных суставов. Рефлексы на руках живые, $S \geq D$, коленные оживлены, $D=S$, ахилловы $D=S$. Менингеальных сим-

птомов нет. Грубых расстройств чувствительности не выявлено. Нарушения функции тазовых органов нет.

При лабораторном обследовании выявлена гипохромная анемия, тромбоцитопения (110×10^9), лейкопения. В биохимическом анализе крови выявлено повышение аспаратаминотрансферазы (АСТ) - 147 ед/л, ЛДГ (483 ед/л), ГГТ (75 ед/л). При анализе коагулограммы: позднее начало свертываемости крови (с 3'45" по 5'35"). Повышен уровень Д-димера (604 ng/ml). По данным УЗИ органов брюшной полости - выраженная гепатоспленомегалия, умеренные изменения в паренхиме печени и селезенки. МРТ головного мозга: без патологических изменений, незавершенная миелинизация. На ЭЭГ эпилептиформной активности не выявлено.

Консультирован гематологом. Данных за системное заболевание не выявлено. В мазках крови обнаружено большое количество клеток типа Гоше с волокнистой цитоплазмой. Учитывая данные обследования, в МГНЦ направлены сухие пятна крови для проведения энзимодиагностики болезни Гоше. По результатам исследования выявлено снижение активности глюкоцереброзидазы - 0,32 мкМ/л/ч (N1,50-15,0), повышение активности хитотриозидазы в плазме крови - 5100 нМ/мл/час (N до 198). Проведено генетическое исследование в лаборатории наследственных болезней обмена МГНУ РАМН, подтвердившее болезнь Гоше 2 типа.

Характерными неврологическими проявлениями болезни Гоше 2 типа были задержка психомоторного развития, выраженные двигательные нарушения (спастический тетрапареза), псевдобульбарный синдром при отсутствии грубых морфологических изменений на МРТ головного мозга. Сочетание вышеуказанных симптомов с изменениями внутренних органов (гепатоспленомегалия), повышение уровня печеночных трансаминаз, нарушениями в системе гемостаза (тромбоцитопения, нарушение свертываемости) диктует необходимость обследования ребенка на лизосомальные болезни накопления.

3М-синдром

Федяков М.А.^{1}, Ледашева Т.А.^{1,2}*

¹ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова

²СПб Диагностический центр (медико-генетический)

*ул. Тобольская, 5, Санкт-Петербург 194044, Российская Федерация

Тел.: + 7 812 294 7002; E-mail: kreml74@mail.ru

Ключевые слова: 3М-синдром, нанизм, макроцефалия

3M-syndrome

Fedyakov M.A.^{1}, Ledashcheva T.A.^{1,2}*

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

²St. Petersburg Centre of Medical Genetics

*Tobolskaya str. 5, St. Petersburg 194044, Russian Federation

Тел.: + 7 812 294 7002; E-mail: kreml74@mail.ru

Keywords: 3M-syndrome, dwarfism, macrocephaly

3М-синдром (MIM: #273750; #612921; #614205) (син.: синдром Ле Меррера (Le Merrier), долихоспондилярная дисплазия, синдром хмурого лица, якутский синдром низкорослости) впервые описан Miller, McKusick, Malvaux и назван по первым буквам их фамилий - 3М-синдром [1]. Редкое наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. Частота 3М-синдрома составляет менее 1:1000000 в популяции, но среди якутов, в связи с генетической изоляцией, составляет 1:7800 [2]. Характерна клиническая триада симптомов: выраженная пре- и постнатальная карликовость, лицевые дизморфии на фоне сохранного интеллекта и неизменный эндокринный статус. Рост взрослых пробандов не превышает 120-130 см, что на 5-6 центилей ниже среднего. Дифференциальная диагностика 3М-синдрома проводится с синдромами пропорциональной карликовости: Сильвера-Рассела, Дубовица, Блума, нанизмом Mulibrey, а также фетальным алкогольным синдромом [3]. Для 3М-синдрома возможно молекулярно-генетическое исследование посредством секвенирования генов: *CUL7*, *OBSL1*, *CCDC8* [4]. В лечении наиболее эффективной считается гормональная ГН-терапия в высокой дозе (более 70 мкг/кг/сут), начатая в препубертатном возрасте [1;5].

Мы наблюдали пробанда мужского пола 3,5 лет с задержкой роста. Из анамнеза известно, что ребенок от 1 беременности, протекавшей на фоне анемии в I триместре. Роды срочные, в 38 недель, физиологические. Масса тела при рождении 2970,0, длина тела 49 см, оценка по шкале Апгар 8/9. Брак не родственник, родители считают себя здоровыми, эндокринную патологию отрицают, рост отца – 180 см, рост матери – 160 см.

Клинически: микросоматика с дисгармоничным типом развития за счёт низкого роста и макроцефальной формы черепа (9,5 центилей). Масса тела – 13 кг (2,5 центиля), рост – 88 см (0 центилей), ОГ–52 см (4,5 центиля), ОГр.кл.–50 см (2,5 центиля). Череп макроцефальной формы, уплощен в височных областях, выступающие лобные и теменные бугры, высокий лоб. Переносица широкая, уплощенная. Разрез глаз с тенденцией к монголоидному, склеры голубые. Угол рта справа опущен. Ушные раковины диспластичные. Короткая широкая шея. Гипертелоризм сосков и лопаток. Кисти: кожная синдактилия, клинодактилия V пальцев. Стопы небольшие, общий корень II-IV пальцев. Умеренная варусная деформация нижних конечностей. Осанка вялая, гиперлордоз. Живот увеличен в объеме. Наружные половые органы по мужскому типу, водянка обоих яичек. Интеллект соответствовал возрасту.

Рентгенологическое исследование: 1. Шейный отдел позвоночника – нестабильность С3-С4. 2. Кисти – отставание костного возраста от паспортного на 1,5-2 года. 3. Нижние конечности - признаки болезни Блаунта, деформация латерального и медиального контуров метафизов бедренных костей с разрыхленностью зоны и нечеткими контурами. При УЗ-

исследовании тазобедренных суставов определялись рахитоподобные нарушения с расширением метафизов шейки и проксимальных отделов бедра.

Со стороны органов зрения выявлена гиперметропия средней степени.

Таким образом, клиничко-анамнестические данные и результаты инструментального обследования пробанда позволили уточнить диагноз орфанной патологии: 3-М синдром.

Список литературы:

- a. Miller JD, McKusick VA, Malvaux P, Temtamy S, Salinas C. The 3-M syndrome: a heritable low birthweight dwarfism. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1975;11:39-47.
- b. Maksimova, N., Hara, K., Miyashia, A., Nikolaeva, I., Shiga, A., Nogovicina, A., Sukhomyasova, A., Argunov, V., Shvedova, A., Ikeuchi, T., Nishizawa, M., Kuwano, R., Onodera, O. Clinical, molecular and histopathological features of short stature syndrome with novel CUL7 mutation in Yakuts: new population isolate in Asia. *J. Med. Genet.* 2007. 44: 772-778.
- c. Pr Peter Clayton, Dr Philip Murray. Orpha.net: Last update: February 2014.
- d. Hanson D, Murray PG, O'Sullivan J, Urquhart J, Daly S, Bhaskar SS, et al. Exome sequencing identifies CCDC8 mutations in 3-M syndrome, suggesting that CCDC8 contributes in a pathway with CUL7 and OBSL1 to control human growth. *Am J Hum Genet* 2011;89:148-53.
- e. Huber C, Munnich A, Cormier-Daire V. The 3M syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011;25:143–51.

Метаболические заболевания: триметиламинурия

Хохова А.В.^{1}, Ледащева Т.А.^{1,2}*

¹ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова

²СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический)

ул. Тобольская 5, Санкт-Петербург 194044, Российская Федерация

*Тел.: + 7 812 294 7002; e-mail: alansio89@mail.ru

Ключевые слова: триметиламинурия, рыбный запах, ген FMO3

Metabolic diseases: trimethylaminuria

Khokhova A.V.^{1}, Ledashcheva T.A.^{1,2}*

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

²St. Petersburg Centre of Medical Genetics

Tobolskaya str. 5, St. Petersburg 194044, Russian Federation

*Tel.: + 7 812 294 7002; e-mail: alansio89@mail.ru

Keywords: trimethylaminuria, fish odor, gene FMO3

Введение: Триметиламинурия (ТМАУ) (синоним: синдром рыбного запаха) (МММ: 602079; Код МКБ-10: E88.8) – редкое метаболическое расстройство с аутосомно-рецессивным типом наследования, в основе которого лежит нарушение катаболизма триметиламина (ТМА), продукта расщепления пищевого холина, карнитина и лецитина с участием кишечной микрофлоры. Частота заболевания переменна и в различных популяциях наблюдается от 0,5-1% населения (Англия) до 11% (Новая Гвинея) [1, 2]. Заболевание чаще обнаруживается у женщин и реже у - мужчин, так как предполагается влияние женских половых гормонов: эстрогена и прогестерона [3]. Причина развития ТМАУ - мутация в гене флаavin-зависимой монооксигеназы (FMO3; 1q24.3), фермента, играющего ключевую роль в метаболизме ТМА, а также большого количества ксенобиотиков, что приводит к его накоплению в организме [4]. Молекулярно-генетической основой ТМАУ являются мутации в гене /FMO3/, охватывающем 27 кб, состоящем из 9 экзонов и расположенном на длинном плече 1 хромосомы. Известны около 30 мутаций гена, преимущественно это миссенс-мутации, из которых наиболее часто обнаруживаются р.Pro153Leu и р.Glu305Ter [5]. Основным симптомом ТМАУ является характерный рыбный запах от кожи, дыхания, биологических жидкостей с первых лет жизни ребенка, либо прогрессирующий с возрастом, особенно в период полового созревания. Пациенты с ТМА часто имеют психологические проблемы, в том числе низкую самооценку, тревожные и депрессивные состояния [6]. Диагностика основана на специфической клинической картине и проведении лабораторных исследований, включающих: определение концентрации свободного ТМА и его окисленной формы в моче с помощью газовой хроматографии, тандемной масс-спектрометрии или спектроскопии ядерного магнитного резонанса. Основой лечения является диетотерапия с исключением продуктов, содержащих холин, лецитин и триметиламин N-оксид (яйца, печень, почки, бобовые, арахис, соевые, моллюски, ракообразные). Лекарственная терапия должна способствовать повышению остаточной активности фермента FMO3 за счет приема его кофактора – рибофлавина. Показаны короткие курсы антибактериальной терапии с целью снижения активности микрофлоры кишечника и, соответственно, подавления продуцирования ТМА. В семьях, отягощенных по ТМАУ, рекомендуется проведение молекулярно-генетического анализа как для уточнения диагноза, так и для дальнейшего проведения инвазивной пренатальной диагностики для исключения патологии у плода.

Описание случаев: Мы наблюдали двух больных, 4 и 5 лет с идентичной клинической картиной. В обоих случаях матери пробандов состояли на учете в МГЦ с раннего срока беременности. В первом случае проводилась плановая хорионбиопсия в связи с отягощенным анамнезом по трисомии X у старшей дочери. Во втором – были выявлены биохимические и ультразвуковые маркеры хромосомной патологии. Хромосомные болезни исключены. В обоих случаях отмечалась задержка внутриутробного развития плодов. Де-

вочки родились с признаками гипотрофии, в динамике – задержка физического развития. Многократно обследовались стационарно по поводу гастропатологии. Терапия ферментами эффекта не дала. С 3 и 4 лет родители детей отметили постоянный, нарастающий неприятный запах, который усиливался с возрастом. При осмотре – резкий специфический рыбный запах от кожи, волос, пота. Предположен диагноз ТМАУ, назначено лечение, на фоне которого рыбный запах нивелировался. Таким образом, несмотря на низкую частоту, клинические проявления позволили заподозрить метаболическое нарушение (ТМАУ) и начать лечение до этапа лабораторной диагностики.

Список литературы:

- f. Al-Waiz M, Ayesh R, Mitchell SC, Idle JR, Smith RL. A genetic polymorphism of the N-oxidation of trimethylamine in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1987, 42: 588–594.
- g. Mitchell SC, Zhang AQ, Barrett T, Ayesh R, Smith RL. Studies on the discontinuous N-oxidation of trimethylamine among Jordanian, Ecuadorian and New Guinean populations. *Pharmacogenetics* 1997, 7: 45–50.
- h. Humbert JA, Hammond KB, Hathaway WE, Marcoux JG, O'Brien D. Trimethylaminuria: the fish-odour syndrome. *Lancet* 1970, 2: 770–771.
- i. Akerman B., Chow L, Forrest S, Youil R, Cashman J, Treacy EP. Mutations in the flavin-containing monooxygenase (sic) form 3 (FMO3) gene cause trimethylaminuria, fish odour syndrome. *Am J Hum Genet* 1997, 61(suppl.): A53.
- j. Hernandez D, Addou S, Lee D, Orengo C, Shephard EA, Phillips IR. Trimethylaminuria and a human FMO3 mutation database. *Hum Mutat* 2003, 22: 209–213.
- k. Todd WA. Psychosocial problems as the major complication of an adolescent with trimethylaminuria. *J Pediat* 1979, 94: 936-937.

Регенеративная терапия при нейродегенеративных заболеваниях

Смолянинов А.Б.^{1,2}, Новицкий М.В.¹, Адылов Ш.Ф.¹

Покровский банк стволовых клеток

¹ Большой пр. В.О., дом 85, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 199106
+79119137174; maxnov1@mail.ru

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, нейродегенеративные заболевания.

Regenerative therapy for neurodegenerative diseases

Smolianinov A.B.^{1,2}, Novitskiy M.V.¹, Adilov Sh.F.¹

¹ "Stem cell bank Pokrovsky", Ltd

¹ 85, Bolshy Prospekt., V. O., St. Petersburg 199106, Russian Federation
+79217741547; maxnov1@mail.ru

² Mechnikov's Northwestern State Medical University, Saint-Petersburg, Russia

Keywords: mesenchymal stem cells, neurodegenerative diseases

Введение. Регенеративная медицина – развивающаяся мультидисциплинарная область исследований и применяемых в клинике методов лечения, фокусирующаяся на регенерации или замене клеток, тканей или органов с целью восстановления функций, нарушенных в результате наследственной патологии, приобретенных заболеваний, травм или старения. Основа регенеративной медицины – генная терапия, трансплантация клеток и органов, тканевая инженерия.

Цель. Выделено 2 цели для лечения больных РС. Первая – остановить прогрессирование заболевания и предотвратить появление новых очагов демиелинизации в ЦНС за счет воздействия на иммунопатологический процесс. Вторая цель состоит в сохранении, а по возможности, в улучшении качества жизни больных. [1]

Материалы и методы. Основу работы составила регенеративная терапия больных с рассеянным склерозом совместно с высокодозной иммуносупрессивной химиотерапией.

Рассеянный склероз (РС) – хроническое прогрессирующее заболевание центральной нервной системы (ЦНС), которое клинически проявляется мультисистемной неврологической симптоматикой, а патоморфологически характеризуется образованием множественных очагов демиелинизации в белом веществе головного и спинного мозга. Основным механизмом, приводящим к повреждению миелина, является активность аутоиммунных Т-лимфоцитов против белка миелина.

В настоящее время для лечения РС, помимо симптоматической терапии, используются препараты для купирования обострения (глюкокортикостероиды и цитостатики), а также препараты патогенетического направления (бета-интерфероны). Однако, традиционные методы иммуномодулирующей и иммуносупрессивной терапии РС не позволяют достичь выраженного и длительного терапевтического эффекта. На протяжении нескольких лет одним из перспективных подходов к лечению РС является высокодозная иммуносупрессивная терапия с трансплантацией кроветворных стволовых клеток. (ВИСК+ТКСК)[2]. Этот метод успешно

применяется во многих центрах Европы, Китая, США, Израиля, Австралии, России [3, 4].

Полученные результаты и обсуждения. В исследование включено 8 больных с РС. У 3-х пациентов была диагностирована вторично-прогрессирующая форма заболевания, 1 пациент с первично-прогрессирующей, 1 с прогрессирующе-рецидивирующей и у 3-х рецидивирующая ремитирующая. У 6 пациентов перед лечением наблюдалась резистентность ко всем (или большинству) видам терапии. У 2 пациентов нежелание использовать другие (традиционные) методы лечения. При проведении ВИСТ+ТКСК не было летальных исходов, связанных с трансплантацией, а также тяжелых непрогнозируемых осложнений. У всех больных зарегистрирован ответ на лечение: у 6 зарегистрировано клиническое улучшение; у 2 стабилизация состояния. Полученные результаты подтверждены МРТ диагностикой, где также отмечалось либо улучшение, либо стабилизация состояния. По расширенной шкале оценки инвалидизации EDSS (Expanded Disability Status Scale) отмечалось от 0,5 до 1 балла [5, 6].

Выводы. ВИСТ+ТКСК является эффективным методом лечения больных с различными формами РС. У 6 из 8 пациентов положительные сдвиги в процессе лечения с полным отсутствием прогрессирования в течение года. Применение стволовых клеток является одним из приоритетов в регенеративной медицине. Использование в клинической практике клеточной терапии относится к серьезно изучаемым направлениям с имеющимися хорошими клиническими результатами. Дальнейшее исследование данной проблематики будет вести к более широкому использованию стволовых клеток пуповинной крови для лечения заболеваний человека [7].

Список литературы / References

1. Новик А.А., Богданов А.Н. Принципы трансплантации костного мозга и стволовых клеток периферической крови //— Санкт-Петербург: Военно-медицинская академия, 2001. - С.167 ил. - (серия: Медицина XXI века) — Библиогр. 133 назв.
2. Шевченко Ю.Л., Новик А.А., Кузнецов А.Н. Концепция высокодозной терапии с трансплантацией стволовых клеток при аутоиммунных заболеваниях нервной системы // Неврологический журнал. — 2004. — № 3. — С. 44-47.
3. Saccardi R. Autologous HSCT for severe progressive multiple sclerosis in a multicenter trial: impact on disease activity and quality of life (R. Saccardi, G.L. Mancardi, A. Solari et al.) // Blood. — 2005. — Vol. 105, № 6. — P. 2601-2607.
4. Comi G. Guidelines for autologous blood and marrow stem cell transplantation in multiple sclerosis: a consensus report written on behalf of the European Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Charcot

Foundation (G. Comi, L. Kappos, M. Clanet et al.) // J. Neurol. — 2000. — Vol. 247. — P.376-382.

5. Новик А.А., Кузнецов А.Н., Мельниченко В.Я. Три стратегии аутологичной трансплантации стволовых кроветворных клеток при рассеянном склерозе // Международный симпозиум «Трансплантация стволовых кроветворных клеток при рассеянном склерозе»: Сборник докл. — М., 2009. — С. 69-71.

6. Шевченко Ю.Л., Новик А.А., Кузнецов А.Н. Аутологичная трансплантация кроветворных стволовых клеток у больных с прогрессирующими формами рассеянного склероза // Неврологический журнал. — 2010. — № 3. — С.9-15.

7. Novik A.A. Non-myeloablative autologous haematopoietic stem cell transplantation with consolidation therapy using mitoxantrone as a treatment option in multiple sclerosis patients (A.A. Novik, A.N. Kuznetsov, V.Y. Melnichenko et al.) // J. Stem. Cell. Res. Ther. — 2011. — Vol.1, №1 - P.2157-7633.

Полиморфизм гена *CCR5* и резистентность к инфицированию ВИЧ. Результаты молекулярно-генетического обследования общественного регистра пуповинной крови

Пирожков И.А.^{1,2}, Смолянинов А.Б.^{1,2}, Четкин А.В.³, Иволгин Д.А.^{1,2}

¹ Покровский банк стволовых клеток, Санкт-Петербург, Россия, 199026, Санкт-Петербург, Большой пр. В.О., д. 85, тел.: +7 (812) 244-74-59, e-mail: ipir@mail.ru

² НИЛ клеточных технологий СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА», Санкт-Петербург, Россия

*Ключевые слова: ВИЧ, полиморфизм *CCR5 delta 32*, пуповинная кровь.*

***CCR5* gene polymorphism and resistance to HIV infection. The results of molecular genetic testing of public cord blood registry.**

Pirozhkov I.A.¹, Smolyaninov A.B.^{1,2}, Ivolgin D.A.^{1,2}, Chechetkin A.V.³

¹ Stem cell bank "Pokrovsky", Saint-Petersburg, Russia, 199026, Saint-Petersburg, Bolshoi Prospect Vasilevski Ostrov, 85, tel.: +7 (812) 244-74-59, e-mail: ipir@mail.ru

² SIL of cells technologies North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

³ Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Russian Federal Medical-biological Agency, St.-Petersburg

*Key words: HIV, *CCR5 delta 32* polymorphism, cord blood*

Введение. Вирус иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1) был открыт в 1983 году. Однако до настоящего времени пандемия ВИЧ инфекции всё ещё остается одной из самых серьезных проблем здравоохранения. ВИЧ проникает в клетку после взаимодействия гликопротеина вирусной оболочки gp120 преимущественно с двумя поверхностными клеточными рецепторами – CD4 и CCR5. Одновременная экспрессия этих рецепторов встречается на Т-лимфоцитах, моноцитах, макрофагах и дендритных клетках. Ген *CCR5* локализован на коротком плече хромосомы 3 (3p21). Известен вид полиморфизма гена *CCR5*, представляющий собой делецию 32 пар нуклеотидов в кодирующей области гена (*CCR5 delta 32*). У гомозиготных носителей мутации *CCR5 delta 32* выявлена практически полная резистентность к инфицированию ВИЧ-1 [1]. Гомозиготные носители делеционного аллеля составляют около 1% представителей европеоидной расы, гетерозиготами являются в среднем 10-15% европейцев [2]. Известен успешный случай трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) с генотипом *CCR5 delta 32/delta 32*

ВИЧ-инфицированному пациенту с острым миелоидным лейкозом в 2007 году в Германии. После трансплантации пациент прекратил приём противовирусных препаратов. При этом по настоящее время вирусная нагрузка остаётся неопределяемой, а при анализе периферической крови и биоптатов различных тканей не удаётся выявить наличия провирусной ДНК [3,4]. Перспективы применения пуповинной крови (ПК) при лечении ВИЧ-инфекции связаны с возможностью проведения ТГСК ПК ВИЧ-инфицированному реципиенту от донора, являющегося гомозиготным носителем мутации *CCR5 delta 32*.

Цель работы. Оценка научно-организационных возможностей создания общественного регистра ПК с генотипом *CCR5 delta 32/delta 32* для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов.

Материалы и методы. Скрининговое обследование ПК для детекции полиморфизма гена *CCR5* производилось методом полимеразная цепная реакция (ПЦР). HLA-типирование *CCR5 delta 32/delta 32* образцов ПК выполнялось методом SSP (sequence-specific priming) (Protrans, Германия). Исследована длина теломер *CCR5 delta 32/delta 32* образцов ПК методом ПЦР в реальном времени.

Результаты работы. Обследовано 3860 образцов ПК. Обнаружено 39 гомозиготных носителей полиморфизма *CCR5 delta 32* (1,01%), 707 гетерозиготных носителя полиморфизма *CCR5 delta 32* (18,32 %). Проведён сравнительный анализ распределения HLA-аллелей у доноров ПК с диким типом гена *CCR5*, подобранных методом случайной выборки, и среди доноров ПК с генотипом *CCR5 delta32/delta32*). Отмечена высокая встречаемость наиболее распространённых на Северо-Западе России HLA-аллелей среди доноров ПК обеих групп. Средняя длина теломер мононуклеаров *CCR5 delta 32/delta 32 образцов ПК* составила 8,72 т.п.н. (возрастная норма составляет 8,4 – 11,8 т.п.н.).

Выводы.

1. Частота встречаемости генотипа *CCR5 delta 32/delta 32* в Северо-Западном регионе Российской Федерации составляет около 1%.
2. Выявлена высокая встречаемость наиболее распространённых на Северо-Западе России HLA-аллелей у доноров ПК с диким типом гена *CCR5* и среди *CCR5 delta 32/delta 32* доноров ПК, то есть существует значительно большая вероятность нахождения совместимого образца для ТГСК в региональном регистре доноров.
3. Исследование длины теломер показало нормальный пролиферативный потенциал клеток *CCR5 delta 32/delta 32* образцов ПК.
4. Обнаруженные в результате скрининга *CCR5 delta 32/delta 32* образцы позволяют организовать собственное региональное хранилище подобного рода образцов ПК.

Литература.

1. Dragic T, Litwin V, Allaway GP [et al.] 1996. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 381: 667– 673.
2. Lucotte G. 1998. Distribution of the CCR5 Gene 32-bp Deletion in Europe. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 19: 174 – 177.
3. Hutter G, Nowak D, Mossner M. 2009. Long-Term Control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 Stem-Cell Transplantation. *N. Engl. J. Med.* 360: 692 – 698.
4. Burke BP, Boyd MP, Impey H [et al.] 2014. CCR5 as a Natural and Modulated Target for Inhibition of HIV. *Viruses.* 6: 54-68.

**Перспективы применения культивированных аллофибробластов
в эндоскопическом лечении послеоперационных бронхиальных свищей**

Егоров В.И.¹, Юркевич Ю.В.^{2,3}, Смолянинов А.Б.^{2,3},

Беседина Н.К.¹, Ионов П.М.¹, Акопов А.Л.⁴

¹СПб ГБУЗ «Городская Покровская больница», Санкт-Петербург, Россия
199106, г. Санкт-Петербург, Васильевский остров, Большой проспект, д. 85
тел.: +78129206980; e-mail: egorovspb@mail.ru

²ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург Россия

³ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург, Россия

⁴ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет

им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

*Ключевые слова: аллогенные фибробласты, клеточные технологии,
бронхиальный свищ, эндоскопическое лечение, заживление.*

**Prospects for the use of cultured allofibroblasts in endoscopic treatment
of postoperative bronchial fistulas**

Egorov V.I.¹, Yurkevich Yu.V.^{2,3}, Smolyaninov A.B.^{2,3},

Besedina N.K.¹, Ionov P.M.¹, Akopov A.L.⁴

¹Pokrovskiy city hospital, Saint-Petersburg, Russia
199106, Saint-Petersburg, Vasilevsky Ostrov, Bolshoy Prospect, 85
tel.: 9206980; e-mail: egorovspb@mail.ru

Mechnikov's Northwestern State Medical University, Saint-Petersburg, Russia

³"Stem cell bank Pokrovsky", Ltd, Saint-Petersburg, Russia

⁴Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia

Key words: allogeneic fibroblasts, cell technology, bronchial fistula, endoscopic treatment, healing.

Введение: Проблема малоинвазивного лечения послеоперационных бронхиальных свищей сохраняет свою актуальность [1]. Внедрение в практику эндоскопических технологий позволило снизить частоту повторных хирургических вмешательств, повысить качество жизни пациентов [2]. Тем не менее, бронхоскопическая тактика закрытия бронхиальных свищей, несмотря на достоинства (доступность, переносимость, возможность многократного проведения и др.), остается недостаточно разработанной и имеет ограниченное применение [3]. Один из новых путей совершенствования данного перспективного направления может заключаться в эндобронхиальной окклюзии свища бронха с использованием клеточных технологий [4]. Целью настоящего исследования явилось изучение эффективности эндоскопического лечения послеоперационных бронхиальных свищей с применением культивированных аллогенных фибробластов.

Материалы и методы: В исследование включено 10 пациентов с послеоперационными бронхоплевральными свищами после перенесенной пневмонэктомии по поводу рака легкого (80%) и инфекционно-деструктивного процесса (20%). Основной контингент составили пациенты старшей возрастной группы, преобладали лица мужского пола. В послеоперационном периоде в сроки от 6 до 22 суток у всех пациентов развилась несостоятельность культи главного бронха и эмпиема плевры. Диаметр дефекта культи бронха составлял 5 мм. Эндобронхиальное вмешательство заключалось в подслизистой инъекции суспензии культивированных аллогенных фибробластов человека в зону фистулы культи бронха. Введение клеточной суспензии осуществлялось в изотоническом солевом растворе с помощью бронхоскопической канюли MTW в подслизистый слой бронха в зону свища в 2-5 точках общим объемом 1,5 мл. Концентрация аллофибробластов составляла $3 \cdot 10^6$ клеток/мл. Состояние культи бронха и остаточной плевральной полости контролировалось выполнением бронхоскопии, рентгенографии легких, КТ исследования.

Результаты: Установлено, что после эндобронхиального введения суспензии фибробластов, просвет свищей не определялся в 6 наблюдениях из 10. Обтурация просвета бронха наступала через 7 суток после пересадки клеток. У остальных больных свищевой ход сохранялся, что потребовало повторной клеточной инфильтрации. При контрольной бронхоскопии в двух случаях свищ слепо заканчивался и не сообщался с плевральной полостью,

диаметр свищевого отверстия у двух остальных пациентов существенно уменьшился, но полностью не закрылся.

Заключение: Бронхоэндоскопическое субмукозное введение суспензии аллофибробластов в проекцию бронхиального свища после пневмонэктомии является достаточно перспективным способом окклюзии свищевого бронха. Данная процедура позволила в 60% случаев избежать открытого хирургического вмешательства. Остальным пациентам (40%) потребовалось повторное введение культивированных клеток, что обеспечивало полное и частичное закрытие свищевого хода. Обсуждаются возможные пути совершенствования данной клеточной технологии в эндоскопическом лечении послеоперационных бронхиальных свищей.

Список литературы:

1. Левченко ЕВ, Шутов ВА, Тришин АА и др. 2005. Бронхиальная фистула - факторы риска, пути профилактики и лечения в онкопульмонологии. Вестн. хир. им. И.И. Грекова.3: 15 - 22.
2. Бисенков ЛН, Биходжин РШ. 2005. Эндоскопическое лечение бронхиальных свищей подслизистыми инъекциями. Вестн. хир. им. И.И. Грекова.1: 38-41.
3. Cariatì A, Piromalli E. 2012. Postpneumonectomy bronchial stump recurrence and bronchopleural fistula. Asian Cardiovascular. Thoracic. Ann. 4: 439 - 442.
4. Petrella F, Toffalori F, Brizzola S. 2014. Stem Cell Transplantation Effectively Occludes Bronchopleural Fistula in an Animal Model. Ann Thorac Surg. 2: 480 - 483.

Клеточные технологии в оптимизации процессов регенерации костной, хрящевой и сухожильной тканей в ортопедо-травматологической практике

Савинцев А.М., Смолянинов А.Б.

Багаева В.В., Малько А.В., Айзенштадт А.А.

1. ГБУЗ «Городская Покровская больница», 2. ООО «Покровский банк стволовых клеток», 3. НИЛ клеточных технологий СЗГМУ имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Цель исследования - оценить эффективность применения клеточных технологий в качестве дополнительной процедуры (регенеративной терапии) к хирургическому лечению больных с повреждениями и заболеваниями опорно-двигательной системы человека.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением и лечением с 2007 до настоящего времени находится 38 пациентов с различными повреждениями и заболеваниями опорно-двигательной системы. Характер повреждений был следующий: 3 – ложные суставы и длительно не срастающиеся переломы

длинных трубчатых костей; 2 – внутрисуставных перелома мышечков большеберцовой кости со смещением отломков; 2 – закрытых перелома таранной кости; 2 – закрытые оскольчатые переломы диафиза длинных трубчатых костей; 11 – закрытых переломов проксимального отдела бедра; 5 – закрытых подкожных повреждения ахиллова сухожилия; 1 – дефект мягких тканей; 11 – остеоартрозы коленного сустава; 1 – хронический бурсит. Мужчин было 17, женщин – 21. Возраст больных варьировал от 21 до 90 лет.

Сроки введения клеточного материала от 1 до 3 недель после травмы.

Результаты и обсуждение. Нами были предприняты попытки оптимизации процессов сращения при переломах костей и повреждениях ахиллова сухожилия посредством применения клеточных технологий. Во всех случаях были получены положительные результаты, заключающиеся в гарантированном сращении переломов и сухожилий в минимальные для данной локализации сроки, что, по нашему мнению, обусловлено местным оптимизирующим воздействием введенного клеточного материала.

Процесс репаративной регенерации костной ткани оценивали в динамике по результатам рентгенологического обследования через 6, 12 и 24 недели.

Выводы. Результаты клинического применения клеточных технологий свидетельствуют о том, что при трансплантации клеточного материала в место перелома он обладает выраженным остеиндуцирующим и оптимизирующим действием на течение процессов репаративной регенерации кости и ткани сухожилия, и может быть использован в клинической практике в качестве дополнительной процедуры к хирургическому лечению больных с повреждениями опорно-двигательной системы, что позволяет повысить эффективность основного способа лечения и сократить сроки реабилитации больных после травмы.

Научное издание

**МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНЫЕ АСПЕКТЫ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
3-ГО РОССИЙСКОГО КОНГРЕССА
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ –
ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»**

26-29 марта 2015 года

Под научной редакцией И.А. Максимцева, В.И. Ларионовой

Издано в авторской редакции

Подписано в печать 23.03.2015. Формат 60×84 1/16.
Печ. л. 13,0. Тираж 100 экз. Заказ 253.

Издательство СПбГЭУ. 191023, Санкт-Петербург, Садовая ул., д. 21.

Отпечатано на полиграфической базе СПбГЭУ