



№ 2–3 (33–34) июнь 2010

КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Главный редактор:

Эмануэль В. А., д. м. н., проф.

Заместители главного редактора:

Зыбина Н. Н., д. б. н., проф.

Сухоруков В. С., д. м. н., проф.

Директор редакции:

Чердниченко Д. В., к. м. н.

Зав. редакцией:

Эмануэль Ю. В., к. м. н.

Редактор перевода:

Филиппова Н. А., к. м. н.

Адрес редакции:

**197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8**

Телефон редакции:

(812) 233 97 26

Эл. почта:

eivcons@mail.ru

Журнал зарегистрирован

в Федеральной службе
по надзору в сфере связи,
информационных технологий
и массовых коммуникаций
(Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации:

ПИ №ФС77-38698 от 22.01.2010

Учредитель:

**ГОУ ВПО «СПб Государственный
медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова
Федерального агентства
по здравоохранению
и социальному развитию»
(197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8)**

Оригинал-макет и верстка:

ООО «Издательско-
полиграфическая
компания «КОСТА»»,
тел. **(812) 445 10 02**

Отпечатано в типографии

ООО «ИПК БИОНТ»
199026, Санкт-Петербург,
Средний пр., д. 86

Тираж 1000 экз.

Заказ №

В науке нет широкой столбовой дороги,
и только тот достигнет ее сияющих вершин,
кто, не боясь усталости, карабкается по ее
каменистым уступам.

Внедрение достижений лабораторной медицины на молекулярном уровне понимания патохимических процессов в практическое здравоохранение принципиально изменило весь облик медицинской помощи, приблизив здравоохранение к его истинному предназначению — сохранению здоровья. Клиническая медицина сегодня во все большем круге проблем может сменить парадигму от — чем болеете? на — чем можете заболеть?!

Нанотехнологии (атомарный, по сути, уровень), геномика, транскриптомика, РНК-омика, протеомика, метаболомика (включая липидомику и гликомику) позволяют на доказательном уровне формировать персонализированный подход к лечению большой группы заболеваний.

Финансирование в области лабораторной медицины стало приоритетным в развитых странах и составляет около 250 млрд долларов за 3 года!

Отрадно, что медицинским вузам Санкт-Петербурга повезло — здесь реализовал свой талант известный международный специалист Евгений Иосифович Шварц.

Масштабность этой личности и целая армия достойных учеников обеспечила бурное развитие молекулярных основ клинической медицины во всем многообразии ее субспециальностей.

Редакция журнала выражает огромное удовлетворение возможностью публиковать материалы Конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины — возможное и реальное», посвященного памяти Е.И. Шварца.

Приглашаем наших читателей в это безграничное пространство микромира нашего организма!

ОРГКОМИТЕТ КОНГРЕССА

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

- Антонова Ирина Николаевна**,
СПб., Россия
заведующая кафедрой пропедевтики
стоматологических заболеваний,
директор
научно-практического центра стоматологии
- Афанасьев Борис Владимирович**,
СПб., Россия
Гематология, трансфузиология, трансплантация
- Вавилова Татьяна Владимировна**,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Дюк Вячеслав Анатольевич**,
СПб., Россия
Биомедицинская информатика
- Зыбина Наталия Николаевна**,
СПб., Россия
(заместитель главного редактора)
Клиническая лабораторная диагностика
- Калнер Андерс**,
Швеция
Клиническая лабораторная диагностика
- Карпищенко Анатолий Иванович**,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Козлов Антон Владимирович**,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Корячкин Виктор Анатольевич**,
СПб., Россия
Анестезиология, реаниматология
и интенсивная терапия
- Мазуров Вадим Иванович**,
СПб., Россия
Ревматология
- Меньшиков Вадим Владимирович**,
Москва, Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Новик Виктор Иванович**,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Петришев Николай Николаевич**,
СПб., Россия
Патологическая физиология
- Сапрыгин Дмитрий Борисович**,
Москва, Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Сельков Сергей Алексеевич**,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Смирнов Алексей Владимирович**,
СПб., Россия
Нефрология
- Соколовский Евгений Владиславович**,
СПб., Россия
Дерматовенерология
- Стивен Хау Ян Вонг (Steven How Yan Wong)**
ААСС, США
Клиническая лабораторная диагностика
- Сухоруков Владимир Сергеевич**,
Москва, Россия
(заместитель главного редактора)
Клиническая лабораторная диагностика
- Тец Виктор Вениаминович**,
СПб., Россия
Микробиология
- Тогuzов Руслан Тимофеевич**,
Москва, Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Thomas BRINKMANN**, Ass. Prof. Dr., EurClinChem
Corporate Representative at Executive Board
of International Federation of Clinical Chemistry
(IFCC), Milan, Italy
- Томас Бринкманн**, доцент, доктор, EurClinChem
Корпоративный представитель исполнительного
комитета Международной федерации
клинической химии (IFCC),
Милан, Италия
- Хоровская Лина Анатольевна**,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика
- Шляхто Евгений Владимирович**,
СПб., Россия
Кардиология
- Эмануэль Владимир Леонидович**,
СПб., Россия
(главный редактор)
Клиническая лабораторная диагностика

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова
Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия
Научный центр здоровья детей РАМН
Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова
Санкт-Петербургская медицинская академия им. И.И. Мечникова
Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования
Российское общество медицинских генетиков
Союз педиатров России
Российская ассоциация медицинской лабораторной диагностики
Санкт-Петербургская ассоциация общественных объединений родителей детей-инвалидов «ГАООРДИ»
МОО «Человек и его здоровье»

Посвящается памяти профессора Евгения Иосифовича Шварца

РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ
«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ —
ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»

6–9 июня 2010 года, Санкт-Петербург

МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА



Технический комитет Конгресса:



МОО «Человек и его здоровье»

Тел./факс: (812) 542-7291, (812) 542-3591, (812) 542-2225, (812) 541-8893

ph@peterlink.ru

<http://www.congress-ph.ru>

ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО	1
РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ	2
ЕВГЕНИЙ ИОСИФОВИЧ ШВАРЦ	14
<i>А. Аскеров, Д. Керимбекова</i>	
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ГЕНЕЗ РАЗВИТИЯ И РОСТА ЛЕЙОМИОМЫ МАТКИ	16
<i>Ю.И. Афанасьев, А.В. Кузубова, С.Ю. Григорова</i>	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СИНДРОМА В КЛИНИКЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА	19
<i>И.И. Ахметов</i>	
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЗАНЯТИЯМ СПОРТОМ	25
<i>Л.Д. Белоцерковцева, Л.В.Коваленко, Е.В. Бондарева</i>	
ВЛИЯНИЕ СОСТАВА Фолликулярной жидкости на частоту наступления беременности при лечении бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО)	29
<i>О.В. Васильева, А.В. Полоников, В.П. Иванов, М.А. Солодилова, Е.К. Вялых, Н.В. Полякова, В.В. Анцупов</i>	
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КАРДИОВАСКУЛЯРНЫХ И ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР)	32
<i>Л.А. Волянская, Л.Н. Дмитраш</i>	
КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СИНДРОМА НИЙМЕГЕН (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)	39
<i>Н.Г. Даниленко, М.Г. Синявская, А.М. Левая-Смоляк, О.А. Олейник, Е.П. Меркулова, О.Г. Давыденко</i>	
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТИ У ЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ	42
<i>А.М. Зайдман, Е.Л. Завьялова, М.В. Михайловский, В.В. Новиков, А.С. Васюра, В.А. Суздалов, М.А. Садовой</i>	
МУТАЦИЯ ГЕНА NF-1 И ДЕФОРМАЦИЯ ПОЗВОНОЧНИКА	45
<i>В.А. Корнева</i>	
КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА И АПОЛИПОПРОТЕИНА E	51
<i>Т.П. Кравецкая, Н.Л. Ронжина, В.М. Крутяков</i>	
О РОЛИ КОРРЕКТОРСКИХ ЭКЗОНУКЛЕАЗ В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ	57
<i>А.Ю. Крапошина, Е.А. Собко, Л.И. Каптюк, И.В. Демко, А.Б. Салмина</i>	
УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ CD38/АДФ-РИБОЗИЛЦИКЛАЗЫ И ЦИТОКИНОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ	61
<i>И.С. Маслова, И.А. Курникова, Т.Е. Чернышова, Е.Н. Украинец</i>	
САХАРНЫЙ ДИАБЕТ ТИПА 2 И ДИСПЛАЗИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	67
<i>Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова, А.М. Васильева, Е.М. Граховская, И.М. Карамова, О.Е. Мустафина</i>	
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА ПО ПОЛИМОРФНЫМ МАРКЕРАМ ГЕНОВ АПОПТОЗА И СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА	70
<i>В.Г. Линелис, Н.А. Березнева, А.Ю. Асанов</i>	
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ КАРДИОМИОПАТИЙ	74
<i>В.П. Пушкарёв, Е.В. Леонцев, Л.М. Куликов, Е.Д. Пушкарёв, Л.В. Рахманина, В.Ю. Вишневу, Д.А. Дятлов</i>	
ВЛИЯЕТ ЛИ R577X АСТН3 ПОЛИМОРФИЗМ НА ВЫСОКИЕ СПОРТИВНЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ?	85
<i>В.И. Тельнов</i>	
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ ЛЮДЕЙ К РАДИАЦИОННЫМ И ХИМИЧЕСКИМ ЭФФЕКТАМ: АНАЛИЗ СОБСТВЕННЫХ И ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ	88
<i>Е.Г. Тоцкая, Т.И. Поспелова</i>	
ИННОВАЦИОННЫЕ МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОРГАНИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРИИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	94
<i>И.Н. Фетисова</i>	
НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФАКТОРЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ СУПРУЖЕСКОЙ ПАРЫ	97

Содержание

<i>Н.Ю. Шимохина, М.М. Петрова, А.А. Савченко</i> СОСТОЯНИЕ ГЕМОСТАЗА, МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОВТОРНЫХ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ТРОМБОТИЧЕСКОГО ХАРАКТЕРА У СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ БОЛЬНЫХ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА	.102
<i>В.М. Шмелева, С.И. Капустин, Н.А. Кленкова, М.Н. Блинов, Л.П. Папаян</i> ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА, У БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПРИ НАЛИЧИИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ	.107

ТЕЗИСЫ

ОБРАЗОВАНИЕ И ИНТЕГРАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТОВ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ

<i>Virginia C. Thurston</i> MEDICAL GENETICS EDUCATION AND TRAINING FOR MEDICAL STUDENTS, GENETIC COUNSELING STUDENTS AND CLINICAL GENETICS RESIDENTS	.113
<i>Virginia C. Thurston</i> METHODS FOR INTEGRATING MEDICAL GENOMICS INTO A MEDICAL SCHOOL CURRICULUM	.113
<i>А.Ю. Асанов, Т.И. Субботина</i> МОДУЛЬНЫЙ ПРИНЦИП ПРЕПОДАВАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ КАК МЕТОД ОПТИМИЗАЦИИ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА	.114
<i>В.И. Голубцов, А.Т. Зайцева, К.Ю. Лазарев</i> ОБРАЗОВАНИЕ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ В КУБАНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ	.114
<i>Н.А. Малиновская, А.Б. Салмина, С.В. Михуткина, А.А. Болдырев</i> ОПЫТ СОЗДАНИЯ ЭЛЕКТРОННОГО УЧЕБНОГО ПОСОБИЯ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ И ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МЕДИЦИНЕ	.115
<i>М.О. Мхеидзе</i> ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ — ЕСТЬ ПРОБЛЕМА?!	.115
<i>В.В. Никишин, С.И. Лизунова, Г.Ф. Пакуло, Н.А. Шемель, Е.П. Канева</i> КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ВОССТАНОВЛЕНИЮ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ СЕМЬИ	.116
<i>М.М. Шавловский</i> ПРОБЛЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ АДЕКВАТНОЙ ТЕРМИНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ ГЕНЕТИКЕ	.116
ДИАГНОСТИКА, ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ	
<i>Lisa G. Shaffer, Jill Rosenfeld, Blake C. Ballif</i> NEW SYNDROMES IDENTIFIED THROUGH A GENOTYPE-FIRST APPROACH	.117
<i>В.В. Голдобин</i> ПРИМЕНЕНИЕ БОТУЛОТОКСИНА В ЛЕЧЕНИИ РИГИДНОСТИ И ГИПЕРКИНЕТИЧЕСКОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ ГЕПАТОЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ДИСТРОФИЕЙ	.117
<i>Н.С. Демикова, А.С. Лапина</i> ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ И ПРОФИЛАКТИКА ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ У ДЕТЕЙ	.118
<i>Т.И. Кадурина, Л.Н. Аббакумова</i> ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ НАРУШЕНИЙ ЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА С ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	.118
<i>Т.И. Кадурина, Л.Н. Аббакумова</i> ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ С ХАРАКТЕРОМ ТЕЧЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	.119

Содержание

<i>К.Ю. Лазарев, В.И. Голубцов, Е.Е. Панкова, С.А. Матулевич, А.Т. Зайцева</i> ВКЛАД НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ В ФОРМИРОВАНИЕ МНОЖЕСТВЕННЫХ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ	119
<i>А.Л. Пухальский, Г.В. Шмарина, Н.И. Капранов, В.А. Алешкин</i> НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОГЕНЕЗА МУКОВИСЦИДОЗА	120
<i>Т.Н. Стрелкова, М.В. Рогова, А.П. Карпова, С.Л. Зиновьева</i> СИНДРОМ АБДЕРГАЛЬДЕНА–ЛИНЬЯКА–КАУФМАНА	120
<i>Т.Н. Стрелкова, Т.Н. Поздновская, М.В. Мухачева, А.П. Карпова</i> КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ СИНДРОМА БАРТТЕРА	121
<i>С.Е. Хальчицкий, М.О. Мхеидзе, И.Ф. Никифорова, И.А. Иванов, Н.П. Стадник, Е.С. Шабанова</i> ВЫЯВЛЕНИЕ МУТАЦИИ R408W СРЕДИ БОЛЬНЫХ ФКУ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ	121
<i>А.Р. Шорина, Н.П. Федорук, А.Б. Масленников</i> ВОПРОСЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ ЛИЗОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАКОПЛЕНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ	122
ПРЕКОНЦЕПЦИОННАЯ И ПРЕДИМПЛАНТАЦИОННАЯ ДИАГНОСТИКА	
<i>В.К. Поздеев</i> МОНИТОРИНГ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ	123
ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА	
<i>Anna Soler</i> CYTOGENETIC/MOLECULAR APPROACHES TO STUDYING SPONTANEOUS ABORTIONS	124
<i>Prof. Dr. Eberhard G. Mönch</i> MODERN APPROACHES TO NEONATAL SCREENING	125
<i>Anver Kuliev</i> PREIMPLANTATION DIAGNOSIS: PRIMARY PREVENTION OF GENETIC DISORDERS AND STEM CELL THERAPY OF CONGENITAL AND ACQUIRED CONDITIONS WITH NO OTHER AVAILABLE TREATMENT	125
<i>И.И. Крукиер, А.Т. Лигидова, А.А. Никашина, А.В. Рожков</i> БИОАКТИВНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ	126
<i>Т.Н. Погорелова, В.И. Орлов, В.О. Гунько</i> ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ	127
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ АРХИТЕКТУРА ФЕНОТИПОВ РАСПРОСТРАНЕННЫХ СИНДРОМОВ	
<i>Д.П. Березовский, И.В. Корниенко</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ В ПРАКТИКЕ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОГО ЭКСПЕРТА В СЛУЧАЯХ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ТУПОЙ ТРАВМЕ	128
<i>С.Н. Колюбаева, Ю.С. Сергеев, Е.А. Волошина, О.В. Мерзликина, Н.А. Викторова, О.Р. Краснова</i> ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У РЕБЕНКА С СИНДРОМОМ ВОЛЬФА–ХИРШХОРНА, РОЖДЕННОГО У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННОЙ МАТЕРИ	128
<i>Т.Н. Стрелкова, А.П. Карпова, М.В. Рогова, С.Л. Зиновьева</i> КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРИ МУТАЦИИ ГЕНА WT1, РАСПОЛОЖЕННОГО НА 11P13	129
<i>Г.В. Шмарина, А.Л. Пухальский, В.А. Алешкин</i> МУКОВИСЦИДОЗ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА TNF	130
ГЕНЕТИКА РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ	
<i>Renée H. Martin</i> MEIOTIC ABNORMALITIES IN HUMAN SPERMATOGENESIS	131

Содержание

<i>А.С. Глотов, Е.С. Вашукова, М.Д. Канаева, Д.Р. Бикмуллина, М.С. Зайнулина, П.С. Татарский, Л.А. Лившиц, В.С. Баранов</i> СОВМЕСТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПО РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН РОССИИ И УКРАИНЫ С ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫМИ ФОРМАМИ ТРОМБОФИЛИИ	131
<i>Д.В. Гусаров, Г.Г. Родионов, Т.В. Гришанкина, И.Н. Зайченко, Н.В. Кузьмина, М.А. Федорова</i> О ВОЗМОЖНОСТИ ВЛИЯНИЯ СВЕРХНОРМАТИВНОГО НИЗКОЧАСТОТНОГО ШУМА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ	132
<i>Н.А. Друккер, В.В. Авруцкая, А.В. Волошина, М.Г. Некрасова</i> ВЗАИМОСВЯЗЬ МОДИФИКАЦИИ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД И КОНТРАКТИЛЬНОЙ МАТКИ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ	132
<i>Н.В. Ковалева</i> ГЕНЕТИКА ГОНАДНОГО МОЗАИЦИЗМА	133
<i>К.П. Кропмаер, Г.Б. Безнощенко</i> СИСТЕМНЫЙ И ЛОКАЛЬНЫЙ АНГИОГЕНЕЗ У БЕРЕМЕННЫХ С ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ	133
<i>Е.В. Маркова, Н.В. Казьмина, О.М. Казанцева, Д.А. Татару, Т.А. Зайцева, А.В. Светлаков</i> СКРИНИНГ МУТАЦИЙ ГЕНА CFTR ПРИ МУЖСКОМ БЕСПЛОДИИ	134
<i>О.Н. Садекова, Л.А. Никитина, Е.Ю. Тихончук, Е.М. Демидова, Л.М. Самоходская</i> АНГИОГЕНЕЗ И ПРИВЫЧНОЕ НЕВЫНАШИВАНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ	134
КЛИНИЧЕСКАЯ ЭПИГЕНЕТИКА И НЕКАНОНИЧЕСКОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ	
<i>И.Н. Лебедев</i> ЭПИГЕНЕТИКА И РЕПРОДУКЦИЯ ЧЕЛОВЕКА	135
<i>Е.В. Пицки, И.О. Сучкова, К.В. Соловьев, Н.В. Аленина, М. Бадер, А.С. Глотов, В.С. Баранов, Е.Л. Паткин</i> ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИНИСАТЕЛЛИТА В2VNTR ГЕНА <i>VDKRB2</i> В НОРМЕ И ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ	135
<i>Е.Ю. Рыкова, Е.В. Елистратова, Т.Э. Скворцова, О.Е. Брызгунова, С.Н. Тамкович, Г.А. Цветовская, Е.Д. Чикова, П.И. Шелестюк, В.В. Власов, П.П. Лактионов</i> ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОНКОМАРКЕРЫ ВО ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ДНК КРОВИ: ОСОБЕННОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ОНКОДИАГНОСТИКЕ	136
<i>Е.А. Саженова, И.Н. Лебедев</i> ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ ГЕНОМНОГО ИМПРИНТИНГА ПРИ ПАТОЛОГИИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА	136
<i>А.Л. Сухомясова, Н.Р. Максимова, А.Н. Ноговицына, Л.П. Назаренко, Е.Е. Гуринова, М.Н. Коротов, И.А. Николаева, В.П. Пузырев</i> БОЛЕЗНИ ЭКСПАНСИЙ В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)	137
<i>Е.Н. Толмачева, А.А. Кашеварова, И.Н. Лебедев</i> ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС ЭМБРИОНАЛЬНОГО ГЕНОМА ПРИ ХРОСОМОМНОМ МОЗАИЦИЗМЕ	138
МЕТОДЫ ОЦЕНКИ МУТАГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ КСЕНОБИОТИКОВ	
<i>З.Ж. Васильева, Р.И. Берсимбаев, Б.О. Бекманов, У. Ау</i> ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ <i>XRCC1</i> И <i>XRCC3</i> НА УРОВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У РАБОЧИХ УРАНОДОБЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ	139
<i>А.А. Ващенко, В.Г. Зайцев, Б.В. Меклеева, О.В. Островский</i> КОМЕТНЫЙ АНАЛИЗ ДНК В ОЦЕНКЕ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ЭФФЕКТОВ ЭКЗОГЕННЫХ ТОКСИКАНТОВ НА УРОВНЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК	139
<i>И.С. Колесникова, И.Е. Воробцова</i> ОПОСРЕДОВАННЫЙ АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ, ВЫЯВЛЯЕМЫЙ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ЛИМФОЦИТОВ РАЗНОПОЛЫХ ДОНОРОВ	140
<i>О.Г. Площанская, Г.А. Веремеева, Т.Н. Почухайлова, Е.А. Блинова, А.В. Аклеев</i> ЧАСТОТА МУТАЦИЙ В ГЕНЕ <i>TP53</i> И ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОБЛУЧЕНИИ ЧЕЛОВЕКА	140

<i>В.А. Тимошевский, И.Н. Лебедев, С.А. Васильев</i> ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ	141
КЛЕТочНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ	
<i>Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская, Н.В. Станчева, Е.В. Семенова</i> АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ	142
<i>Н.В. Белякова, О.К. Легина, Н.Л. Ронжина, И.В. Шевелев, В.М. Крутяков</i> ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕПАРАТИВНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЧЕЛОВЕКА: ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ β И $3' \rightarrow 5'$ -ЭКЗОНУКЛЕАЗЫ TREX-2	142
<i>В.Н. Вавилов, А.В. Акимова, И.М. Бархатов, С.Н. Ширяев, Б.В. Афанасьев</i> ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ПАРАМЕТРОВ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У РЕЦИПИЕНТОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК	143
<i>О.Б. Вайнер, И.А. Запороженко, С.И. Романов, Д.В. Пышный, И.А. Пышная, Е.В. Дмитриенко, П.П. Лактионов</i> ВЫДЕЛЕНИЕ РЕДКИХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРОВИ КЛЕТОК ПРИ ПОМОЩИ МИКРОКАНАЛЬНЫХ КРЕМНИЕВЫХ МАТРИЦ	143
<i>Д.В. Иванов, А.А. Хадарцев, В.А. Хадарцев, Д.С. Станков, Т.И. Субботина, И.Н. Сабурин, Н.В. Кошелева, А.А. Горкун</i> ВОЗМОЖНОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ	144
<i>А.К. Мартусевич</i> МЕДИЦИНСКАЯ БИОКРИСТАЛЛОМИКА: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ, МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ В БИОСИСТЕМАХ	144
<i>Д.С. Станков, Т.И. Субботина, А.А. Хадарцев, В.А. Хадарцев, Д.В. Иванов</i> ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В ВОССТАНОВЛЕНИИ МИОКАРДА	145
<i>В.Ю. Сысоева, К.А. Рубина, Н.И. Калинина, З.И. Цоколаева, К.В. Дергилев, Е.В. Парфенова, В.А. Ткачук</i> ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ТКАНЕЙ	145
МОЛЕКУЛЯРНАЯ КАРДИОЛОГИЯ, НЕВРОЛОГИЯ, АЛЛЕРГОЛОГИЯ, ПУЛЬМОНОЛОГИЯ, СТОМАТОЛОГИЯ, ГЕМАТОЛОГИЯ, НЕФРОЛОГИЯ, ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ, ОНКОЛОГИЯ, ЭНДОКРИНОЛОГИЯ	
<i>Е.Ю. Андреевко, А.В. Балацкий, П.И. Макаревич, Л.М. Самоходская, С.А. Бойцов</i> СОЧЕТАННОЕ ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ТРАДИЦИОННЫХ ФАКТОРОВ РИСКА НА РАЗВИТИЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА	146
<i>Е.Н. Андрюхина, Е.А. Рославцева</i> ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЦЕЛИАКИИ	146
<i>В.Н. Анисимов, М.А. Забежинский, И.Г. Попович, П.А. Егормин, Т.С. Пискунова, А.В. Семенченко, М.Л. Тындык, М.Н. Юрова</i> РОЛЬ МОДИФИКАЦИИ ЭКСПРЕССИИ mTOR В МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	147
<i>А.С. Бабенко, В.А. Синелёв, А.В. Свирид, Л.Н. Денчук, Д.И. Боровицкий</i> ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ СYP1A1, СYP1B1 И СYP19A1 ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ	147
<i>В.В. Байков, Т. Слердал, Р.У. Холт, М. Борсет, А. Вооге, А. Сундан</i> АДГЕЗИЯ МИЕЛОМНЫХ КЛЕТОК К ФИБРОНЕКТИНУ ЗАВИСИТ ОТ ИНТЕГРИНА VLA-4 И СИНДЕКАНА-1	148
<i>А.В. Балацкий, Е.Ю. Андреевко, Л.М. Самоходская, С.А. Бойцов</i> РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КОННЕКСИНА-37 В РАЗВИТИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА	149
<i>В.А. Белоногова, Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова, И.М. Карамова, О.Е. Мустафина</i> ГАПЛОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА CCL2 У БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ	149
<i>З.Ж. Васильева, И.Е. Воробцова, Д.А. Тимофеев, М.И. Школьник</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ IN SITU (FISH) В ДИАГНОСТИКЕ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ	150
<i>Г.Р. Виноградская, А.В. Волницкий, М.В. Филатов</i> ВЛИЯНИЕ БЕЛКА P73 НА АПОПТОЗ, КАНЦЕРОГЕНЕЗ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ	150

Содержание

<i>А.Н. Войтович, М.А. Богданова, Б.И. Смирнов, А.А. Быстрова, Т.Д. Глебовская, Е.И. Красильникова, М.И. Бадмаева, О.А. Беркович, Е.И. Шляхто, В.И. Ларионова</i>	
ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА У БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМИ ФЕНОТИПАМИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА	151
<i>О.А. Востряхина, Т.А. Штам, Г.М. Бутрович, В.А. Ланцов</i>	
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МНОЖЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЧЕЛОВЕКА	152
<i>И.А. Горбачева, Ю.А. Сычева, Л.А. Николаева, Д.А. Попов, Л.В. Слепнева, Н.Н. Алексеева</i>	
АНТИГИПОКСАНТНАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА	152
<i>И.А. Горбачева, Л.А. Шестакова, В.А. Малоземова, О.В. Михайлова, Л.Г. Владимирова</i>	
КОРРЕКЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНАВИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ	153
<i>Д.С. Джумагазиева, В.Б. Бородулин, О.Е. Царёва</i>	
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ГЕМОБЛАСТОЗОВ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ	154
<i>С.Г. Журавский, Д.А. Мазикина, Н.Б. Золотова, Н.В. Пискунова, А.Е. Тараскина, С.Н. Пчелина, С.М. Котова</i>	
КАРТИНА АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА У ЖЕНЩИН С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА	154
<i>Л.П. Егорова</i>	
ИММУНОАЛЛЕРГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЯМИ	155
<i>Е.А. Исупова, М.А. Виноградова, М.В. Жданова, О.А. Кононова, Г.А. Новик, В.И. Ларионова</i>	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА β 2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА И ГЕНА β 3 СУБЪЕДИНИЦЫ G-БЕЛКА У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ	155
<i>Т.И. Кадурина, А.В. Цимбалистов, Г.Б. Шторина, Т.Т. Нацвлишвили</i>	
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ АГРЕССИВНОГО ПАРОДОНТИТА	156
<i>А.С. Каракушикова, К.В. Рахимова, Г.М. Абдуллаева</i>	
ПНЕВМОНИЯ НЕДОНОШЕННЫХ, РОЖДЕННЫХ НА 22–34 НЕДЕЛЕ ГЕСТАЦИИ	157
<i>Г.А. Кислик, Д.И. Родин, О.И. Большакова, С.В. Саранцева</i>	
ДЕФИЦИТ СИНАПТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В МОЗГЕ ТРАНСГЕННЫХ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА <i>APP</i> ЧЕЛОВЕКА	157
<i>И.Б. Ковынев, Т.И. Поспелова, Н.В. Скворцова, А.С. Лямкина, Е.Н. Воропаева, О.В. Березина, Р.В. Тарновский</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ СОЧЕТАННОЙ ЭКСПРЕССИИ ОНКОПРОТЕИНОВ С-МУС И МР53 ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ НЕХОДЖКИНСКИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЛИМФОМ	158
<i>О.А. Краснова, М.Ю. Ситникова, С.Г. Иванов, В.И. Ларионова</i>	
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АНГИОТЕНЗИНОГЕНА М235Т И КЛИНИЧЕСКИЕ, СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ИШЕМИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА	158
<i>А.А. Кратнов, Е.С. Узлов, А.Е. Кратнов</i>	
ПОКАЗАТЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ И МЕТАБОЛИЗМ НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ТРОПОНИНА Т	159
<i>Д.А. Кузьмина, М.В. Москаленко, М.М. Костик, С.В. Азанчевская, А.О. Сидоркин, Б.Т. Мороз, В.П. Новикова, В.И. Ларионова</i>	
АССОЦИАЦИЯ ГЕНОТИПОВ COL1A1 С РАЗВИТИЕМ ФИБРОЗА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРОДУОДЕНИТЕ И СОПУТСТВУЮЩИМ КАРИЕСОМ У ДЕТЕЙ	159
<i>Н.А. Малиновская, А.Б. Салмина, С.В. Прокопенко, Ю.А. Панина</i>	
CD38 — МОЛЕКУЛА-МАРКЕР НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ ПАРКИНСОНИЗМЕ	160
<i>Г.М. Манихас, Н.Ю. Антимоник, Н.П. Беляк, Н.В. Жукова</i>	
КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МИШЕНИ HER2/NEU В ЛЕКАРСТВЕННОМ ЛЕЧЕНИИ ДИССЕМНИРОВАННОГО РАКА ЖЕЛУДКА	160

<i>Г.М. Манихас, Н.Ю. Антимониц, Н.П. Беляк</i>	
ОПЫТ ЛЕКАРСТВЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ ДИССЕМИНИРОВАННОГО РАКА ЖЕЛУДКА С ВКЛЮЧЕНИЕМ ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОМ ГОРОДСКОМ ОНКОЛОГИЧЕСКОМ ДИСПАНСЕРЕ	161
<i>Ж.А. Миронова, В.И. Трофимов, М.В. Дубина, Е.Д. Янчина, М.А. Симакова, В.А. Белаш</i>	
АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ С3435Т ГЕНА МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ (MDR1), R130Q ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 13 (IL13), 590 С/Т IL4 — МАРКЕРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ (БА)	162
<i>Е.А. Москалёв, И.А. Воробьёв, И.В. Буре, А.А. Гладких, Е.А. Никитин, V. Beier, J.D. Hoheisel</i>	
АНОМАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАРТИНЫ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОМНОЙ ДНК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ В-КЛЕТОЧНОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ: ГИБРИДИЗАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ НА ДНК-ЧИПАХ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ	162
<i>В.Ю. Никитин, И.А. Сухина, А.В. Новицкий, И.В. Ширина, А.М. Иванов, М.Г. Вершинина</i>	
ИММУНОФЕНОТИЧЕСКИЕ ЧЕРТЫ РЕДКИХ ФОРМ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ	163
<i>Д.Г. Новиков</i>	
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ, АССОЦИИРОВАННЫЙ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЖЕЛУДКА КИШЕЧНОГО ТИПА	164
<i>А.В. Новицкий, И.А. Сухина, В.Ю. Никитин, А.М. Иванов, М.И. Елисеева</i>	
ИММУНОФЕНОТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ В ДИАГНОСТИКЕ ХРОНИЧЕСКИХ В-ЛИМФОЦИТАРНЫХ ЛЕЙКОЗОВ/НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ	164
<i>О.С. Окунева, О.В. Фролова, А.В. Моргун, Н.А. Малиновская, А.Б. Салмина</i>	
УЧАСТИЕ АДФ-РИБОЗИЛЦИКЛАЗЫ В ДИСРЕГУЛЯЦИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОМ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ЦНС	165
<i>В.Г. Линелис, Н.А. Березнева, О.Е. Громыко, А.Ю. Асанов</i>	
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СЕМЕЙНЫХ ФОРМАХ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ	166
<i>В.Я. Плоткин, М.А. Тимошина, С.В. Азанчевская, Т.Э. Иващенко, Н.Н. Хромов-Борисов</i>	
ЭНТЕРОВИРУС, ИНФАРКТ МИОКАРДА И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ	166
<i>Б.А. Понур, И.Г. Костенко, Т.В. Зубкова, С.А. Сильченко</i>	
КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПУТЕМ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ В ГЕНЕ BRAF И ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	167
<i>С.Н. Пчелина, А.Ф. Якимовский, А.К. Емельянов, О.Н. Иванова, Т.С. Усенко, А.С. Дроздова, А.Л. Шварцман</i>	
НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФОРМЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА	167
<i>Т.М. Рожнова, А.Ю. Асанов, М.Г. Аксёнова</i>	
АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА DRD2 С ПОВЕДЕНЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ В ФОРМЕ АЛКОГОЛИЗМА И СОЗАВИСИМОСТИ	168
<i>Н.М. Слозина, Е.Г. Неронова, И.В. Трофимова, О.А. Саблин</i>	
МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ	168
<i>И.А. Сухина, В.Ю. Никитин, С.Н. Колюбаева, А.В. Новицкий</i>	
ИММУНОФЕНОТИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВАРИАНТОВ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА С МОНОЦИТОИДНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКОЙ	169
<i>В.С. Тихонова, А.Н. Войтович, Д.С. Коростовцев, В.И. Ларионова</i>	
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ПОЛИМОФИЗМА A38G ГЕНА CC16 У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ	170
<i>М.А. Травин, Т.А. Агеева, Е.Г. Тоцкая</i>	
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ IN SITU В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ	170
<i>Б.В. Холодов, А.С. Белохвостов, В.В. Шахтарин, Е.Г. Суворова, О.В. Горичева, А.А. Абрамов, А.Р. Зарецкий, Е.М. Тарасова, С.К. Горелышев, Л.В. Шишкина, А.Г. Притыко</i>	
СОЧЕТАНИЕ МУТАЦИЙ ГЕНА P53 И МЕТИЛИРОВАНИЯ MGMT ПРИ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ	171
<i>В.С. Феоктистова, М.Г. Колесниченко, И.А. Леонова, С.А. Болдуева, О.В. Сироткина</i>	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ECNOS 4A/4B, PON1 Q191R, EDN1 LYS198ASN, AVSA1 C69T У ЖЕНЩИН С КАРДИАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ X И С АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ	171

Содержание

<i>А.П. Хмырова, А.Н. Войтович, М.А. Богданова, О.А. Кононова, Л.О. Любашева, Т.С. Разоренова, В.И. Ларионова</i> ЧАСТОТА РЕДКИХ АЛЛЕЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ОТЯГОЩЕННЫМ СЕМЕЙНЫМ АНАМНЕЗОМ ПО РАННЕМУ РАЗВИТИЮ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ (ССЗ)	172
<i>А.Н. Хусаинова, Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова, О.В. Заплахова, К.З. Бахтиярова, О.Е. Мустафина</i> ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАССЕЯННОМУ СКЛЕРОЗУ	173
<i>В.В. Шахтарин, О.В. Дрозд, Е.М. Рогожина, С.О. Айвазян, М.С. Бачманова, А.Г. Притыко</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНА SCN1A ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКИХ ЭПИЛЕПСИЯХ	173
<i>А.И. Яременко, В.Н. Матина, Е.Г. Криволицкая, В.В. Кисленков, И.А. Кравцова, К.И. Старковский</i> СОЗДАНИЕ МИКРОПОР НА ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТАХ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В СТОМАТОЛОГИИ	174
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ	
<i>Е.В. Бабунина, А.Е. Кратнов, О.В. Макина</i> ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ НЕЙТРОФИЛОВ У ДЕТЕЙ С АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ	175
<i>В.А. Гук, А.К. Иорданишвили, Г.А. Рыжак</i> КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПЕРЕЛОМОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА	175
<i>Л.Н. Колбасин, И.А. Урванцева, Н.А. Гильнич</i> АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА Q192R ГЕНА ПАРАОКСОНАЗЫ PON1 С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЛИПИДОГРАММЫ	176
<i>М.Ю. Мандельштам, А.С. Головина, Т.Ю. Комарова, Б.М. Липовецкий, В.О. Константинов, В.А. Корнева, А.Д. Денисенко, В.Б. Васильев</i> СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИКИ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ И В ПЕТРОЗАВОДСКЕ	177
<i>Н.М. Слозина, Е.Г. Неронова, И.В. Трофимова, О.А. Саблин</i> АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D И COL1A1 У МУЖЧИН С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ОСТЕОПАТИЯМИ	177
<i>О.В. Фаламеева, А.В. Графов, Ю.В. Храпова, Е.А. Куляев, М.М. Рзаев, В.Т. Верхотурова, И.В. Плотникова, М.А. Садовой</i> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ОСТЕОПОРОЗА КАК МИШЕНИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ	178
<i>Ю.В. Щукин, А.Н. Вачёв, Е.И. Селезнёв, Е.А. Медведева, Е.А. Суркова, В.А. Дьячков, О.Е. Абашина</i> ОКИСЛИТЕЛЬНО-НИТРОЗИНОВЫЙ СТРЕСС И ЭНДОГЕННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ У БОЛЬНЫХ МУЛЬТИФОКАЛЬНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ В ПРЕД- И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДАХ БИФУРКАЦИОННОГО АОРТО-БЕДРЕННОГО ШУНТИРОВАНИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ АТОРВАСТАТИНОМ	178
СПОРТИВНАЯ ГЕНЕТИКА	
<i>А.М. Дружевская, И.В. Астратенкова</i> ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ МИОГЕННОГО ФАКТОРА 6 И α -АКТИНИНА-3, ИХ АССОЦИАЦИЯ С ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ И СТРУКТУРОЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ЧЕЛОВЕКА	179
<i>В.М. Егоров, О.С. Готов, А.С. Готов</i> ОЦЕНКА УЗКОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ И ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ТРЕНИРОВОЧНОГО ПРОЦЕССА У ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПОРТСМЕНОВ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОГРАММ	179
<i>П.И. Лидов</i> ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В СПОРТЕ — СТРАТЕГИЧЕСКОЕ НАПРАВЛЕНИЕ СПОРТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ	180
<i>А.А. Топанова, Н.Д. Гольберг</i> ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ, И ПИТАНИЕ ЮНЫХ СПОРТСМЕНОВ	180
<i>О.Н. Федотовская, И.В. Астратенкова</i> АССОЦИАЦИЯ A/G ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МЫШЕЧНОЙ КРЕАТИНКИНАЗЫ (СКММ) С ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТЬЮ СПОРТСМЕНОВ	181
ЭТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ	
<i>Ros Hastings</i> THE IMPACT OF WHOLE GENOME TESTING ON LABORATORY SERVICES IN EUROPE	182

ПРОБЛЕМЫ МЕТРОЛОГИИ, СЕРТИФИКАЦИИ И СТАНДАРТИЗАЦИИ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Ros Hastings

THE IMPORTANCE OF ACCREDITATION AND EQA TO ASSURE THE PROVISION OF A QUALITY GENETIC LABORATORY SERVICE IN EUROPE	182
---	-----

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

А.Л. Алянский, О.В. Паина, Н.Е. Иванова, А.А. Головачёва, Б.В. Афанасьев

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ	183
--	-----

О.В. Бердюгина

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ТРОМБОЗАМИ, У БОЛЬНЫХ С ОТЯГОЩЕННЫМ АНАМНЕЗОМ	183
--	-----

А.А. Василишина, А.Н. Войтович, О.А. Кононова, О.Н. Семенова, М.М. Шавловский, В.И. Ларионова

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PRDX5 В ПОПУЛЯЦИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА	184
---	-----

Л.Н. Гончарова, Е.И. Тимошкина, С.В. Семенова, О.Н. Кузовенкова, А.Ю. Постнов

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ И ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИЯ	184
--	-----

О.В. Горючева, А.А. Абрамов, Ю.В. Горючева, С.А. Айвазян, К.В. Осипова, М.М. Яворская, В.В. Шахтарин, А.Г. Притыко

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА UGT1A6 У ДЕТЕЙ С ЭПИЛЕПСИЕЙ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ	185
---	-----

С.Г. Журавский, О.В. Гринчик, С.Н. Пчелина

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР РИСКА РАЗВИТИЯ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТИ В РЕЗУЛЬТАТЕ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ ПЛОДА В РОДАХ	185
---	-----

Ю.Н. Филиппова, Н.В. Ибрагимова, Н.И. Копейкина, Е.Н. Новикова, Н.М. Слозина

АНАЛИЗ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА САНКТ-ПЕТЕРБУРГА	186
---	-----

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЕ

Е.А. Бражникова, В.Г. Дружинин

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МНОГОМЕРНОЙ СТАТИСТИКИ ПРИ СРАВНИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ДВУХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП	187
--	-----

Н.И. Воробьев

МОДЕРНИЗАЦИЯ ФАКТОРНОГО АНАЛИЗА С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ГРАФИЧЕСКИХ ФОРМ, ИЗОБРАЖАЮЩИХ СХЕМЫ МЕЖКОМПОНЕНТНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ В СЛОЖНЫХ БИМЕДИЦИНСКИХ СИСТЕМАХ	187
---	-----

Е.Я. Гречанина, Ю.Б. Гречанина, О.В. Васильева, А.И. Поворознюк, А.Е. Филатова

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ КЛАСТЕРНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	188
---	-----

М.В. Загривная, А. Vadbaran, В. Fehse, N. Kruger, A.R. Zander, И.М. Бархатов, Е.И. Дарская, Б.В. Афанасьев

ПУТИ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ В ХОДЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОНИТОРИНГА МОБ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК	188
---	-----

В.В. Никишин, С.И. Лизунова, П.В. Ижевский, Е.П. Канева

МОНИТОРИНГ ВРОЖДЕННЫХ АНОМАЛИЙ В УЧРЕЖДЕНИЯХ ФМБА РОССИИ	189
--	-----

А.А. Филимонова

НОВАЯ МЕТОДИКА ФЕНОТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450 ЧЕЛОВЕКА	189
---	-----

Н.Н. Хромов-Борисов

ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПАСПОРТИЗАЦИИ	190
---	-----

И.А. Юнусов, Н.А. Курицына, И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ТОКСИКОЗА С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ	191
---	-----

ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО	192
------------------------------------	------------



**Евгений
Иосифович
Шварц**

Евгений Иосифович Шварц родился 16 марта 1940 года в городе Бобруйске в семье военного летчика, героически погибшего в 1942 году под Москвой.

В 1961 году сразу после окончания школы Е.И. Шварц поступает в Ленинградский педиатрический медицинский институт, который заканчивает в 1967 году.

С 1968 года Е.И. Шварц работает в Институте Экспериментальной Медицины АМН СССР в группе члена-корреспондента АМН СССР профессора Е.Ф. Давиденковой, где успешно защищает в 1971 году кандидатскую диссертацию. Там же в 1982 году Е.И. Шварц защищает и свою докторскую диссертацию, тема которой «Метаболические основы иммунологических нарушений в клетках с трисомией по 21 хромосоме».

С 1985 года Евгений Иосифович начинает работать в Ленинградском институте ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН и под его руководством сначала работает группа сотрудников, а в 1992 году при активной поддержке руководства института и лично Виктора Николаевича Фомичева организуется лаборатория молекулярной генетики человека, которой Евгений Иосифович руководил до последнего дня своей жизни. В институте под руководством Е.И. Шварца проводятся приоритетные работы по конструированию кДНК-овой библиотеки печени человека на основе бактериофага λ gt11. В этой работе кроме сотрудников ЛИЯФа принимают участие исследователи из Института канцерогенеза (Москва), Кардиологического научного центра (Москва), Института молекулярной биологии и генетики (Киев). Работа, в которой впервые были отработаны многие методы молекулярного клонирования, была успешно завершена в 1987 году. Именно в этот период была сформирована группа молодых активных талантливых исследователей, в которую первоначально входят С.Е. Хальчицкий, Е.М. Зайцева, О.К. Кабоев, А.А. Гольцов, Е.Н. Зайцев и которая затем становится ядром разрастающейся лаборатории.

Коллектив, возглавляемый Евгением Иосифовичем, первым в СССР и одним из первых в мире применил метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики мутационных повреждений ДНК. Для этих целей О.К. Кабоевым выделена и использована ДНК-полимераза из культуры термофильной бактерии *Thermus thermophilus*, привезенной из экспедиции на Курильские острова. Неоценимую помощь в синтезе праймеров и зондов для ПЦР оказывают сотрудники Института биоорганической химии (Москва) под руководством проф. Ю.А. Берлина. Все работы по постановке ПЦР проводятся вручную, на трех водяных термостатах лаборантом Л.И. Фроловой, режимы и реакционные смеси подбираются экспериментально.

В 1989 под руководством Е.И. Шварца с помощью метода ПЦР сотрудниками лаборатории С.Е. Хальчицким и А.А. Гольцовым получены первые результаты по природе мутационных повреждений при фенилкетонурии и β -талассемии. Без метода ПЦР невозможно было бы широкое внедрение в практическую медицину методов молекулярной диагностики. Эти исследования послужили началом развития молекулярной медицины в нашей стране.

В 1990 под руководством Е.И. Шварца сотрудниками лаборатории С.Е. Хальчицким и А.И. Кузьминым создан метод амплификации ДНК с пятен крови на фильтровальной бумаге, оформленный как изобретение и опубликованный в международных журналах *Lancet* и *Nucleic Acids Research*. В настоящее время метод получил широкое внедрение в практическую работу многочисленных лабораторий всего мира.

В это же время в Институте ядерной физики при непосредственном участии Е.И. Шварца и его сотрудников, в первую очередь А.Н. Третьякова, делаются первые попытки автоматизации ПЦР на базе элементов Пелтье. Создаются и апробируются первые в стране термоциклеры для проведения ПЦР. В лаборатории Евгения Иосифовича разрабатываются оригинальные методы оценки мутационных повреждений ДНК — метод идентификации личности на основе RFLP и SSCP D-петли митохондрий. Впервые в стране создана карта мутационных повреждений моногенного заболевания фенилкетонурии (90% мутантных аллелей), что явилось основой эффективной профилактики заболевания. Результаты этой работы вошли в диссертационные труды сотрудников лаборатории С.Е. Хальчицкого и С.С. Барановской.

В этот же период в 1989 году Е.И. Шварцем при поддержке ректора Ленинградского Педиатрического медицинского института проф., д. м. н. В.П. Алферова в институте была создана учебная кафедра медицинской генетики, которую Е.И. Шварц возглавлял в течение 11 лет. Здесь он впервые начинает читать уникальный курс лекций по молекулярной медицине для студентов медицинских вузов и клинических ординаторов.

С 1987 по 1991 год Е.И. Шварц является членом проблемной комиссии по молекулярной генетике человека Министерства Здравоохранения СССР. Долгие годы и до конца жизни он является членом редакционной коллегии международного журнала «Molecular Genetics and metabolism».

Коллектив Евгения Иосифовича одним из первых в стране приступает к изучению наследственных основ многофакторных заболеваний, в основе развития которых лежит сложное взаимодействие наследственных и средовых факторов.

В начале 90-х годов в лаборатории молекулярной генетики человека Ленинградского института ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН под руководством профессора Е.И. Шварца в сотрудничестве с коллективом кафедры факультетской терапии Ленинградского Педиатрического медицинского института (зав. проф., д. м. н. Ю.Р. Ковалев) начаты работы по изучению основ наследственной предрасположенности к ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, заложившие основы зарождения молекулярной кардиологии в России.

С 1992 года Е.И. Шварцем в тесном взаимодействии с сотрудниками кафедры педиатрии №3 СПбГПМИ, руководимой проф., д. м. н., главным педиатром города И.М. Воронцовым, было создано научное направление, нацеленное на изучение молекулярно-генетических основ детских истоков сердечно-сосудистых заболеваний. В 2000 году Е.И. Шварцем, Ю.Р. Ковалевым и И.М. Воронцовым было инициировано создание в СПбГПМА лаборатории молекулярной диагностики с расширенной группой молекулярной кардиологии НИЦа, в которой до сегодняшнего дня проводятся исследования в этом направлении (научный руководитель лаб. д. м. н. В.И. Ларионова).

В 90-х годах в тесном сотрудничестве с коллективом, руководимым выдающимся ученым членом-корр. РАН В.С. Гайцхоки, проводятся исследования, направленные на изучение спектра мутаций при семейной гиперхолестеринемии.

С 1997 года исследования в области молекулярной кардиологии проводились в тесном сотрудничестве с коллективом, руководимым академиком РАН В.А. Алмазовым, и в 1998 году была создана лаборатория молекулярной кардиологии. За годы работы с коллективами врачей-кардиологов 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. Выбраны гены-кандидаты, и на вышеуказанных группах больных исследован их вклад в развитие каждой из патологий. В этот период 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 аполипопротеина А 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.

Кроме того, сферой научных интересов Евгения Иосифовича являлось изучение основ предрасположенности не только к сердечно-сосудистой патологии, включая инфаркт миокарда, артериальную гипертензию, ишемический инсульт, а также к венозным тромбозам различной локализации, сахарному диабету 1 типа, бронхолегочной патологии, болезни Паркинсона. В этих работах была доказана важная роль гипергомоцистеинемии в развитии нефропатии у детей с сахарным диабетом 1 типа, впервые установлен строгий вклад аллельного варианта гена параоксоназы в формирование наследственной предрасположенности к болезни Паркинсона.

В 2001 году под руководством Е.И. Шварца в Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. акад. И.П. Павлова открыт отдел молекулярно-генетических технологий, в настоящее время возглавляемый членом-корр. РАН проф., д. м. н. М.В. Дубиной.

Выдающийся ученый, д. м. н., профессор Евгений Иосифович Шварц ушел из жизни 1 июня 2003 года в расцвете своей научной деятельности.

Энтузиаст и новатор, талантливый организатор и руководитель, прекрасный лектор и исключительно доброжелательный человек, всегда критически относящийся к собственным успехам, он создал большую научную школу. Многие ученики и сотрудники Е.И. Шварца стали маститыми учеными и педагогами и возглавляют крупные научные лаборатории и отделы в нашей стране и за рубежом, работающие в области молекулярной генетики человека.

Им опубликовано около 200 печатных работ, более 50 из них в зарубежной печати. Под руководством Е.И. Шварца защищены более 20 кандидатских и докторских диссертаций.

Коллеги и ученики Евгения Иосифовича продолжают исследования в области молекулярной генетики, начатые им, сохраняя память об этом замечательном человеке и талантливым исследователе.

Коллективы Научно-исследовательского центра СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова и Отдела молекулярной и радиационной биофизики Петербургского института ядерной физики РАН им. Б.П. Константинова РАН,

Зав. лабораторией областной детской больницы С.Е. Хальчицкий, Санкт-Петербург

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ГЕНЕЗ РАЗВИТИЯ И РОСТА ЛЕЙОМИОМЫ МАТКИ

А. АСКЕРОВ, Д. КЕРИМБЕКОВА

Кафедра акушерства и гинекологии

Кыргызско-Российский Славянский университет им. Б.Н. Ельцина,

кафедра акушерства и гинекологии

Резюме. В статье представлены результаты клинико-генетического обследования 100 женщин с лейомиомой матки, доказана предрасположенность к развитию и росту лейомиомы матки через изучение особенностей частотного распределения аллелей HLA-системы больных женщин с лейомиомой матки.

Ключевые слова: аллели, генез, лейомиома матки, рост, опухоль.

GENETIC ASPECTS OF GROWTH AND DEVELOPMENT OF UTERUS LEYOMYOMA

A. ASKEROV, D. KERIMBEKOVA

Kirgiz-Russian Slavish B.N. Eltsin University Obstetrics and Gynecology Department

Summary. The results of clinical and genetic investigation of 100 women with leiomyoma of uterus are presented. The character of HLA-system alleles distribution confirms the presence of genetic predisposition to development and growth of uterine leiomyoma.

Key words: allele, genetics, leiomyoma, tumor growth.

Введение

Лейомиома матки — наиболее распространенная доброкачественная опухоль гениталий, этиопатогенез которой до конца не изучен. По данным многих исследователей, лейомиома матки является результатом гиперпролиферативных процессов миометрия, индуцированных различными эндогенными и экзогенными факторами, нарушающими нормальный состав и строение тканей [1, 2].

В литературе имеются указания на иммунные нарушения как этиопатогенетический фактор развития лейомиомы матки, однако данные об особенностях функционирования иммуногенетической системы у этой категории больных немногочисленны. В самые последние годы появилась возможность исследования HLA на качественно новом молекулярно-генетическом уровне при помощи полимеразной цепной реакции. Принципиальным отличием новых методов явилось использование в качестве объекта исследования непосредственно генетического материала — ДНК человека; это реализовалось в том, что количество известных аллелей HLA изменилось со 150 в 1991 г. до 321 — в 1997. При этом среди вновь открытых аллелей установлены аллели чрезвычайно высокого уровня ассоциации с заболеваниями [3].

Учитывая, что в кыргызской популяции такие исследования не проводились, нет полной картины HLA-генетического профиля кыргызской популяции по II классу, а демографическая характеристика Кыргызстана является идеальной для проведения иммуногенетических исследований (население республики имеет

достаточную численность, миграция выражена умеренно и наличествует кровосмешение с высокой частотой гомозиготности по антигенам HLA-системы), назрела необходимость проведения широкого HLA-типирования больных с лейомиомой матки по II классу АГ Главного комплекса гистосовместимости.

Целью исследования было изучение генетической предрасположенности к развитию и росту лейомиомы матки через HLA-типирование больных с лейомиомой матки по II классу АГ Главного комплекса гистосовместимости.

Материал и методы обследования

Для изучения влияния репродуктивного поведения и других факторов на развитие и рост лейомиомы матки проведено комплексное обследование 191 женщины с верифицированными случаями лейомиомы матки, средний возраст которых составил $41,3 \pm 1,2$ лет. На этом же этапе проведены генетические исследования 100 женщин кыргызской популяции с лейомиомой матки, где изучены вопросы особенностей частотного распределения аллелей 3 локусов больных женщин с лейомиомой матки.

Необходимые для анализа данные по контрольной группе (здоровые женщины той же этнической принадлежности в количестве 100 человек) были взяты из ранее проведенного исследования А.Ш. Кыштобаевой (2003).

Для оценки роста опухоли учитывали анамнестические, объективные и ультразвуковые данные в динамике и данные медицинских карт. Статистическую

обработку результатов проводили с использованием программы «Microsoft Excel». Достоверность отличий рассчитывали с учетом t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

Продолжая исследования, мы изучали у больных с лейомиомами в кыргызской популяции иммуногенетическую систему HLA, которая принимает участие в патогенезе данного заболевания. По данным исследования были определены следующие особенности частотного распределения аллелей 3 локусов больных женщин с лейомиомой матки:

1. В локусе DRB1 как самые высокочастотные аллели отмечены *04 (25,5%), редко встречалась такая специфичность как *16 (1,0%).

2. Наиболее распространенными среди женщин с лейомиомами аллелями гена DQA1 были *0201 (28,45%) и *0101 (18%), редко распространенными — аллели *0601 (2,0%) и *0401 (2,1%). Необходимо отметить специфичность *0101 со средним рубежом — 18%.

3. Распределение специфичностей гена DQB1 следующее: 35% рубеж имеет аллель *0201, как менее частотный отмечен аллель *0501 (12,5%), в то время как специфичности *04 и *0502 имеют низкий рубеж — 1% каждая.

Было обнаружено, что по 7 специфичностям гена DRB1 отмечается положительная ассоциация ($RR > 1$), т. е. данные аллели встречаются чаще у женщин с лейомиомой матки, чем у здоровых. Но только аллель DRB1*04 имеет для нас клинический интерес, так как $RR > 2$. Другие специфичности у женщин с лейомиомой матки встречались значительно реже, чем у здоровых лиц, при крайне низких степенях относительного риска ($RR < 0,9$). Негативная ассоциация этих аллелей с лейомиомами связана с их защитными свойствами. Все это позволяет рассматривать специфичность DRB1*04 как генетический маркер предрасположенности к лейомиомам в кыргызской популяции. Сравнение больных и здоровых женщин при помощи модифицированного критерия χ^2 продемонстрировало различие профилей распределения вышеперечисленных четырех специфичностей гена DRB1. Оказалось, что аллели *15 (модифицированный критерий $\chi^2 = 15,79$), *07 ($\chi^2 = 8,47$ при критическом значении χ^2 для 5% уровня 3,8), *13 (модифицированный критерий $\chi^2 = 15,63$) достоверно различались в обеих группах, но имели низкие показатели риска развития, вследствие чего они не имеют ассоциативной связи с данным заболеванием. В то же время у специфичности *04 (при соответствующем критическом значении χ^2 на 5% уровне 3,8) при высокой силе неравновесного сцепления и высоком показателе относительного риска развития можно определить высокую специфичность.

Эти исследования были продолжены в направлении изучения аллелей гена DQA1 у женщин с лейомиомами в кыргызской популяции. Исследования показали, что

у женщин с лейомиомами значительно чаще, чем у здоровых женщин, встречается специфичность *0201 и *0101 с коэффициентами относительного риска 1,29 и 3,0. Кроме аллелей *0601 и *0301, остальные аллели имеют отрицательную ассоциацию. В то же время при крайне редкой встречаемости аллель *0601 имеет высокий коэффициент относительного риска (5,0), что обусловлено большой разностью частот в двух группах. При анализе данных по распределению аллелей гена DQB1 были получены следующие результаты:

- специфичность DQB1*0501 можно смело назвать генетическим маркером предрасположенности женщин к лейомиомам, поскольку этот аллель имеет высокий коэффициент относительного риска 3,57, а специфичность *0201, хотя и имеет высокую частотность — до 35,5%, не вызывает у нас интереса из-за низкого коэффициента относительного риска 1,54;
- по вычисленному критерию χ^2 для генетических маркеров подтверждается в 99% случаях зависимость лейомиом у женщин от частотности специфичности DQB1 *0501;
- попарное сравнение аллелей с помощью точного критерия Фишера показало, что у больных чаще, чем у здоровых, определялась вышеуказанная специфичность.

При определении генетических маркеров необходимо учитывать во всех локусах аллели, специфичные для кыргызской популяции. Исключение составляют специфичности, имеющие низкий процент частотности, но высокую степень риска развития (DQA1*0401 и DQB1*0302). Это обусловлено получаемой высокой разностью частот данного аллеля у больных и здоровых. По модифицированному критерию χ^2 отличия по частоте указанных специфичностей не отмечено, что несколько не подтверждает их специфичность к данному заболеванию.

Наши исследования были бы не точны, если бы мы не определили этиологическую фракцию выявленных генетических маркеров для того, чтобы решить вопрос, какой аллель обладает наибольшей ассоциативной связью с лейомиомами. Было установлено, что наиболее высокий показатель этиологической фракции ассоциирован с такими аллелями, как: в локусе DRB1 — *04, в локусе DQA1 — *0201 и *0101, DQB1 — *0501, что говорит о наибольшей ассоциативной связи данных специфичностей с лейомиомами. Все это свидетельствует о том, что степень риска возникновения лейомиом существенно возрастает у женщин, имеющих в своей генетической структуре повышенную частоту встречаемости аллелей генов DRB1 — *04, в локусе DQA1 — *0201 и *0101, DQB1 — *0501.

Таким образом, была доказана положительная ассоциативная связь лейомиом с аллелями генов DRB1 — *04, в локусе DQA1 — *0201 и *0101, DQB1 — *0501 системы HLA.

Изучение особенностей частотного распределения аллелей в зависимости от роста лейомиом выявило следующие показатели: мы достоверно обнаружили ассоциативную связь аллелей с ростом лейомиом. Из группы женщин с лейомиомой матки была проведена выборка пациенток с наличием роста миом. Из 100 больных у 34 женщин был обнаружен рост узлов. Затем, используя статистические показатели — риск развития, этиологическую фракцию, мы пришли к следующему выводу: только по одному из трех генов системы HLA — локусу DQA1 аллель *0101 является специфичным для роста лейомиом у женщин кыргызской популяции.

В заключение следует заметить, что изучение эпидемиологии лейомиомы матки открывает новые перспективы в диагностике и лечении, а также профилактике и реабилитации. При этом определена высокая значимость таких факторов риска развития лейомиомы

матки как семейная предрасположенность, повышенная инсоляция, количество и срок родов, гинекологическая заболеваемость и вредные привычки. Изучение HLA-генетического профиля позволило определить наличие генетической предрасположенности к развитию и росту лейомиомы матки.

Список литературы:

1. Вихляева Е.М., Ходжаева З.С., Фонченко П.Л. Клинико-генеалогическое изучение наследственной предрасположенности к заболеванию миомой матки // Акуш. и гинекол. — 1998. — № 2. — С. 27–31.
2. Вихляева Е.М. О модели гормонального канцерогенеза на примере лейомиомы матки: проблемы и перспективы // Журн. акуш. и жен. болезней. — Т. XLX. — 2001, а-т. — С. 13–17.
3. Вихляева Е.М. Молекулярно-генетические детерминанты опухолевого роста // Вопр. онкологии. — 2001. — Т. 47. — № 2. — С. 200–205.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СИНДРОМА В КЛИНИКЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Ю.И. АФАНАСЬЕВ, А.В. КУЗУБОВА, С.Ю. ГРИГОРОВА

Кафедра внутренних болезней № 1 Белгородского государственного университета,
Белгородская областная клиническая больница святителя Иоасафа

Резюме. Иммуновоспалительный синдром — важнейшее звено в патогенезе атеросклеротического поражения коронарных сосудов. По концентрации интерлейкина-6, фактора некроза опухоли- α , С-реактивного белка проведена клиническая оценка уровня иммуновоспалительного процесса при ишемической болезни сердца в ассоциации с фенотипическими особенностями больных. Определена провоцирующая роль фенотипа SS C'3-комплемента компонента в формировании предрасположенности к развитию ИБС и протекторная значимость в этом процессе фенотипа C'3 FS. Установлена предикторная роль высоких показателей С-реактивного белка в развитии атеросклеротического процесса в коронарных сосудах и инициации рестеноза после внутрикоронарного стентирования. Выявлены особенности иммуновоспалительного ответа в динамике эндоваскулярных вмешательств у больных ишемической болезнью сердца. Показана роль генетической детерминации иммуновоспалительного процесса как в инициации атеросклеротического процесса в коронарных сосудах, так и в его прогрессировании после проведения корригирующих внутрикоронарных процедур.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, иммуновоспалительный процесс, рестеноз, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли- α , С-реактивный белок, C'3-компонент комплемента, группоспецифический компонент витамин Д-связывающего протеина, трансферрин, гаптоглобин, ангиопластика коронарных сосудов.

GENETIC ASPECTS OF IMMUNE INFLAMMATORY SYNDROME IN ISCHEMIC HEART DISEASE

JU.I. AFANASJEV, A.V. KUZUBOVA, S.JU. GRIGOROVA

Belgorod state University, Internal Medicine Department N1
Belgorod district hospital of St. Josaf

Summary. According to interleukin-6 concentration, α -tumor necrosis factor, C-reactive protein, an in-patient evaluation of immunoinflammation process of ischemic heart disease in association with phenotypic features of people suffering from ischemic heart disease (IHD) was held. A C'3 SS-phenotype provocative significance in aptitude to IHD development and a C'3-FS-phenotype tyre-tread role in this process were determined. A C-reactive protein concentration growth in examined patients' group was established. An increase of C-reactive protein initial level in patients with ischemic heart disease in endovascular intervention from above 9 milligram per moth predetermines restenosis development risk after intracoronary correction realization. Immunoinflammatory response peculiarities in endovascular interference dynamics in patients ill with IHD were developed. An immunoinflammatory process genetic determination role either in the atherosclerotic process initiation in coronary vessel than in its germination after corrective intracoronary procedures was shown.

Key words: ischemic heart disease, angioplasty, interleukin-6 restenosis, α -tumor necrosis factor, C-reactive protein third sawder component, haptoglobin, group-specific component vitamin-D adhesive protein, transferrin.

В последние годы произошла переоценка ключевых положений патогенеза коронарной болезни сердца с позиций развития иммунного воспаления в сосудистой стенке [1, 4, 8]. Установлено, что атеросклероз по многим признакам подобен хроническому воспалительному процессу [8, 9, 12, 13] с участием медиаторов воспаления, активно продуцируемых в зонах формирования атеросклеротической бляшки и обеспечивающих различные клеточные реакции в очаге ишемии [11, 14]. С целью поиска причин инициации и распространения атеросклеротического процесса и выявления лиц с высокой

степенью риска его развития представляется оправданной оценка иммуновоспалительного компонента в клинике ИБС на уровне интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухоли- α (α -ФНО) и С-реактивного белка (СРБ) в сопоставлении с фенотипическими особенностями организма [6, 15, 16] в рамках таких общепатологических маркеров, участвующих в иммунорегуляторных функциях, как гаптоглобин (Hp), C'3-компонент комплемента (C'3), трансферрин (Tf), группоспецифический компонент витамин Д-связывающего протеина (Gc).

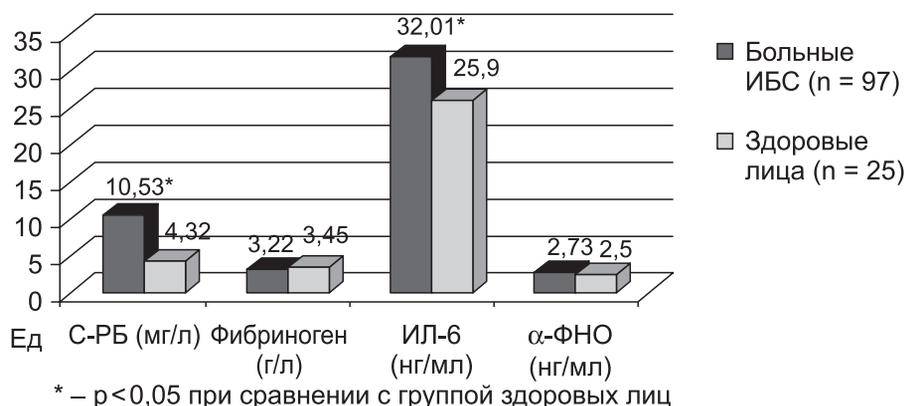


Рис. 1. Исходный уровень провоспалительных маркеров у пациентов с ИБС и здоровых лиц

Материал и методы

Исследованы 97 лиц, страдающих ишемической болезнью сердца. Средний возраст исследуемых $53,65 \pm 7,79$ года. Давность заболевания обследуемых лиц составила в среднем $5,25 \pm 1,59$ года. Критериями включения в исследование являлись наличие стенокардии напряжения, коронарного атеросклероза, подтвержденного с помощью селективной коронароангиографии, низкая приверженность пациентов к назначенной терапии статинами в догоспитальном периоде. Диагноз ИБС установлен в соответствии с рекомендациями ВНОК (2008 г.) [3].

Селективная коронарография выполнялась по методике М.Р. Judkins на аппарате Coroscor-Nicor Siemens (Германия). Определялась степень стенозирования просвета сосуда в процентах и отмечалась локализация стеноза относительно сегментов трех магистральных артерий системы кровоснабжения миокарда. Гемодинамически значимым считали сужение просвета сосуда не менее 50% диаметра.

С-реактивный белок (СРБ) определяли иммунотурбидиметрическим методом на аппарате Кобас-Интегро-400 (Roche). Интерлейкин-6 (ИЛ-6) и фактор некроза опухоли- α (α -ФНО) определялись иммуноферментным методом, согласно инструкции завода – производителя. Нормальная концентрация ИЛ-6 в плазме доноров крови не превышала 25,9 нг/мл, α -ФНО – 2,5 нг/мл. Идентификация генетических полиморфных систем Нр, С'3, Тf, Gc проводилась методом вертикального электрофореза в нативных условиях в 7,5% полиакриламидном геле на электрофоретической ячейке PROTEAN II xi 2-D фирмы BIO-RAD [2].

Всем пациентам по показаниям проведено внутрикоронарное стентирование с использованием стентов с изолированными металлическими (63 пациента) и пропитанными лекарственными препаратами (34 пациента) конструкциями. Коронароангиография выполнялась также через 6 месяцев у пациентов после проведенного стентирования в качестве контрольного

исследования для определения функциональной состоятельности стента и выявления группы больных с рестенозом. При повторном коронарографическом исследовании у 15 пациентов выявлены признаки коронарного рестеноза в зоне вмешательства.

Анализ уровня изучаемых цитокинов проводился в сравнении с контрольной группой, включавшей в себя 25 практически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу, средний возраст которых составил $47 \pm 8,6$ лет. При проведении анализа частотных характеристик фенотипов заявленных генетических локусов у больных ИБС в качестве контроля выступали 100 практически здоровых доноров.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2003, Statistica (v. 6.0), SPSS for Windows (v. 13.0) и компьютерной программы S&R (Columins&Rows). Статистический анализ проведен методами параметрической статистики. Вычисляли средние арифметические значения (M), ошибки средних величин (m). Для оценки значимости различий использовали критерий t Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. В генетических исследованиях для определения статистически значимых ассоциаций между двумя признаками использовали критерий χ^2 . Мера связи определялась показателем относительного риска (RR). Значимой положительной ассоциацией принят относительный риск, превышающий 2. При значении $RR < 1,0$ ассоциированные с патологией аллели рассматривали как протекторы болезни.

Результаты и обсуждение

При оценке иммуновоспалительного компонента в клинике ИБС на уровне ИЛ-6, α -ФНО и СРБ у исследуемых больных ИБС регистрировался исходно повышенный уровень СРБ и ИЛ-6 (рис. 1), что согласуется с данными литературы [4, 6].

При сопоставлении исходного уровня воспалительных маркеров и провоспалительных цитокинов с коли-

чеством пораженных коронарных сосудов обнаружено увеличение уровня СРБ у пациентов со стенозированием двух и более венечных артерий (рис. 2).

Концентрация ИЛ-6 и α -ФНО не в полной мере отражала количественную распространенность атеросклеротического процесса в коронарных сосудах. Исследование значений провоспалительных маркеров в динамике чрескожных внутрикоронарных вмешательств (ЧКВ) выявило достоверный рост уровня СРБ в ранние сроки после эндоваскулярного вмешательства (рис. 3). У пациентов с двух- и многососудистым поражением коронарного русла после ЧКВ обнаруживался также рост значений ИЛ-6 (рис. 4).

Представлялось целесообразным оценить уровень иммуновоспалительного процесса в контингенте лиц с развившимся после ЧКВ рестенозом и без него. Из исследуемого спектра провоспалительных маркеров статистически значимым прогностическим признаком в направлении инициации рестеноза оказался исходно повышенный уровень СРБ (рис. 5). Как показал однофакторный анализ, исходно повышенный уровень СРБ ($>9,0$ мг/л) был значимым предиктором возвратной стенокардии ($\chi^2 = 8,4$, $p < 0,05$). Концентрации ИЛ-6 в подгруппах больных с рестенозом и без него были близкими через 6 месяцев после ЧКВ.

Полученные данные убедительно показывают, что, с одной стороны, высокие показатели СРБ являются отражением воспалительного процесса с локализацией в коронарных сосудах, а с другой стороны, плановое проведение ЧКВ в фазу активного воспалительного процесса в атеросклеротической бляшке поддерживает исходный высокий потенциал воспалительного компонента, что в комплексе с другими неблагоприятными факторами, такими как артериальная гипертензия, сахарный диабет и др., может являться ощутимым предиктором как развития рестеноза, так и распространения атеросклероза по всей системе коронарных сосудов.

У исследованных больных ИБС с подтвержденным коронароангиографией стенозирующим атеросклерозом венечных артерий было выявлено следующее распределение фенотипов в системах Нр, Тг, СГ, С'З (рис. 6):

Как видно из представленных на рисунке данных, у больных ИБС наблюдалось

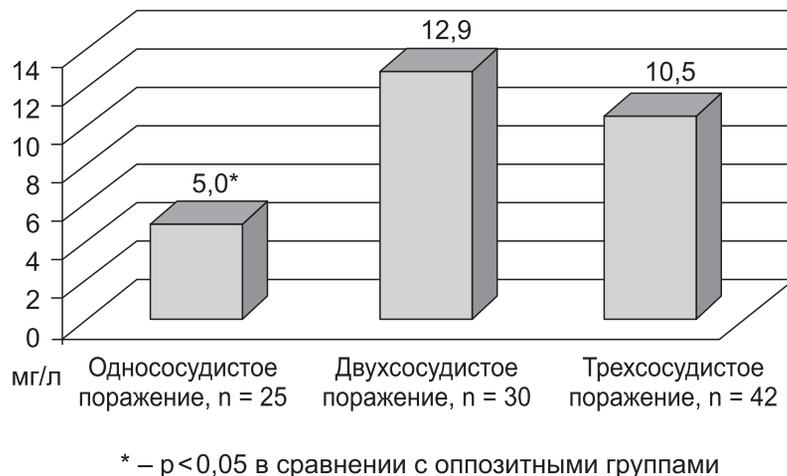


Рис. 2. Исходный уровень СРБ в зависимости от распространенности атеросклеротического процесса

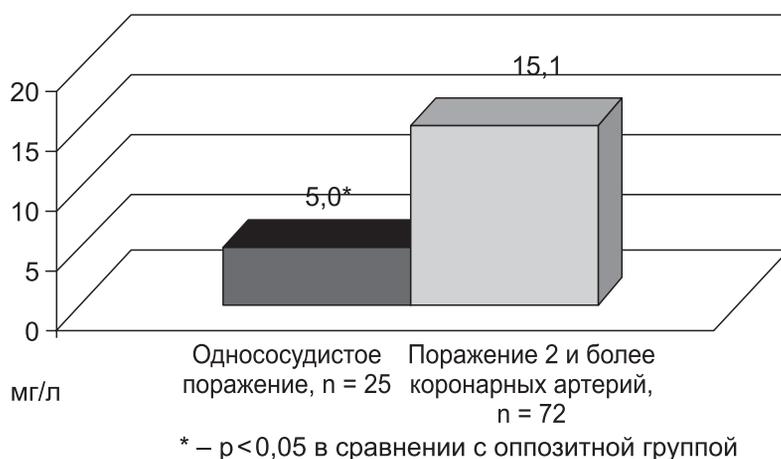


Рис. 3. Уровень СРБ у больных ИБС с различной степенью выраженности коронарного атеросклероза через 7–10 дней после ЧКВ

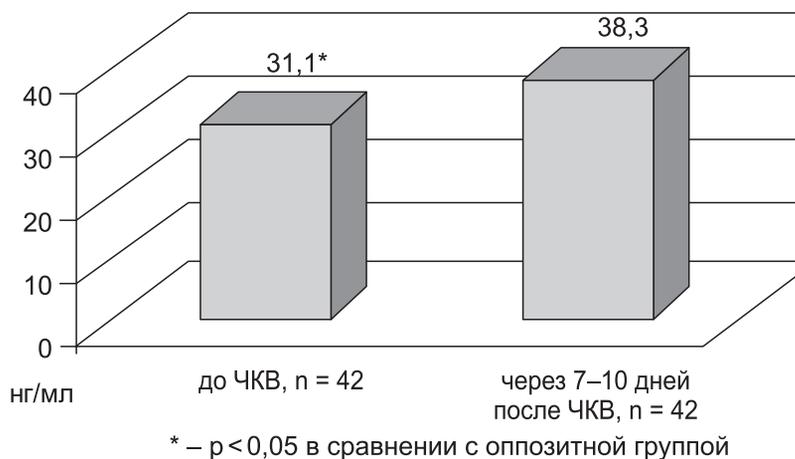
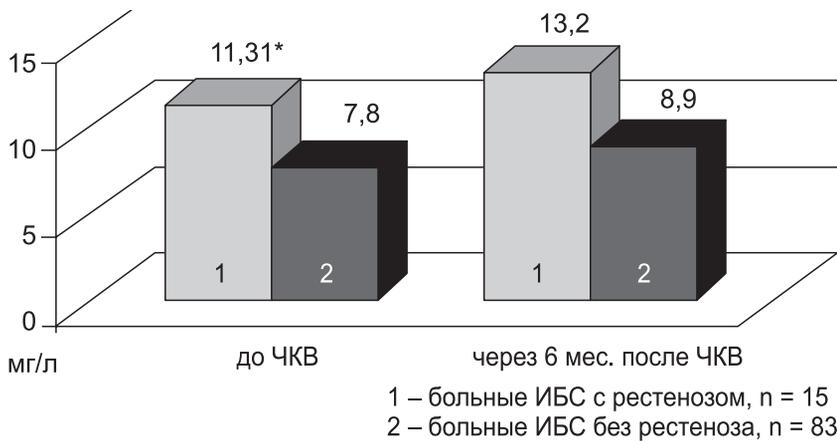
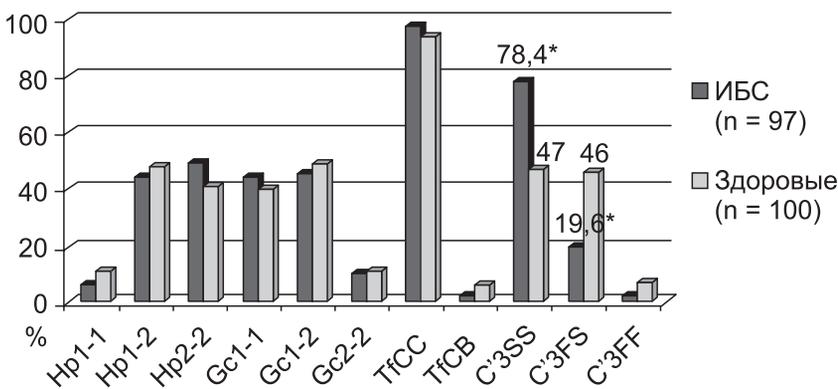


Рис. 4. Динамика уровня ИЛ-6 у пациентов с многососудистым поражением коронарного русла



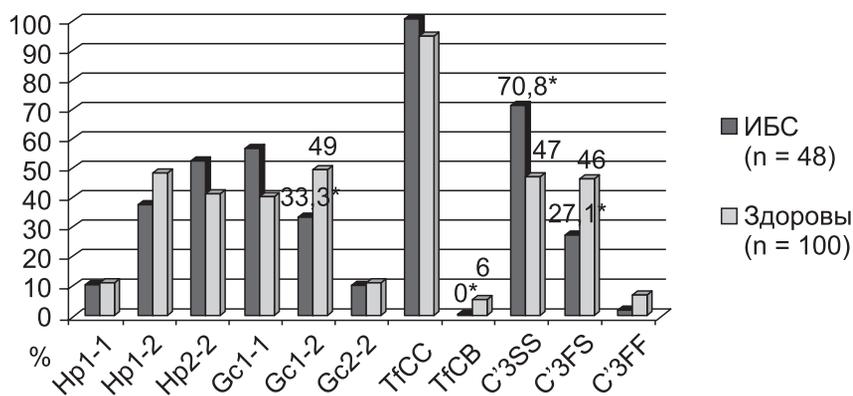
* – $p < 0,05$ в сравнении с показателями оппозитной группы

Рис. 5. Уровень СРБ у больных ИБС, подвергшихся ЧКВ, с осложненным (рестеноз) и неосложненным течением



* – $p < 0,05$ при сравнении группы больных ИБС и здоровых лиц

Рис. 6. Распределение частот фенотипов (%) Hr, Gc, Tf, C'3 у больных ИБС и здоровых лиц



* – $p < 0,05$ при сравнении группы больных ИБС и здоровых лиц

Рис. 7. Распределение частот фенотипов (%) Hr, Gc, Tf, C'3 у больных с многососудистым поражением коронарного русла и здоровых лиц

накопление фенотипа SS локуса C'3 ($\chi^2 = 19,3; p < 0,0001; RR = 4,1; p < 0,0001$). В то же время встречаемость фенотипа FS рассматриваемого локуса в группе больных ИБС была более чем в 2 раза ниже в сравнении с показателями альтернативной группы здоровых лиц ($p < 0,0001$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что фенотип SS локуса C'3 является генетическим маркером предрасположенности индивидуума к развитию ИБС. В противоположность этому фенотип FS локуса C'3 обладает протекторным свойством в механизме развития атеросклеротического поражения коронарных сосудов. В пользу этого говорят и результаты сопоставления частотных характеристик исследуемых локусов с иными патологическими состояниями и иным патогенезом, в частности, хроническим обструктивным бронхитом и сахарным диабетом [7]. Следует отметить, что, как видно из рис. 7, по мере вовлечения в патологический процесс нескольких коронарных сосудов возрастало число структур, обладающих протективным действием.

В группе больных с развившимся через 6 месяцев коронарным рестенозом в зоне вмешательства выявлялось частотное распределение фенотипов, аналогичное общей группе больных ИБС: накопление фенотипа C'3 SS и снижение встречаемости фенотипа C'3 FS. У больных с развившимся рестенозом в зоне эндоваскулярного вмешательства зарегистрировано уменьшение встречаемости фенотипа Tf CC только при сопоставлении с контрольной группой здоровых лиц (табл. 1). Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии генетических маркеров предрасположенности к развитию рестеноза после ЧКВ по исследуемым локусам и в большей степени позволяют говорить о найденных предикторах инициации атеросклеротического процесса в коронарных сосудах в целом.

В целях поиска конкретных механизмов реализации генетической предрасположенности или устойчивости индивидуума к развитию атеросклеротического процесса в коронарных сосудах и возникновению рестеноза после ЧКВ у больных ИБС проведен анализ уровня воспалительных маркеров и про-

воспалительных цитокинов в ассоциации с фенотипическими маркерами предрасположенности к инициации ИБС.

Таблица 1

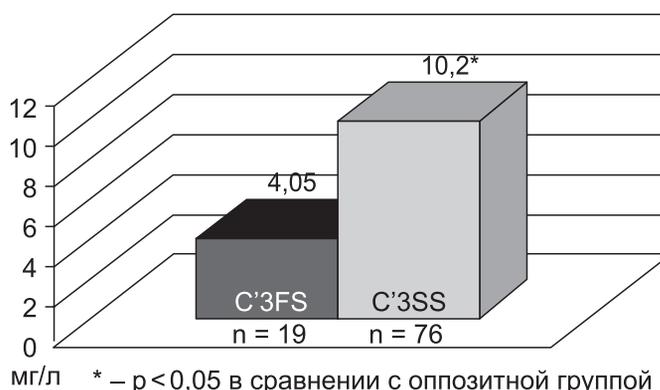
Распределение частот фенотипов (%) Нр, Тf, СG, С'З у пациентов с развившимся коронарным рестенозом и без него

Локус	Фенотип	Рестеноз + (n = 14)	Рестеноз – (n = 83)	Здоровые (n = 100)
Нр	1-1	0*	7,2	11,0
	1-2	42,9	44,6	48,0
	2-2	57,1	48,2	41,0
GС	1-1	35,7	45,8	40,0
	1-2	57,1	43,4	49,0
	2-2	7,2	10,8	11,0
Тf	СС	85,7	100,0	94,0
	СВ	14,3	0	6,0
С'З	SS	85,7*	80,7*	47,0
	FS	14,3*	18,1*	46,0
	FF	0	1,2	7,0

* – $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой.

Сопоставлением показателей провоспалительных маркеров в зависимости от фенотипа С'З обнаружено увеличение исходных значений СРБ в группе больных с фенотипом С'З SS по сравнению с группой С'З FS-позитивных индивидуумов (рис. 8).

Результаты исследования, приведенные в таблице 2, указывают на более выраженный уровень воспалительной реакции в ранние сроки после ЧКВ у С'З SS-позитивных больных. В этой группе лиц содержание СРБ после ЧКВ оказалось в 3 раза выше в сравнении с С'З SS-негативными индивидуумами ($p < 0,05$). В обеих группах отмечается значительный ($p < 0,05$) подъем концентрации ИЛ-6 после ЧКВ.



мг/л * – $p < 0,05$ в сравнении с оппозитной группой

Рис. 8. Уровень СРБ в зависимости от фенотипа С'З-комплемента

Дальнейший анализ показал, что в группе С'З SS-позитивных больных с развившимся через 6 месяцев рестенозом исходно регистрировалось увеличение концентрации СРБ в сравнении с пациентами без рестеноза (табл. 3).

Таблица 3

Исходные показатели провоспалительных маркеров в зависимости от наличия С'З SS-фенотипа у лиц с развившимся рестенозом

Показатели	Рестеноз +, С'З SS+ (M ± m), n = 11	Рестеноз –, С'З SS– (M ± m), n = 15
	до ЧКВ	до ЧКВ
СРБ (мг/л)	14,9 ± 2,1*	5,5 ± 1,6
ИЛ-6 (нг/мл)	40,4 ± 4,4	34,4 ± 4,4
α-ФНО (нг/мл)	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,3

* – $p < 0,05$ в сравнении с показателями оппозитной группы.

При анализе уровня провоспалительных маркеров у С'З FS+ больных ИБС при благоприятном после эндоваскулярной процедуры течении заболевания оказалось, что при наличии фенотипа С'З FS уровень СРБ,

Таблица 2

Динамика показателей фибриногена, СРБ и провоспалительных цитокинов у больных ИБС в зависимости от наличия SS локуса С'З

Исследованные показатели	С'З SS+, n = 78 (M ± m)		С'З SS–, n = 19 (M ± m)	
	до ЧКВ	через 7–10 дней после ЧКВ	до ЧКВ	через 7–10 дней после ЧКВ
	1	2	3	4
I СРБ (мг/л)	10,20 ± 1,48	14,4 ± 2,9	4,1 ± 0,9	5,5 ± 1,5
II ИЛ-6 (нг/мл)	31,71 ± 2,5	39,6 ± 2,1	31,5 ± 2,3	41,1 ± 2,5
III α-ФНО (нг/мл)	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,7 ± 0,5

Примечание: I – $p_{1-3} < 0,05$; $p_{2-4} < 0,05$; II – $p_{1-2} < 0,05$; $p_{3-4} < 0,05$.

Динамика провоспалительных маркеров у больных ИБС без рестеноза, имеющих фенотип FS локуса C3

	Показатели	C3 FS+, n = 15, M ± m		C3 FS-, n = 67, M ± m	
		до ЧКВ	после ЧКВ	до ЧКВ	после ЧКВ
		1	2	3	4
I	СРБ (мг/мл)	4,1 ± 1,0	5,6 ± 1,7	9,9 ± 1,7	14,8 ± 3,5
II	ИЛ-6 (нг/мл)	28,0 ± 6,9	32,1 ± 7,6	35,0 ± 2,4	41,9 ± 2,5
III	α-ФНО (нг/мл)	1,0 ± 0,2	1,7 ± 0,5	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,2

Примечания: I — $p_{1-3} < 0,05$; $p_{2-4} < 0,05$; II — $p_{3-4} < 0,05$.

как исходный, так и инициированный эндovasкулярным вмешательством, был достоверно ниже в сравнении с показателями оппозиционной выборки C3 FS-негативных индивидуумов (табл. 4).

Полученные данные свидетельствуют в пользу существования у больных ИБС генетически детерминированного пути развития иммуновоспалительного процесса на уровне цитокинов и инициированного ими

СРБ, что подтверждает научную и практическую значимость оценки вклада фенотипических особенностей больных ИБС как в формирование отдельных звеньев патогенеза атеросклероза, так и в инициацию прогрессирования атеросклеротического процесса в динамике ЧКВ, требующего усиления превентивного фармакотерапевтического сопровождения высокотехнологических методов лечения.

Литература

1. Ардаматский, Н.А. Показатели инфекционного процесса при атеросклерозе / Н.А. Ардаматский, Ю.В. Абакумова // Российский кардиологический журнал. — 1998. — № 6. — С. 3.
2. Гааль, Э. Электрофорез в разделении биологических макромолекул: пер. с англ. / Э. Гааль, Г. Медьеш, Л. Верецкий. — М.: Мир, 1982. — С. 40–48.
3. Диагностика и лечение стабильной стенокардии. Российские рекомендации (второй пересмотр). — М., 2008. — С. 9–20.
4. Карпов, Р.С. Атеросклероз: некоторые современные вопросы патогенеза, диагностики, лечения и профилактики / Р.С. Карпов, В.А. Дудко // Клиническая медицина. — 1999. — № 12. — С. 9–13.
5. Кашкин, К.П. Белки системы комплемента: Свойства и биологическая активность (Лекция) / К.П. Кашкин, Л.Н. Дмитриева // Клиническая лабораторная диагностика. — 2000. — № 7. — С. 25–32.
6. Коряков, А.И. Прогностическая оценка неблагоприятного коронарного атеросклероза / А.И. Коряков // Клиническая медицина. — 2005. — № 12. — С. 25–28.
7. Кузьмина О.А. Клинико-генетические аспекты хронического обструктивного бронхита у больных сахарным диабетом / О.А. Кузьмина, Ю.И. Афанасьев, М.И. Чурносов, И.Н. Костоголодова // Вестник РУДН. — 2006. — VI (25). — С. 50–53.
8. Нагорнев, В.А. Цитокины, иммунное воспаление и атеросклероз / В.А. Нагорнев, Е.Г. Зота // Успехи современной биологии. — 1996. — Т. 2, № 3. — С. 320–331.
9. Титов, В.Н. Общность атеросклероза и воспаления: специфичность атеросклероза как воспалительного процесса (гипотеза) / В.Н. Титов // Биохимия. — 2000. — № 4. — С. 3–10.
10. Харрис, Г. Основы биохимической генетики человека: пер. с англ. / Г. Харрис. — М., 1973. — 250 с.
11. C-reactiv protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women / P. Ridker, C. Hennekens, J.E. Buring, N. Rifai // Engl. J. Med. — 2000. — Vol. 342. — P. 836–843.
12. C-reactiv protein and the severity of atherosclerosis in myocardial infarction patients with stable angina pectoris / M.C. Tatura, J. Heinrich, R. Junker et al. // Eur. Heart J. — 2000. — Vol. 21. — P. 1000–1008.
13. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina / L.M. Biasucci, A. Vitelli, G. Liuzzo et al. // Circulation. — 1997. — Vol. 96(6). — P. 2099–2101.
14. Fuster, V. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndrome / V. Fuster, J.J. Badimon, J.H. Cjesebro // N. Engl. J. Med. — 1992. — Vol. 326. — P. 242–250.
15. Genetics of inflammation and rise of coronary artery disease: the central role of interleukin-6 / A. Woods, D.J. Brull, S.E. Humphries, H.E. Montgomery // Eur. Heart J. — 2000. — N 21. — P. 1574–1583.
16. Giblett, E.R. Haptoglobin / E.R. Giblett // Genetic markers in human blood. — Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1969. — P. 55–71.
17. The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease (An edited summary of a Clinical Staff Conference held on 13 March 1996 at the National Institutes of Health, Bethesda, MD) // Ann. Intern. Mtd. — 1998. — Vol. 128. — P. 127–137.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЗАНЯТИЯМ СПОРТОМ

И.И. АХМЕТОВ

Казанский государственный медицинский университет,
Санкт-Петербургский НИИ физической культуры

Резюме. В статье рассмотрены возможности молекулярно-генетической диагностики предрасположенности к занятиям спортом. Такая диагностика позволяет оценить генетический потенциал в развитии и проявлении физических качеств, оптимизировать тренировочный процесс, индивидуализировать питание, а также способствует сохранению здоровья спортсмена.

Ключевые слова: спортсмены, предрасположенность к занятиям спортом, генетика.

MOLECULAR GENETIC ASPECTS OF GENETIC PREDISPOSITION TO SPORTS ACTIVITIES

I.I. AHMETOV

Saint-Petersburg Scientific Research Institute of Physical Culture
State Educational Institution of Higher Professional Education
“Kazan State Medical University, Federal Agency for Health Care and Social Development”

Summary. The article concerns the possibilities of molecular genetic diagnostics of predisposition to sports activity. This diagnostics gives possibility to evaluate the genetic potential of development and manifestation of physical properties, necessary for sports activity, to improve the training process, individualize nutrition as well as to maintain athlete's health.

Key words: athletes, predisposition to sports activity, genetics.

Практические приложения знаний о молекулярных механизмах, лежащих в основе индивидуальных различий в развитии и проявлении физических и психических качеств, связаны с тремя аспектами: спортивной ориентацией и отбором; оптимизацией и коррекцией тренировочного процесса и профилактикой заболеваний у спортсменов [1]. Как известно, неадекватный выбор вида спортивной деятельности сопровождается формированием нерациональной функциональной системы адаптации с большим числом лишних, неэффективных и даже нецелесообразных функциональных взаимосвязей, напряжением компенсаторных механизмов, затруднением восстановительных процессов, медленным развитием тренированности, менее успешным выступлением в соревнованиях, неудачами в достижении высокого уровня спортивного мастерства, неутожительным прогнозом перспективности и, наконец, остановкой роста спортивного мастерства в связи с исчерпанием генетического резерва организма [3, 6]. Практика спортивной деятельности также показывает, что очень многие способные атлеты ушли из спорта, не раскрыв своих возможностей из-за того, что к ним была применена стандартная система подготовки, ориентированная на средние значения показателей и не учитывающая в должной мере их индивидуальные способности, функциональные резервы и адаптационные возможности. В тех случаях, когда специалистам оказывалось под силу реализовывать строго индивидуальную программу, спортсмены достигали выдающихся, как правило, ста-

бильных в течение длительного времени результатов [5].

Трудовая деятельность, сопряженная с повышенными физическими нагрузками (профессиональные занятия спортом, работа шахтером, грузчиком, металлургом и т. д.), нередко приводит к развитию различных патологий. Чрезмерные пролонгированные спортивные физические нагрузки могут привести к длительной гиперфункции сердца с дальнейшим развитием выраженной гипертрофии миокарда левого желудочка, которая не только препятствует росту спортивного мастерства, но и становится причиной формирования «бычьего» сердца и возникновения аритмий. В основе этой и других патологий могут лежать полиморфизмы генов, ассоциированных с деятельностью сердечно-сосудистой системы [4, 12].

В соответствии с поставленными задачами, можно выделить три направления практического приложения спортивной генетики (при условии разработки полноценных диагностических комплексов): а) определение предрасположенности детей и подростков к определенному виду двигательной деятельности; б) повышение роста спортивных показателей за счет оптимизации и коррекции тренировочного процесса; и в) профилактика различных заболеваний, связанных с профессиональной деятельностью спортсменов.

Проведение генетической диагностики в спорте делится на четыре последовательных этапа [1]:

1. Анкетирование.

2. Фенотипирование.
3. Забор и транспортировка биологического материала (венозная кровь, соскоб слизистой ротовой полости). Выделение ДНК из биоматериала и организация ее длительного хранения. Генотипирование нужных участков ДНК.
4. Интерпретация данных генотипирования и фенотипирования. Составление заключения специалиста и выдача рекомендаций.

Анкетирование со сбором полной информации об испытуемом и, при необходимости, о его родственниках (наличие спортивного разряда и стажа у его родителей, братьев и сестер, сведения о заболеваниях и т. п.) является неотъемлемой частью генетической диагностики. Анкетирование, как правило, включает в себя устный или письменный сбор следующих данных: ФИО; дата рождения; рост и вес обследуемого при рождении и на текущий момент; росто-весовые показатели отца и матери обследуемого; каким видом спорта занимается обследуемый (с указанием узкой специализации, например, плавание — 200–400 м; футбол — полузащитник и т. п.); какой у обследуемого разряд в этом виде спорта (например, I юношеский, II взрослый, кандидат в мастера спорта, заслуженный мастер спорта и т. п.); какой у обследуемого стаж занятий этим спортом (лет) и какое у него наивысшее достижение в этом виде спорта (например, чемпион города, России и т. д.); если обследуемый не занимается спортом, то какие у него тип и степень физической активности.

Помимо этого, обследуемый либо его родители, тренер, врач команды должны подробно описать цель обращения к спортивному генетику. Например, «подбор вида (видов) спорта», «определение склонности к занятиям конкретным видом спорта», «оптимизация тренировочного процесса» (для того, кто определился с выбором спорта, но хочет знать, какие у него слабые и сильные стороны, какую узкую специализацию выбрать), «оптимизация питания и фармакологического обеспечения тренировочной и соревновательной деятельности», другое (например, «сохранение здоровья и снижение риска заболеваний при занятиях спортом», «как решить проблему с медленным набором мышечной массы», «как эффективнее развить выносливость», «как убрать лишний вес» и т. д.).

Фенотипирование. Важно подчеркнуть, что при решении вопросов спортивной специализации и отбора, оптимизации и коррекции тренировочного процесса, профилактики профессиональных заболеваний спортсменов молекулярно-генетическое тестирование не может заменить фенотипическую диагностику, а может лишь дополнить и конкретизировать отдельные ее моменты. Связано это не только с тем, что на данный момент мы не располагаем всей информацией о генетических маркерах, ассоциированных с двигательной и психической деятельностью человека, но и с тем, что генетическая диагностика не распространяется дальше генотипа (она

не позволяет установить промежуточный или конечный результат взаимодействия генотипа, эпигенетических модификаций и средовых факторов).

К наиболее распространенным в спорте видам фенотипической диагностики, которая проводится по показаниям, относятся:

- 1) антропометрия (оценка морфологического состояния, оценка функций и нарушений осанки и стопы, измерение минеральной плотности костной ткани и др.);
- 2) биохимическое обследование в покое, до, во время и после физической нагрузки (рН, лактат крови, гемоглобин, гематокрит, АЛТ (аланин-аминотрансфераза), АСТ (аспартатаминотрансфераза), КФК (креатинфосфокиназа), мочевины и др.);
- 3) тестирование физической подготовленности (спироэргометрия, тест PWC170, динамометрия, стабилметрия, педагогические тесты и др.);
- 4) функциональная диагностика (пульсометрия, измерение АД, ЭКГ, эхо-КГ, суточное мониторирование ЭКГ по Холтеру, проведение ортопробы, расчет вегетативного индекса и др.);
- 5) биомеханическое обследование;
- 6) психологические и психофизиологические тесты;
- 7) гистологические методы (биопсия мышечной ткани с выявлением состава мышечных волокон, определением биохимических показателей, выявлением степени экспрессии генов).

Кроме того, эпигенетическая диагностика (например, выявление метилированных участков генов, ассоциированных с изменением генной экспрессии) в будущем может в значительной мере дополнить генетическую и фенотипическую диагностику.

Интерпретация результатов генетического тестирования в спорте — ответственное и трудоемкое дело, которым должен заниматься подготовленный специалист (либо коллектив специалистов), обладающий знаниями в области молекулярной генетики человека, физиологии и биохимии мышечной деятельности, спортивной медицины и антропологии, а также разбирающийся в различных аспектах спортивной педагогики (вопросы отбора в спорте, спортивной тренировки, многолетней подготовки спортсменов и др.) и питания спортсменов.

Интерпретация должна проводиться на основе суммарного вклада генотипов и аллелей генов в определение наследственной предрасположенности к двигательной деятельности и к развитию профессиональных патологий спортсменов [8]. Вклад отдельных генотипов и аллелей генов в развитие физических качеств человека необходимо оценивать на основе как литературных источников, так и собственных данных, полученных на больших выборках российских спортсменов и контрольных групп. Для специалиста важно иметь собственную

базу данных, содержащую сведения об уникальных генотипах элитных спортсменов.

Несмотря на определенные успехи в открытии генов, влияющих на физическую активность человека [7, 10], результаты генетического тестирования пока не могут дать однозначный ответ на вопрос, будет ли данный индивид элитным спортсменом и в каком виде спорта, поскольку неизученные полиморфизмы генов у конкретного индивида или существенные мутации его генома могут полностью нивелировать тот генетический потенциал, который был обнаружен на основе определения ограниченного спектра полиморфизмов генов-кандидатов. Так, например, вполне вероятно, что на основании детекции полиморфизмов генов *ACE*, *ACTN3*, *AMPD1*, *HIF1A*, *PPARA*, *PPARG*, *PPARGC1A*, *PPARGC1B* и *UCP2* можно заключить, что у человека не выявлена предрасположенность к скоростно-силовым видам спорта [1], однако врожденная мутация в гене миостатина, приводящая к чрезмерному росту мышечной массы [13], способна сделать из него штангиста экстракласса.

Определение степени предрасположенности к занятиям спортом. В зависимости от носительства в количественном и качественном соотношении аллелей (генотипов), благоприятствующих какой-либо двигательной деятельности, у испытуемых можно определить несколько типов предрасположенности к развитию и проявлению физических качеств:

1) низкая предрасположенность к развитию и проявлению какого-либо физического качества (определяется на основании того, что среди большой выборки высококвалифицированных спортсменов отсутствуют носители такого минимального числа благоприятствующих конкретной деятельности аллелей, либо если у них отсутствуют найденные у испытуемого негативные мутации, влияющие на спортивный результат); означает, что имеется высокая вероятность того, что индивид не сможет преодолеть уровень мастера спорта в определенной группе видов, требующих преимущественного проявления какого-либо физического качества (выносливости, быстроты, силы, ловкости, гибкости). По всей видимости, к этой категории испытуемых по большей части будут относиться индивиды с негативными мутациями, вызывающими интолерантность к физическим нагрузкам;

2) умеренная предрасположенность — имеется относительная вероятность того, что индивид сможет достичь выдающихся результатов в той группе видов спорта, где требуется проявление определенного физического качества;

3) выраженная предрасположенность — большая вероятность того, что индивид сможет достичь выдающихся результатов в той группе видов спорта, где требуется проявление определенного физического качества;

4) ярко выраженная предрасположенность — очень большая вероятность того, что индивид сможет достичь выдающихся результатов в той группе видов спорта, где

требуется проявление определенного физического качества.

Градации и наименование степеней предрасположенности к различным видам спортивной деятельности может варьировать (например, очень низкая, низкая, ниже среднего, средняя, выше среднего, высокая, очень высокая предрасположенность к развитию выносливости и т. п.), но при этом ее обозначение должно быть понятным для тех, кто воспользуется данной информацией.

Поскольку все генетические маркеры представляют разную диагностическую ценность, то в соответствии с функциональной значимостью определенных аллелей генов, ассоциированных со спортивной деятельностью, каждому аллелю можно присвоить условную единицу значимости — балл. Баллы вычисляются на основе экспериментальных данных (собственных и литературных).

Подбор видов спорта. На основании выявления предрасположенности к развитию и проявлению отдельных физических качеств (например, выраженная предрасположенность к развитию и проявлению выносливости + низкая предрасположенность к развитию и проявлению быстроты и силы), для испытуемого подбирается набор групп видов спорта, к которым он предрасположен (с учетом знаний о том, какие маркеры являются наиболее значимыми для конкретного вида спорта). В зависимости от приоритета и генетического потенциала индивида, этот набор должен включать в себя группы видов спорта 1-го (предпочитаемые виды спорта) и 2-го (альтернативные виды спорта) выбора.

Используя литературные и собственные данные о встречаемости аллелей различных генов у спортсменов, занимающихся разными видами спорта, можно подобрать оптимальные для конкретной двигательной деятельности сочетания аллелей и генотипов по многим генам-кандидатам. Например, для занятий лыжными гонками (15–50 км) оптимально следующее сочетание генотипов: *NFATC4* Ala/Gly (Gly/Gly), *PPARA* GG, *PPARD* TC (CC), *PPARGC1B* Ala/Pro (Pro/Pro), *PPP3R1* 5I/5I, *TFAM* Ser/Thr (Thr/Thr), *UCP2* Ala/Val (Val/Val), *UCP3* CT (TT), *VEGFA* GC (CC) [1]. При этом следует учитывать генотипы, ограничивающие развитие определенного признака. Например, среди элитных российских спринтеров или штангистов отсутствуют носители неблагоприятного для развития быстроты и силы *ACTN3* XX генотипа [11].

Необходимо признать существование индивидов, на которых стандартные физические нагрузки действуют как минимум нейтрально, не вызывая улучшения таких физических показателей, как максимальное потребление кислорода в результате длительных тренировок [9]. Данный факт свидетельствует об индивидуальных различиях в ответ на классические физические нагрузки, но еще не доказывает наличие очень низких спортивных способностей. По крайней мере, исследования с целью

оптимизации тренировочного процесса с учетом индивидуальной генетической предрасположенности показали положительные результаты [3]. Также необходимо учитывать возможность того, что такие индивиды могут быть интолерантными к физическим нагрузкам ввиду мутаций в ядерных и митохондриальных генах, и поэтому не могут быть отнесены в полной мере к здоровым лицам [10].

Индивидуальные заключения. В текст индивидуального заключения должно входить:

1) перечисление всех выявленных генотипов по изучаемым локусам ДНК. Эта информация носит конфиденциальный характер, так как содержит генетические данные индивида о его предрасположенности к спорту и о риске развития мультифакторных и других патологий. С этой информацией могут быть ознакомлены исключительно испытуемый и родители испытуемого и, при наличии их разрешения, — личный (спортивный или семейный) врач и тренер;

2) интерпретационная часть: в соответствии с полученными генетическими данными предоставляется информация о предрасположенности индивида к развитию и проявлению физических качеств (можно также дать информацию по развитию промежуточных фенотипов, например, оценить состав мышечных волокон, определить, до каких пределов может осуществляться прирост МПК и т. п.), а также о риске развития различных патологических состояний и заболеваний (но только при запросе этих данных): гипертрофия миокарда левого желудочка (актуально для стайеров), внезапная сердечная смерть (футбол, хоккей), атеросклероз, посттравматические поражения нервной системы (бокс, борьба, восточные единоборства), заболевания опорно-двигательного аппарата (травмоопасные спортивные специализации), сахарный диабет 2-го типа, ожирение, артериальная гипертензия, нарушения свертываемости крови и др.;

3) рекомендательная часть:

а) для испытуемого подбираются группы видов спорта, в которых он может достичь выдающихся результатов, а также описание сильных и слабых сторон систем организма с точки зрения потенциала развития физических качеств;

б) диетические рекомендации (составляются на основе определенной индивидуальной чувствительности испытуемых к пищевым веществам) [2];

в) профилактический раздел: определяются меры по профилактике мультифакторных заболеваний и патологических состояний, связанных как со спортивной деятельностью, так и образом жизни.

Таким образом, молекулярная генетическая диагностика может существенно повысить эффективность спортивной ориентации и отбора, а также помочь в оптимизации тренировочного процесса и фармакологической

поддержки спортсменов. Вместе с тем, генетическая диагностика не должна осуществляться без использования данных фенотипирования (она определяет всего лишь потенциал, но не результат взаимодействия генотипа и среды), однако ее преимуществом является возможность тестирования сразу после рождения ребенка, а значит, прогноз развития показателей, значимых в условиях спортивной деятельности, можно составить очень рано.

Литература

1. Ахметов И.И. Молекулярная генетика спорта. Монография. — М.: Советский спорт, 2009. — 268 с.
2. Ахметов И.И., Тоневицкий А.Г. Применение ДНК-технологий для повышения эффективности фармакологического обеспечения процесса подготовки спортсменов. Методические рекомендации. — М.: Изд-во ВНИИФК, 2008. — 40 с.
3. Кочергина А.А., Ахметов И.И. Оптимизация тренировочного процесса юных лыжников с учетом их генетической предрасположенности // Физическая культура: воспитание, образование, тренировка. — 2006. — № 1. — С. 35–36.
4. Линде Е.В., Ахметов И.И., Орджоникидзе З.Г., Астратенкова И.В., Федотова А.Г. Клинико-генетические аспекты формирования «патологического спортивного сердца» у высококвалифицированных спортсменов // Вестник спортивной науки. — 2009. — № 2. — С. 32–37.
5. Платонов В.Н., Вайцеховский С.М. Тренировка пловцов высшего класса. — М.: ФиС, 1985. — 256 с.
6. Сологуб Е.Б., Таймазов В.А. Спортивная генетика: Учеб. пособие. — М.: Терра-Спорт, 2000. — 127 с.
7. Ahmetov I.I., Rogozkin V.A. Genes, athlete status and training: An overview. In: Genetics and Sports, edited by Collins M. — Med. Sport Sci. Basel, Karger, 2009. — V. 54. — P. 43–71.
8. Ahmetov I.I., Williams A.G., Popov D.V., Lyubaeva E.V., Hakimulina A.M., Fedotovskaya O.N., Mozhayskaya I.A., Vinogradova O.L., Astratenkova I.V., Montgomery H.E., Rogozkin V.A. The combined impact of metabolic gene polymorphisms on elite endurance athlete status and related phenotypes // Hum. Genet. — 2009. — V. 126(6). — P. 751–761.
9. Bouchard C., An P., Rice T., Skinner J.S., Wilmore J.H., Gagnon J., Pérusse L., Leon A.S., Rao D.C. Familial aggregation of VO₂(max) response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study // J. Appl. Physiol. — 1999. — V. 87. — P. 1003–1008.
10. Bray M.S., Hagberg J.M., Perusse L., Rankinen T., Roth S.M., Wolfarth B., Bouchard C. The Human Gene Map for Performance and Health-Related Fitness Phenotypes: The 2006–2007 Update // Med. Sci. Sports. Exerc. — 2009. — V. 41. — P. 35–73.
11. Druzhevskaya A.M., Ahmetov I.I., Astratenkova I.V., Rogozkin V.A. Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians // Eur. J. Appl. Physiol. — 2008. — V. 103. — P. 631–634.
12. Newton-Cheh C., Eijgelsheim M., Rice K.M., de Bakker P.I., Yin X. et al. Common variants at ten loci influence QT interval duration in the QTGEN Study // Nat. Genet. — 2009. — V. 41. — P. 399–406.
13. Schuelke M., Wagner K.R., Stolz L.E., Hübner C., Riebel T., Kömen W., Braun T., Tobin J.F., Lee S.J. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child // N. Engl. J. Med. — 2004. — V. 350. — P. 2682–2688.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА Фолликулярной жидкости НА ЧАСТОТУ НАСТУПЛЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БЕСПЛОДИЯ МЕТОДОМ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ (ЭКО)

Л.Д. БЕЛОЦЕРКОВЦЕВА, Л.В. КОВАЛЕНКО, Е.В. БОНДАРЕВА
Медицинский факультет, Клинический перинатальный центр, г. Сургут

Резюме. Приводятся данные о содержании гормонов: фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона, эстрадиола, прогестерона, пролактина, тестостерона в фолликулярной жидкости у пациенток с бесплодием в циклах ЭКО, позволяющие прогнозировать вероятность наступления беременности при лечении бесплодия методами ВРТ.

Ключевые слова: гормоны, фолликулярная жидкость, беременность, ЭКО.

INFLUENCE OF FOLLICULAR FLUID CONTENT ON THE RATE OF PREGNANCY DEVELOPMENT IN INFERTILE PATIENTS TREATED BY INTRAVAGINAL FERTILIZATION METHOD

L.D. BELOTSEKOVTSOVA, L.V. KOVALENKO, E.V. BONDAREVA
Clinical perinatology center, Medical Faculty, Surgut

Summary. The results concerning the hormones level — follicul stimulating hormone, luteinizing hormone, estrogens, progesterone, testosterone in follicular fluid in infertile patients undergoing the intravaginal fertilization method are discussed. The prognostic possibilities of these investigations for pregnancy development are discussed.

Keywords: hormones, a follicular liquid, pregnancy, IVF.

Одним из путей дальнейшего повышения эффективности программ ЭКО может явиться улучшение качества ооцитов и разработка способов объективного контроля над отбором наиболее полноценных и перспективных для оплодотворения яйцеклеток. Развитие ооцитов в растущем пуле фолликулов во многом определяется составом фолликулярной жидкости (ФЖ), куда адсорбируются из крови или секретируются клетками гранулезы гормоны и факторы роста [1]. Фолликулярная жидкость представляет собой фильтрат сыворотки крови и содержит различные протеины, электролиты, цитокины, факторы роста, энергетические субстраты, проникающие в ФЖ через межклеточные контакты в гранулезе. Биологически активные соединения, содержащиеся в фолликулярной жидкости, составляют микроокружение, в котором развивается ооцит. Как избыток, так и недостаток этих соединений в фолликулярной жидкости может оказывать выраженное негативное действие на развитие ооцита [2]. На сегодняшний день не определены оптимальные для преовуляторного состояния ооцитов концентрации биологически активных соединений в ФЖ и не установлено влияние изменений этих концентраций на качество яйцеклеток. Решение этих вопросов могло бы способствовать разработке дополнительных критериев оценки качества полученных ооцитов.

Целью принятой нами работы послужило исследование содержания некоторых гормонов: лютеинизирующего (ЛГ), фолликулостимулирующего (ФСГ), эстрадиола (Е), тестостерона (Тест), прогестерона

(Прог), пролактина (Прол) в образцах фолликулярной жидкости, полученных у пациенток в лечебных циклах ЭКО, изучение биохимического состава ФЖ, а также прогнозирование вероятности наступления беременности с учетом состава фолликулярной жидкости.

Материалы и методы: в работе проанализированы образцы гормонов фолликулярной жидкости 43 пациенток с нарушениями репродуктивной функции на фоне трубного (n = 23) и смешанного (n = 20) факторов бесплодия, проходивших лечение в Клиническом перинатальном центре (г. Сургут).

Образцы гормонов были получены в лечебных циклах ЭКО. Средний возраст женщин с трубным фактором бесплодия составил $33,7 \pm 4,06$ года, длительность предшествующего бесплодия составила $7,82 \pm 3,62$ года. Средний возраст женщин в группе со смешанным фактором бесплодия $30,4 \pm 4,18$ года с длительностью бесплодия $8,32 \pm 4,36$ года. Для выявления причины бесплодия пациентки подвергались стандартному клинико-лабораторному обследованию, включавшему общеклиническое и гинекологическое обследование, УЗИ органов малого таза, лабораторные и эндоскопические методы исследования (лапароскопия и гистероскопия) при наличии показаний. Стимуляцию овуляции в лечебных циклах осуществляли с использованием препаратов а-ГнРГ (декапептил) в сочетании с ФСГ (пурегон), чМГ (менопур). Образцы фолликулярной жидкости для исследования получали непосредственно во время пункции доминантных фолликулов (диаметр 18–22 мм) в лечебных циклах ЭКО. Для определения содержания

ФСГ, ЛГ, Е2, Прол, Тест, Прог в фолликулярной жидкости использовали тест-системы фирмы «Architekt».

Анализ полученных данных проводился в зависимости от конечного результата программы ЭКО. Циклы, закончившиеся наступлением беременности, составили 1-ю группу (n = 14), отсутствие беременности после переноса эмбриона – 2-ю группу (n = 18), циклы, в которых эмбриотрансфер (ЭТ) не производился, – 3-ю группу (n = 11). За критерии качества полученных эмбрионов были приняты показатели, отражающие морфологические и функциональные характеристики эмбрионов: способность к формированию бластоцисты в культуре и способность к имплантации.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с вычислением средней арифметической (M) и стандартного отклонения (σ), критерия Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Анализ полученных результатов показал, что основные параметры биохимического состава ФЖ в исследуемых группах сопоставимы с показателями плазмы крови и практически не имеют отличий внутри групп. Более выраженные изменения были получены по показателям общего белка, глюкозы, триглицеридов, холестерина, ХС ЛПВП, ТГ. Представленные величины имеют тенденцию к снижению во всех исследуемых группах, что, вероятно, отражает интенсивность стероидогенеза в фолликулах на фоне проводимой индукции овуляции.

Количественные характеристики основных стероидов в фолликулярной жидкости приведены в таблице 2.

Сравнительный анализ гормонального состава фолликулярной жидкости показал следующее. Отмечается тенденция к увеличению тестостерона в фолликулярной жидкости у женщин, программа которых завершилась наступлением беременности, в сравнении с анализируемыми группами. В доступной литературе представлены лишь отдельные публикации, касающиеся роли уровня

тестостерона в ФЖ как маркера степени зрелости ооцита или вероятности успешного исхода циклов программ ВРТ. Показано, что концентрация тестостерона в ФЖ менее 10,4 нг/мл соответствовала достаточной зрелости ооцита, при этом чувствительность и специфичность метода составляли 90,9 и 82,4% соответственно. Авторы не выявили зависимости между концентрацией тестостерона и частотой оплодотворения [4].

Средний уровень содержания Е2 в фолликулярной жидкости по данным нашего исследования не имеет достоверных различий между группами и составляет в среднем $3,67 \pm 0,59$ Ед/л – для 1-й группы; $3,67 \pm 0,02$ Ед/л – для 2-й группы и $3,67 \pm 0,02$ Ед/л – для 3-й группы. Данные литературы о ценности определения концентрации эстрадиола в ФЖ в прогнозе вероятности наступления беременности неоднозначны и требуют дальнейшего изучения. В то же время возможность изучения уровня эстрадиола в ФЖ для определения зрелости ооцита представляется более перспективной. В исследовании L. Costa и соавт. продемонстрирована обратная коррелятивная зависимость между степенью зрелости ооцита и концентрацией эстрадиола в ФЖ. Однако зависимости между концентрацией эстрадиола и частотой оплодотворения в этом исследовании выявлено не было [4].

Содержание ЛГ в ФЖ, окружавшей ооциты, в группе женщин, где была получена беременность, по данным нашего исследования, оказалось достоверно ниже ($0,38 \pm 0,43$ Ед/л), чем у пациенток, в циклах которых ЭТ не производился ($0,93 \pm 0,69$ Ед/л), – критерий Манна–Уитни $p < 0,05$. По данным литературы концентрация ЛГ и ФСГ в ФЖ определяется дозой вводимых для стимуляции суперовуляции гонадотропинов, вследствие чего должна интерпретироваться с осторожностью. По мнению С. Mendoza и соавт. [3], концентрация ЛГ в ФЖ определяется, с одной стороны, остаточной активностью гипофиза, недоступной тормозящему влиянию вводимого а-ГнРГ, а с другой стороны – ЛГ-активностью экзогенных гонадотропинов, в то время как концентрация ФСГ определяется лишь дозой вводимых препаратов.

Таблица 1

Содержание гормонов в фолликулярной жидкости у женщин в циклах, закончившихся наступлением беременности (группа 1), с отсутствием беременности (группа 2) и циклы, где ЭТ не производился (группа 3)

Показатель	1-я группа (n = 14) Ср ± σ	2-я группа (n = 18) Ср ± σ	3-я группа (n = 11) Ср ± σ	P1–2	P1–3	P2–3
ФСГ, Ед/л	$3,82 \pm 1,59$	$4,03 \pm 2,96$	$5,52 \pm 4,21$	0,800	0,176	0,511
Е2, нмоль/л	$3,67 \pm 1,38$	$3,67 \pm 0,02$	$3,66 \pm 0,02$	0,399	0,275	0,730
ЛГ, Ед/л	$0,38 \pm 0,43$	$0,63 \pm 0,42$	$0,93 \pm 0,69$	0,107	0,021	0,146
Прол, Нг/мл	$42,65 \pm 14,99$	$48,23 \pm 27,26$	$41,35 \pm 26,88$	0,497	0,880	0,513
Прог, Нг/мл	0	0	0	–	–	–
Тест, Нг/мл	$25,82 \pm 11,82$	$21,79 \pm 7,14$	$20,2 \pm 3,24$	0,241	0,174	0,559

Результаты клинических исходов программы ВРТ в циклах, закончившихся наступлением беременности (группа 1), с отсутствием беременности (группа 2) и циклы, где ЭТ не производился (группа 3)

	Суммарная доза на цикл СО (МЕ)	Число ооцитов на пункцию	Частота оплодотворения %	Стадия развития эмбрионов
Группа 1 (n = 14) Ср ± σ	1575 ± 481,6	10,2 ± 5,6	85,5%	Blast.-8 (57,1%) 7-8B-6 (42,9%)
Группа 2 (N = 18) Ср ± σ	1411 ± 509,4	10,2 ± 4,8	83,7%	Blast.-5 (27,8%) 7-8B-13 (72,2%)
Группа 3 (N = 11) Ср ± σ	1721 ± 580	5,7 ± 4,4	13,2%	—

Результаты проведенного исследования позволяют предположить, что остаточная активность гипофиза, недоступная влиянию а-ГнРГ и заключающаяся в продукции незначительных количеств ЛГ, необходима для обеспечения оптимальной среды созревания ооцита и продукции нужного количества эстрадиола [3, 5]. Средний уровень содержания прогестерона в фолликулярной жидкости пациенток всех групп по данным нашего исследования — 0.

При анализе частоты наступления беременности получены следующие результаты. Частота наступления беременности в расчете на один цикл стимуляции по данным нашего исследования составила 32,5% и 43,7% соответственно на циклы, закончившиеся ПЭ. В таблице 2 представлены клинические исходы программы ЭКО.

Суммарная доза гонадотропинов на цикл стимуляции овуляции (СО), количество аспирированных фолликулов, частота оплодотворения у женщин 1-й и 2-й групп практически сопоставимы, в то время как в циклах, где ЭТ не производился, эти показатели имеют отличия. На фоне увеличения суммарной дозы гонадотропинов отмечается снижение числа аспирированных ооцитов, а также достаточно низкий процент их оплодотворения.

При оценке исходов программы ЭКО были получены следующие результаты. В циклах, закончившихся

наступлением беременности, перенос эмбрионов на стадии бластоцисты составил 57,1%, в то время как в циклах с неудачным исходом перенос эмбрионов на стадии бластоцисты — 27,8%. По данным литературы, одним из важнейших критериев отбора эмбрионов для последующего переноса в полость матки является их способность к формированию бластоцисты [8]. Очевидно, что наибольшими имплантационными возможностями обладают наиболее качественные эмбрионы. Перенос эмбрионов в стадии бластоцисты позволяет увеличить частоту наступления имплантации и беременности в лечебных циклах ВРТ [9].

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют утверждать, что ооциты, полученные из фолликулов, где концентрация Прол, Прог, Тест, В-ХГЧ была высокой, обладали лучшим потенциалом развития, а низкий уровень ЛГ в ФЖ благоприятно влияет на конечный результат лечебных циклов ВРТ.

Высокая концентрация ФСГ и ЛГ в ФЖ коррелирует с отсутствием оплодотворения ооцитов в циклах ЭКО или приводит к формированию дефектных зигот.

Дальнейшее изучение состава фолликулярной жидкости может явиться одним из путей дальнейшего повышения эффективности программ ЭКО.

Литература

1. Репродуктивная эндокринология / Под ред. С.С.К. Йена, Р.Б. Джаффе. — М: Медицина, 1998; 120–125, 318–353, 531–559.
2. Erickson G.F., Shimasaki S. The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. *Fertil. Steril.*, 2001; 76 (5): 943–949.
3. Mendoza C., Ruiz-Requena E., Ortega E. et al. Follicular fluid markers of oocyte developmental potential // *Hum. Reprod.*, 2002; 17: 4: 1017–1022.
4. Costa L.O., Mendez M.C., Ferriani R.A. et al. Estradiol and testosterone concentrations in follicular fluid as criteria to discriminate between mature and immature oocytes // *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2004; 37: 11: 1747–1755.
5. Mendoza C., Cremades N., Ruiz-Requena E. et al. Relationship between fertilization results after intracytoplasmic sperm injection,

and intrafollicular steroid, pituitary hormone and cytokine concentrations // *Hum. Reprod.*, 1999; 14: 3: 28–35.

6. Filicori M., Cognigni G., Taraborrelli S. et al. Luteinizing hormone activity in menotropins optimizes folliculogenesis and treatment in controlled ovarian stimulation // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001; 86: 1: 337–343.

7. Fisch J.D., Rodriguez H., Ross R., Overby G. et al. The graduated embryo score (GES) predicts blastocyst formation and pregnancy rate from cleavage — stage embryos // *Hum. Reprod.*, 2001; 16: 9: 1970–1975.

8. Гюдайс Л.С. Имплантирующаяся оплодотворенная яйцеклетка и материнский организм // *Пробл. эндокринолог.*, 1999; 5: 30–32.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КАРДИОВАСКУЛЯРНЫХ И ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР)

О.В. ВАСИЛЬЕВА, А.В. ПОЛОНИКОВ, В.П. ИВАНОВ, М.А. СОЛОДИЛОВА,
Е.К. ВЯЛЫХ, Н.В. ПОЛЯКОВА, В.В. АНЦУПОВ

Курский государственный медицинский университет,
кафедра биологии, медицинской генетики и экологии

Резюме. В последнее время значительное количество исследований посвящено поиску наследственных факторов, предрасполагающих к неблагоприятному течению основных сердечно-сосудистых заболеваний. Одно из главных направлений в этих исследованиях — изучение генов-кандидатов. В настоящем обзоре нами систематизированы результаты генетико-эпидемиологических исследований последних лет по изучению ассоциаций «кандидатных генов» с распространенными кардиоваскулярными и цереброваскулярными заболеваниями.

Ключевые слова: сердечно-сосудистые заболевания, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, ишемический инсульт, наследственная предрасположенность, ДНК-полиморфизм.

MOLECULAR GENETIC ASPECTS OF CARDIOVASCULAR AND CEREBROVASCULAR DISEASES (REVIEW)

O.V. VASILYEVA, A.V. POLONIKOV, V.P. IVANOV, M.A. SOLODILOVA, E.K. VYALYKH,
N.V. POLYAKOVA, V.V. ANTSUPOV

State educational institution of higher professional education “Kursk State Medical University,
Department of Biology, Federal Agency for health care and social development”,
department of Medical Genetics and Ecology

Summary. Numerous investigations are devoted to hereditary factors, predisposing to unfavorable course of cardiovascular diseases. One of the main directions in this field — investigations of candidate genes. The present review analyzes the results of recent genetic and epidemiologic investigations devoted to association of candidate genes with main cardiovascular and cerebrovascular diseases.

Key words: cardiovascular diseases, cerebrovascular diseases, ischemic stroke, ischemic heart disease, genetic predisposition, DNA polymorphism.

По данным ВОЗ, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются главной причиной, по крайней мере, одной трети всех смертей на земном шаре [21]. Ежегодно в мире инсульт переносят около 6 млн человек. По данным Е.И. Гусева (2001 г.), в крупных городах Российской Федерации ежегодная заболеваемость инсультами достигает 2,5–3 на 1000 человек населения. Этот показатель является одним из самых высоких в мире (Верещагин И.В. с соавт., 2002). Ежегодно в России регистрируется более 400 000 инсультов (Виленский Б.С., 2002). Каждые полторы минуты у кого-то из россиян впервые развивается это заболевание (Верещагин Н.В., Пирадов М.А., 2000; Гусев Е.И., Скворцова В.И., 2001). В структуре церебральных инсультов преобладают ишемические поражения головного мозга, доля которых составляет 80–85% (Верещагин Н.В., 2003, Гусев Е.И., Скворцова В.И., 2001). Смертность от этой патологии в течение первых 30 дней от начала заболевания составляет 23%, достигая к концу года почти 50% (Трошин В.Д., 2000; Гусев Е.И., 2003, Виленский Б.С., 2001). Инвалидизация после перенесенного инсульта достигает 3,2 на 1 тыс. населения, занимая первое место среди всех причин первичной инвалидизации.

Согласно современным достижениям медицинской генетики по выяснению молекулярных механизмов распространенных заболеваний сердца и сосудов, таких, как артериальная гипертония (АГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), инфаркт миокарда (ИМ), ишемические инсульты (ИИ), вклад генетических факторов в детерминацию их патогенеза является достаточно высоким. Однако для проявления патологических эффектов генов «предрасположенности» на фенотипическом уровне необходимо участие разнообразных факторов внешней среды. Прослеживается семейное накопление этих заболеваний, и среди родственников больного частота этих состояний превышает их среднюю частоту в популяции [27]. В когортных исследованиях было показано, что у пациентов, родственники которых перенесли инсульт, риск развития этого заболевания выше на 30%. Исследования семей и близнецов позволили предположить, что влияние генетических факторов имеет значение даже после 70 лет. Хотя большинство генетических исследований было сфокусировано на идентификации генов, при наличии которых повышается риск развития инсульта, на клинические исходы после возникновения этого заболевания и восприимчивость к лекарственной

терапии (например, α -аддуцином и диуретиками), вероятно, оказывает влияние независимый набор генов (например, ген апополипротеина E) [3].

Возникающие при этом сложные взаимодействия генетических и средовых факторов в формировании предрасположенности к болезням создают значительные трудности при изучении генетической природы ССЗ. С точки зрения клиницистов генетические факторы относятся к основным немодифицируемым факторам риска. Однако их широкое использование для генетического тестирования ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с предрасположенностью к ССЗ, сопряжено с рядом проблем. В то время как определенные нуклеотидные полиморфизмы могут иметь достаточно высокие частоты встречаемости в различных популяциях мира (от 5 до 50%), их независимые влияния на риск развития заболеваний не всегда могут быть обнаружены. Кроме того, результаты исследований ассоциаций генетических маркеров с риском развития ССЗ достаточно часто могут быть противоречивыми и часто являются трудновоспроизводимыми, особенно для болезней со сложными патофизиологическими механизмами развития. При этом доказательства выявляемых ассоциаций опираются не столько на четкую физиологическую аргументацию и патофизиологическую значимость тестируемого гена, а сколько на статистические вероятности, интерпретация которых с биологических позиций представляет значительные трудности [30]. Причины, которые могут приводить к низкой воспроизводимости генетико-эпидемиологических исследований, были подробно проанализированы в отдельных обзорах [44, 45]. Чрезвычайная сложность физиологических механизмов, опосредующих влияние полиморфных генов на патологический фенотип болезни, позволяет предположить, что среди различных дизайнов генетико-эпидемиологических исследований изучение взаимосвязей генотипа и фенотипа будет иметь высокую вероятность обнаружения ложноположительных результатов [44]. Соответственно ассоциации заболевания с определенными полиморфизмами всегда будут зависеть от множества различных факторов, в том числе от влияния средовых факторов [45]. Например, полиморфизмы, изменяющие функциональные свойства генов ферментов детоксикации (глутатион трансферазы, цитохромы P450, алкоголь дегидрогеназы и др.), могут иметь существенное влияние на риск развития заболеваний только при условии влияния определенных средовых факторов риска, таких как курение, употребление алкоголя, профессиональной вредности или приема определенных лекарственных препаратов [8, 10]. В последнее время значительно возросло количество исследований, посвященных поиску наследственных факторов, предрасполагающих к развитию и клиническому течению распространенных сердечно-сосудистых заболеваний. При этом основным направлением генетических исследований является изучение ассоциаций генов-кандидатов с риском развития болез-

ней. В настоящем обзоре нами систематизированы результаты генетико-эпидемиологических исследований последних лет по изучению ассоциаций «кандидатных генов» с распространенными ССЗ.

В качестве основных источников информации при подготовке обзора использовались электронные базы данных и поисковые системы Интернет, такие как PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov), Scopus (www.scopus.com), Scirus (www.scirus.com), Science Direct (Elsevier, <http://scopees.elsevier.com>), научная электронная библиотека (<http://elibrary.ru>), портал «Русский медицинский сервер» (www.rusmedserv.com). Всего было найдено ~3700 публикаций, в которых представлены результаты исследований в дизайнах case-control и case-only. Из всех найденных источников мы рассматривали в первую очередь исследования по генетической предрасположенности к ишемическому инсульту и ишемической болезни сердца.

Определение роли конкретного гена в развитии отдельного ССЗ, например, ишемического инсульта, является сложной задачей. Это связано с его взаимодействием с другими генами и факторами, такими как артериальная гипертензия, сахарный диабет, повышение уровня фибриногена, нарушение липидного обмена [5, 40]. Так, имеет место увеличение степени риска болезни, связанное с носительством одного гена в сочетании с другими генами (gene dosage effect), действия которых являются синергичными в отношении риска развития ишемического инсульта [20]. Важно отметить, что существует генетическая гетерогенность ишемического инсульта или, другими словами, каждому клинико-патогенетическому варианту инсульта соответствуют вариации определенных генов. В настоящее время лишь в единичных работах учитывается подтип ишемического инсульта. Наиболее изученной моделью для изучения наследственной предрасположенности в развитии инфаркта мозга является атеротромботический инсульт [11]. Для данной формы инсульта было показано, что риск развития патологии увеличивается не только под влиянием полиморфизма одного гена, но и при сочетании аллелей нескольких генов, т.е. имеет место полигенная наследственная предрасположенность к тромботическим поражениям мозговых сосудов. Существует несколько подходов к изучению мультифакториальных заболеваний, в том числе ИБС и ИБМ. Наиболее широко используются методы ассоциативного анализа в дизайне «случай–контроль».

Один из предлагаемых подходов состоит в выявлении и описании большого числа генов, определенные аллели которых ассоциируются с риском развития цереброваскулярных и кардиоваскулярных заболеваний. В частности, к таким генам можно отнести гены системы гемостаза, ген фибриногена, тромбоцитарного гликопротеина GP IIb/IIIa, V, VIII и XII факторов свертывания, протромбина, гены, регулирующие фибринолиз (tPA, PAI-1), гены ренин-ангиотензиновой системы, NO-син-

Связь риска возникновения ССЗ с мутациями ряда генов [2, 14, 21, 28, 33, 35, 41]

Ген-кандидат	Характеристика генетического полиморфизма	Заболевания, с которыми ассоциируются полиморфизмы
Ген ангиотензин I-превращающего фермента (<i>ACE</i>)	Инсерция /делеция Alu-элемента из 286 пар нуклеотидов в 16 интроне гена (<i>ACE/ID</i>)	ИБС, инфаркт миокарда
Ген бета-1-адренорецептора (<i>ADRB1</i>)	Замена серина на глицин в позиции 49 (Ser49Gly) и замена аргинина на глицин в позиции 389 (Arg389Gly) аминокислотной цепи	Индивидуальная восприимчивость к бета-адреноблокаторам
Ген бета-цепи фибриногена (<i>FGB beta polypeptide</i>)	Полиморфизм -148C>T гена <i>FGB</i> представляет собой нуклеотидную замену цитозина (C) на тимин (T) в промоторном участке гена	ССЗ, ИИ, ИБС, инфаркт миокарда
Ген аполипопротеина E (<i>APOE</i>)	Три основные изоформы белка (apoE2, -E3 и -E4), идентифицированные путем изоэлектрического фокусирования, кодируются 3 аллелями. E3 является наиболее широко распространенной изоформой. E4 отличается от E3 заменой цистеина на аргинин в позиции 112 полипептида (Cys112Arg). E2 отличается от E3 одной из 4 мутаций: E2(Arg158Cys), E2(Lys146Gln), E2(Arg145Cys) and E2(Arg136Ser)	Гиперлипотеинемии III и V типа, атеросклероз и ИБС
Ген поверхностного рецептора тромбоцитов (GPIIb/IIIa)	Замена цитозина на тимидин в нуклеотидной позиции 1565, приводящая к замене лейцина на пролин в позиции 33 субъединицы GPIIa (PIA2)	Тромбоэмболические осложнения при остром коронарном синдроме, внезапная смерть от коронарного тромбоза
Ген метилентетрагидрофолатредуктазы (<i>MTHFR</i>)	Замена цитозина на тимин в позиции 677 (677C>T), приводящая к замене аланина на валин в позиции 222 полипептида	Атеросклероз, инфаркт миокарда
Ген хемокинового рецептора (<i>CCR2</i>)	Замена гуанина на аденин в 190-й позиции кодирующей части гена, приводящая к замене валина на изолейцин в 64-й позиции аминокислотной последовательности белка (V64I)	Инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия

тетазы, метаболизма сывороточных липидов и гомоцистеина [5]. В таблице 1 представлен далеко не полный перечень генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний.

Одним из основных пусковых механизмов патогенеза ИБС и ИБМ является нарушение функциональных свойств эндотелия, что в последующем приводит к изменению тонуса сосудистой стенки и дальнейшему развитию и прогрессированию патологического процесса. Кроме того, так как важную роль в патогенезе ИБС могут играть изменения гемодинамики и кровяного давления (Kurtz T.W., 1992), то интерес представляет

изучение генов, кодирующих белки, участвующие в процессах регуляции солевого и жидкостного гомеостаза и поддержания сосудистого тонуса. Полученные ранее данные позволяют утверждать, что ангиотензин-превращающий фермент (*ACE*) и ангиотензиноген (*AGT*) являются ключевыми элементами РАС и вносят существенный вклад в развитие ССЗ (Jeunemaitre X. et al., 1992; Lifton R.P., 1995). Ангиотензин-превращающий фермент — это интегральный мембранный протеин, высвобождаемый с клеточной поверхности цинковой металлоэстеразой. У здоровых индивидуумов уровень концентрации ACE может варьировать 5-кратно. В гене

ACE имеется инсерционно-делеционный полиморфизм, связанный с инсерцией (I) или делецией (D) *Alu*-повтора размером 287 п.н. в интроне 16 (Rigat B. et al., 1990). Данный полиморфизм ассоциирован с повышенным уровнем *ACE* в плазме крови и развитием целого ряда ССЗ, таких как ИМ, ИБС, эссенциальная гипертония и др. (Morris B.J. et al., 1993; Nakai K. et al., 1995; Fujisawa T. et al., 1995; Higara H. et al., 1996; Ohno T. et al., 1996). Уровень АПФ в сыворотке у здоровых людей, гомозиготных по D-аллелю, почти в два раза выше, чем у гомозиготных по I-аллелю. Носительство D-аллеля гена *ACE* рассматривается фактором риска возникновения ИМ (Arbustini et al., 1995), спазма коронарных сосудов, геморрагического инсульта, высоким риском развития атеросклероза (Arbustini et al., 1995). В.В. Назаров (2009) при изучении патогенетических особенностей острой церебральной ишемии у лиц молодого возраста установил, что у пациентов, перенесших ИИ, распределение генотипа по гену АПФ соответствовало распределению в усредненной популяции жителей Европы: в 19,6% наблюдений выявлялись инсерционные гомозиготы (II), в 47,1% наблюдений — инсерционные гетерозиготы (ID) и в 33,3% наблюдений выявлялись делеционные гомозиготы (DD). Умеренная гипергомоцистеинемия обнаруживается чаще у делеционных гомозигот (DD), тогда как не выявлено связи между гетерозиготами и инсерционными гомозиготами с гипергомоцистеинемией. В группе пациентов молодого возраста в 22,9% наблюдений диагностирована умеренная гипергомоцистеинемия, сопровождавшаяся утолщением комплекса интимамедиа брахиоцефальных артерий до 1,7 мм. Показано, что делеционные гомозиготы (DD) с умеренной гипергомоцистеинемией более подвержены риску развития ишемического инсульта, а генотип (DD) по гену АПФ в сочетании с умеренной гипергомоцистеинемией следует рассматривать как независимый фактор риска развития ишемического инсульта [4].

Среди большого числа генов-кандидатов особое внимание привлекает ген рецептора (тип 1) ангиотензина II (*AGTR1*) [13, 22, 24]. Через этот тип рецепторов опосредуется не только вазоконстрикторное действие ангиотензина II, но и экспрессия факторов роста и пролиферации гладкомышечных клеток сосудов. Продукт гена *AGTR1* обуславливает основные кардиоваскулярные эффекты ангиотензина-II. Полиморфизм гена *AGTR1* A1166C является маркером повышенного риска развития ССЗ. Вариантный аллель 1166C встречается с частотой 30–40% в европейских популяциях. Вариант 1166C чаще встречается у пациентов с артериальной гипертензией (АГ), чем у здоровых доноров. Исследование 206 больных артериальной гипертензией и 298 доноров с нормальным давлением показало статистически значимое увеличение частоты варианта 1166C среди гипертоников (вероятность развития АГ при наличии у паци-

ента генотипа 1166C увеличивается в 1,3 раза) [15]. При наличии у пациента сахарного диабета носительство аллеля 1166C увеличивает риск развития гипертонии в 3,6 раза [46]. Исследование пациентов с диабетической нефропатией показало, что наличие варианта 1166C соответствует двукратному повышению риска развития указанного осложнения сахарного диабета [17]. При исследовании 2579 пациентов с кардиоваскулярными заболеваниями было показано, что наличие гомозиготного генотипа 1166C/C приводит к повышению риска кардиоваскулярных заболеваний в 1,7 раза вне зависимости от уровня артериального давления [31]. В отечественных исследованиях взаимосвязи полиморфизма A1166C гена *AGTR1* у больных ИБС установлено увеличение частоты выявления аллеля 1166C среди больных ИБС по сравнению со здоровыми лицами. Отмечена большая частота носительства аллеля 1166C и генотипов 1166CC и 1166AC среди больных, перенесших в анамнезе инфаркт миокарда [1].

Ген *ITGA2* кодирует белок $\alpha 2\text{B}$ интегрин — специализированного рецептора тромбоцитов, за счет которых происходит взаимодействие тромбоцитов с тканевыми белками, секретируемыми при повреждении стенки сосудов. Изменение первичной структуры интегринов может приводить к повышенному риску тромбофилии. Ген *ITGB3* кодирует белковую компоненту тромбоцитарного рецептора фибриногена ($\beta 3$ -интегрин). Данный рецептор обеспечивает взаимодействие тромбоцитов с фибриногеном плазмы крови, в результате чего происходит агрегация тромбоцитов и образование тромба. При полиморфизме гена тромбоциты приобретают повышенную склонность к агрегации, поэтому его носители имеют повышенный риск тромбообразования с такими последствиями, как инсульт, ИМ.

Исследования полиморфизма –148C>T гена бета-цепи фибриногена (*FGB* beta polypeptide) имеют прогностическое значение и позволяют оценить относительный риск развития заболеваний сердечно-сосудистой системы вследствие нарушений в свертывающей системе крови. Ген *FGB* кодирует аминокислотную последовательность бета-цепи фибриногена. Фибриноген занимает одно из главных мест в свертывающей системе крови. Из фибриногена образуется фибрин — основной компонент кровяного сгустка. Полиморфизм –148C>T гена *FGB* представляет собой нуклеотидную замену цитозина (C) на тимин (T) в промоторном участке гена. Вариант –148T сопровождается повышенной экспрессией гена, что приводит к увеличению содержания фибриногена в крови и повышает вероятность образования тромбов, что способствует увеличению риска заболеваний сердечно-сосудистой системы, в том числе ИИ, ИБС, ИМ [10, 41]. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных участков G-455A, C-249T и C-148T гена *FGB* у русских не отличается от других

популяций европеоидов. В то же время у больных с ишемическим инсультом и в меньшей степени у пациентов с хронической недостаточностью мозговых сосудов наличие определенных аллелей ассоциируется с повышением уровня фибриногена и активности тромбоцитарного звена гемостаза. Гомо- и гетерозиготное носительство аллеля -455А полиморфного участка G-455А промоторной области гена β -фибриногена ассоциируется с повышенным уровнем фибриногена в группе с ишемическим инсультом и в группе с хронической сосудистой мозговой недостаточностью, а также с повышенной функциональной активностью тромбоцитов только в группе с ишемическим инсультом. Носительство Т-аллеля С-249Т полиморфизма гена β -фибриногена в гомо- и гетерозиготном варианте сочетается с более легким течением инсульта, с более высоким уровнем фибриногена [7].

Наиболее хорошо изучены механизмы развития ССЗ, обусловленные нарушением липидного обмена и развитием атеросклеротического процесса (Dawber T. R., 1980; Shaper A.G., 1985). Изменение их структуры и функций генов, регулирующих липидный обмен, может быть фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний — ИБС и ИБМ. Ген *GP1BA* кодирует гликопротеин 1В (ГЛ-1В), который является мембранным гликопротеином тромбоцитов, состоящим из альфа- и бета-цепей, связанных между собой дисульфидной связью. ГЛ-1В является рецептором к фактору Виллебранда. Полный рецепторный комплекс включает в себя ассоциацию нековалентно связанных альфа- и бета-субъединиц с гликопротеином IX и гликопротеином V тромбоцитов. Связывание комплекса ГЛ-1В–IX–V с фактором Виллебранда инициирует адгезию тромбоцитов после повреждения кровеносного сосуда, их активацию и тромбообразование. Мутации в этом гене способствуют повышенному тромбообразованию.

Вторым направлением изучения потенциальных патогенетических факторов при различных ССЗ в последние годы рассматривают явление апоптоза (Isner J. M. et al., 1995). Известно, что апоптоз является одним из механизмов ишемического повреждения клетки и, возможно, основным фактором увеличения зоны инфаркта мозга при инсульте. В связи с этим особую актуальность приобретают исследования, направленные на изучение генов, продукты которых вовлечены в реализацию программы клеточной гибели, что позволит в дальнейшем раскрыть молекулярно-генетические основы ишемического повреждения мозга и выявить факторы индивидуальной чувствительности мозга к ишемии.

Третьим современным и одним из эффективных методов поиска кандидатных генов ИБС и ИБМ является анализ пар сибсов (Spielman R.S., Ewens W.J., 1998). Метод сибсов позволяет проводить анализ сцепления между геном и заболеванием, поиск ассоциаций для

выявления возможных связей между анализируемым полиморфизмом гена и различными клиническими проявлениями заболевания, как в группе пробандов, так и в группе их сибсов, оценить риск развития того или иного заболевания у лиц с отягощенным семейным анамнезом [9]. Результаты исследования близнецовых пар [12, 16] и родословных [19, 32, 34] в целом показали повышенную частоту встречаемости ишемического инсульта в пределах одной семьи [23, 38]. Выявлено несколько случаев полиморфизма, четко связанного с ишемическим инсультом. Геномные исследования широко не проводились. Ранее публиковались широкие обзоры многочисленных исследований, направленных на поиск генов-кандидатов [28]. В последнее время при геномных исследованиях выявлены гены фосфодиэстеразы 4D (*PDE4D*) [26] и *ALOX5AP*, кодирующий 5-липоксигеназоактивирующий белок (FLAP) [29], как потенциальные гены — факторы риска ИИ. Так, Т.В. Тупицына (2007) при использовании сибсового метода провела анализ вклада десяти диаллельных ДНК-маркеров в развитие ИБС и ИБМ. Она показала, что ни один из изучаемых генов-кандидатов ССЗ не является главным геном ИБС и ИБМ, подчеркивая многофакторный характер этих заболеваний. При изучении пар сибсов обнаружено, что инсерционно-делеционный (I/D) полиморфизм гена *ACE* ассоциирован с развитием ишемической болезни сердца у лиц с отягощенным по ИБС семейным анамнезом. Генетическим маркером заболевания является генотип DD. Впервые показано, что DD-генотип также ассоциирован с развитием ИБС у сибсов с отягощенной по инсульту наследственностью. Установлено, что R219K полиморфизм гена *ABCA1* ассоциирован с развитием ИБС. Аллель 219K и генотипы 219KK и 219KK являются фактором повышенного риска развития и тяжелого течения ИБС. Установлено, что R1587K полиморфизм гена *ABCA1* ассоциирован с развитием ИБС, инфаркта миокарда и стенокардии. Аллель R1587 и генотип R1587R являются фактором повышенного риска развития этих заболеваний у лиц с отягощенным семейным анамнезом. Была обнаружена связь полиморфизма -1131T/C гена *APOA5* с параметрами, характеризующими выраженность атеросклеротического процесса в коронарных артериях у больных ИБС. Показано, что генотипы -1131C/C и -1131T/C ассоциированы с более высокой степенью поражения коронарных артерий. Впервые показана ассоциация R72P полиморфизма гена *p53* с риском развития гипертрофии миокарда левого желудочка (ГЛЖ) у больных ИБС. Установлено, что аллель Р является протективным фактором риска развития ГЛЖ у этих больных. Установлено, что С311S полиморфизм гена *PON2* ассоциирован с развитием инфаркта миокарда, гипертрофии миокарда левого желудочка у лиц с отягощенной по ИБС наследственностью, а также с гипертонической болезнью (Полони-

ков А.В., 2007). Фактором повышенного риска развития данных заболеваний является аллель С311 и генотип С311С. Проведен анализ вклада полиморфных вариантов ряда генов-регуляторов апоптоза в патогенез ишемического инсульта. Показана корреляция А>G полиморфизма (rs3219023) в первом интроне гена *PARP1* и С/А полиморфизма в 3'-фланкирующей области гена *EFNB3* с размером очага инфаркта мозга и тяжестью состояния больных. Установлено, что генотип А/А по гену *PARP1* и генотипы А/А и С/А гена *EFNB3* ассоциированы с развитием и прогрессированием инсульта и являются вариантом тяжелого течения заболевания у русских больных. Обнаружено, что аллель С полиморфизма IVS9-675С > А гена HIF-1A и генотипы С/С и С/А являются факторами повышенного риска развития ишемического инсульта в русской популяции [9].

В настоящее время не рекомендуется проводить исследование на определение индивидуального полиморфизма в повседневной клинической практике [18].

Поэтому исследование генетических факторов риска ИИ целесообразно проводить в профилактических целях лицам, имеющим родственников 1 или 2 степени родства, перенесших это заболевание. Из-за высокой социальной значимости, вероятно, будет определена молекулярная основа инсульта. Степень, с которой генные нарушения, предрасполагающие к инсульту, отличаются от генных расстройств, предрасполагающих к известным промежуточным фенотипам, таким как артериальная гипертензия, сахарный диабет, гиперлипидемия, неизвестна. Открытие группы риска с гаплотипом PDE4D в исландской популяции подтвердило точку зрения о том, что молекулярные методы могут с успехом применяться при инсульте [25, 26]. Результаты исследований (например, «Исследование Сибсов с Ишемическим Инсультом» — SWISS) в будущем позволят оценить, являются ли повреждения гена PDE4D факторами риска по ишемическому инсульту для более разнородной Северо-Американской популяции [36, 37]. Исследования по методу «случай–контроль», скорее всего, останутся основными при определении генетических факторов риска при инсульте из-за трудностей в выполнении исследований по выявлению сцепления в подверженной инсульту популяции старшего возраста [36, 37].

Таким образом, все исследования, связанные с изучением генетических факторов риска ССЗ (ишемического инсульта, ИБС), демонстрируют, что в их развитии задействовано большое число генов, участвующих в различных молекулярных механизмах [6]. Дальнейшее исследование функций генома, возможно, позволит выявить новые кандидатные гены. Возможно, будущие достижения молекулярной биологии и генетики, создание новых технологий, расшифровка генома человека позволят пролить свет на механизмы полигенных сердечно-сосудистых заболеваний и закономерности взаимодействия генотипа с факторами внешней среды.

Наша работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

Список литературы

1. Дисфункция эндотелия: связь с полиморфизмом гена рецептора (тип 1) ангиотензина II у больных ишемической болезнью сердца [Электронный ресурс] / Л.О. Мишукина, Д.А. Затеищikov, О.Ю. Кудряшова, Д.А. Чистяков, В.В. Носиков, Т.Е. Цимбалова, В.Г. Баринov, Е.М. Носенко, В.П. Седов, Б.А. Сидоренко. — М.: РОО «Мир Науки и Культуры», Copyright © 2000–2009. — ISSN 1684–9876. Режим доступа <http://nature.web.ru/db/search.html>.
2. Заклязьминская Е.В. Генетическое разнообразие сердечно-сосудистых заболеваний и возможности молекулярной диагностики / Е.В. Заклязьминская, С.И. Козлова, А.В. Поляков // Вестник аритмологии. — 2005. — № 37. — С. 69–76.
3. Мешиа Дж.Ф. Применение геномного подхода при изучении ишемического инсульта // Журнал «Stroke» (Инсульт). — 2007. — № 1.
4. Назаров В.В. Инсульт у лиц молодого возраста. Особенности патогенеза и диагностики: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Назаров Вячеслав Владимирович. — СПб., 2009. — 38 с.
5. Гусев Е.И. Полиморфизм генов фибриногена у больных с ишемическим инсультом // Е.И. Гусев, О.О. Фаворова, М.А. Судомоина и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2008. — № 4. — С. 27–30.
6. Роль полиморфных вариантов генов ренин-ангиотензиновой системы, эндотелиальной NO-синтазы и p53 в развитии основных факторов риска сосудистой патологии головного мозга и в формировании инфаркта мозга [Электронный ресурс] / В.И. Скворцова, С.А. Лимборская, П.А. Сломинский, Е.А. Кольцова, И.М. Шетова // CONSILIUM MEDICUM — приложение, 2003. — Том 5, № 5. Режим доступа: <http://old.consilium-medicum.com>.
7. Сердюк И.Е. Полиморфизм генов фибриногена у больных с ишемическим инсультом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / И.Е. Сердюк. — М., 2008. — 22 с.
8. Торшин И.Ю., Громова О.А. Сосудистые заболевания сердца, мозга и молекулярные гены. Ассоциативные исследования и патофизиология сосудистых заболеваний // Журнал «Трудный пациент». — 2008. — № 2–3. — С. 15–19.
9. Тупицына Т.В. Молекулярно-генетический анализ факторов риска коронаросклероза и ишемической болезни мозга: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Т.В. Тупицына. — М., 2007. — 31 с.
10. Чудакова Д.А. Исследование ассоциации ряда генов системы гемостаза с ишемической болезнью сердца: Дис. ... канд. биол. наук: 03.00.03 / Д.А. Чудакова. — М., 2005. — 145 с.
11. Adams H.P.Jr. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment / H.P. Adams, Jr., B.H. Bendixen, L.J. Kappelle et al. // Stroke. — 1993. — Vol. 24. — P. 35–41.
12. Bak S. Genetic liability in stroke: a long-term follow-up study of Danish twins / S. Bak, D. Gaist, S.H. Sindrup, A. Skytthe, K. Christensen // Stroke. — 2002. — Vol. 33. — P. 769–774.
13. Bataineh A., Raji L. Angiotensin II, nitric oxide, and end-organ damage in hypertension // Kidney Int. Suppl., 1998. — Vol. 68. — P. 614–619.
14. Baumann R.E., Henschen A.H. Human fibrinogen polymorphic site analysis by restriction endonuclease digestion and allele-specific

polymerase chain reaction amplification: identification of polymorphisms at positions A 312 and B 448 // *Blood*. — 1993. — Vol. 82. — P. 2117—2124.

15. Bonnardeaux A. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension / A. Bonnardeaux, E. Davies, X. Jeunemaitre et al. // *Hypertension*. — 1994. — Vol. 24(1). — P. 63–69.

16. Brass L.M. A study of twins and stroke/ L.M. Brass, J. L. Isaacsohn, K.R. Merikangas, C.D. Robinette // *Stroke*. — 1992. — Vol. 23. — P. 221–223.

17. Buraczyńska M. Association of the renin-angiotensin system gene polymorphism with nephropathy in type II diabetes / M. Buraczyńska, P. Ksiazek, J. Łopatyński et al. // *Pol. Arch. Med. Wewn.* — 2002. — Vol. 108 (2). — P. 725–730.

18. Burke W. Genetic test evaluation: information needs of clinicians, policy makers and the public / W. Burke, D. Atkins, M. Gwinn et al. // *Am. J. Epidemiol.*, 2002. — Vol. 156. — P. 311–318.

19. Caicoya M. Family history and stroke: a community case-control study in Asturias, Spain / M. Caicoya, C. Corrales, T. Rodriguez // *J. Epidemiol. Biostat.*, 1999. — Vol. 4. — P. 313–320.

20. Celentano A. Cardiovascular risk factors, angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism, and left ventricular mass in systemic hypertension / A. Celentano, F.P. Mancini, M. Crivaro et al. // *Am. J. Cardiol.*, 1999. — Vol. 83. — P. 1196–1200.

21. Dichgans M. Genetics of ischaemic stroke // *Lancet Neurol.* — 2007. — Vol. 6. — P. 149–161.

22. Dielis A.W. The prothrombotic paradox of hypertension: role of the renin-angiotensin and kallikrein-kinin systems/ A.W. Dielis, M. Smid, H.M. Spronk et al. // *Hypertension*. — 2005. — Vol. 46(6). — P. 1236–1242.

23. Flossmann E. Systematic review of methods and results of studies of the genetic epidemiology of ischemic stroke / E. Flossmann, U.G. Schulz, P.M. Rohlwell // *Stroke*. — 2004. — Vol. 35. — P. 212–227.

24. Fogari R., Zoppi A. Antihypertensive drugs and fibrinolytic function // *Am. J. Hypertens.* — 2006. — Vol. 19 (12). — P. 1293–1299.

25. Gretarsdottir S. Localization of a susceptibility gene for common forms of stroke to 5q12 / S. Gretarsdottir, S. Sveinbjornsdottir, H.H. Jonsson et al. // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 70. — P. 593–603.

26. Gretarsdottir S. The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke / S. Gretarsdottir, G. Thorleifsson, S.T. Reynisdottir et al. // *Nat. Genet.* — 2003. — Vol. 35. — P. 131–138.

27. Hamosh A. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders/ A. Hamosh, A.F. Scott, J. Amberger, C. Bocchini, D. Valle, V.A. McKusick // *Nucleic Acids Res.* — 2002. — Vol. 30. — P. 52–55.

28. Hassan A., Hugh S. Markus. Genetics and ischaemic stroke // *Brain*. — 2000. — Vol. 123. — P. 1784–1812.

29. Helgadottir A. The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke/ A. Helgadottir, A. Manolescu, G. Thorleifsson et al. // *Nat. Genet.* — 2004. — Vol. 36. — P. 233–239.

30. Herrmann S., Paul M. Studying genotype-phenotype relationships: cardiovascular disease as an example // *J. Mol. Med.* — 2002. — Vol. 80(5). — P. 282–289.

31. Jones A. Genetic variants of angiotensin II receptors and cardiovascular risk in hypertension / A. Jones, S.S. Dhamrait, J. R. Payne et al. // *Hypertension*. — 2003. — Vol. 42(4). — P. 500–506.

32. Kiely D.K. Familial aggregation of stroke: the Framingham Study / D.K. Kiely, P.A. Wolf, L.A. Cupples, A.S. Beiser, R.H. Myers // *Stroke*. — 1993. — Vol. 24. — P. 1366–1371.

33. Lane D., Grant P. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease // *Blood*. — 2000. — Vol. 95. — P. 1517–1532.

34. Liao D. Familial history of stroke and stroke risk: The Family Heart Study / D. Liao, R. Myers, S. Hunt et al. // *Stroke*. — 1997. — Vol. 28. — P. 1908–1912.

35. Margaglione M. Prevalence of apolipoprotein E alleles in healthy subjects and survivors of ischemic stroke: an Italian case-control study / M. Margaglione, D. Seripa, C. Gravina et al. // *Stroke*. — 1998. — Vol. 29. — P. 399–403.

36. Meshia J.F. The Siblings With Ischemic Stroke Study (SWISS) protocol / J.F. Meschia, R.D.Jr. Brown, T.G. Brott et al. // *IBMC Med. Genet.* — 2002. — Vol. 3(1).

37. Meshia J.F. The Ischemic Stroke Genetics Study (ISGS) protocol / J.F. Meschia, T.G. Brott, R.D. Brown, Jr. et al. // *IBMC Neurol.* — 2003. — Vol. 3(4).

38. Meshia J.F. Genetics of Cerebrovascular Disorders / James F. Meshia, Thomas G. Brott, Robert D. Brown // *Mayo Clinic Proceedings*. — 2005. — Vol. 80(1). — P. 122–132.

39. Nabel E. Cardiovascular disease // *N. Engl. J. Med.* — 2003. — Vol. 349(1). — P. 60–72.

40. RastenYTE D. Genetics of stroke — a review / D. RastenYTE, J. Tuomilehto, C. Sarti // *Journal of Neurological Sciences*. — 1998. — Vol. 153. — P. 132–145.

41. Schmidt H. b-fibrinogen gene polymorphism (C148 to T) is associated with carotid atherosclerosis / H. Schmidt, R. Schmidt, K. Niederkorn et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 1998. — Vol. 18. — P. 487.

42. Szklo M.M., Nieto F.J. *Epidemiology: beyond the basics*, Aspen Publishers, Inc. 2002.

43. Tang Z., Tracy R.P. Candidate genes and confirmed genetic polymorphisms associated with cardiovascular diseases: a tabular assessment // *J. Thromb. Thrombolysis*. — 2001. — Vol. 11(1). — P. 49–81.

44. Torshin I.Yu. *Bioinformatics in the post-genomic era: physiology and medicine*. — Nova Biomedical Books, NY, USA. — 2007/ ISBN: 1600217524/ P. 35–67.

45. Torshin I.Yu. *Bioinformatics in the post-genomic era: studies in clinical genetics*. — Nova Biomedical Books, NY, USA. — 2008.

46. van Ittersum F.J. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and complications of insulin-dependent diabetes mellitus / F.J. van Ittersum, A.M. de Man, S. Thijssen et al. // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2000. — Vol. 15(7). — P. 1000–1007.

47. Williams M.S., Bray P.F. Genetics of arterial prothrombotic risk states // *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. — 2001. — Vol. 226(5). — P. 409–419.

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СИНДРОМА НИЙМЕГЕН (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Л.А. ВОЛЯНСКАЯ¹, Л.Н. ДМИТРАШ²

¹ ГБУЗ Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского

² Тернопольская областная клиническая коммунальная детская больница

Резюме. Синдром Ниймеген относится к тяжелым наследственным заболеваниям с аутосомно-рецессивным типом передачи мутированного гена *NBS1*, который находится в 8 хромосоме (8q21). Фенотипическими признаками этого заболевания являются: микроцефалия, «птицеобразное» лицо, задержка физического и полового созревания, кожные поражения. Манифестация синдрома проявляется рецидивирующими, торпидными к лечению вирусно-бактериальными инфекциями. Последующее течение болезни часто сопровождается развитием злокачественных новообразований и снижением интеллекта.

Ключевые слова: синдром Ниймеген.

CLINIC-IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF NIJMEGEN BREAKAGE SYNDROME (A CASE FROM CLINICAL PRACTICE)

L.A. VOLIANSKA¹, L.N. DMYTRASH²

¹ State educational institution Ternopol I.Ja. Gorbachevski state medical university

² Ternopol district clinical community pediatric hospital

Summary. Nijmegen breakage syndrome is one of the severe combined immune deficient diseases with autosomal recessive type heredity. The disease is based on mutation of *NBS1*, situated on the 8th chromosome (8q21). The phenotypic manifestations of the disease are microcephalia, «bird-like» face, delay of physical development and puberty, violation of skin. Clinically the disease manifests with relapsing viral-bacterial infections, malignant neoplasms, intellectual regression.

Key words: Nijmegen breakage syndrome.

Синдром Ниймеген (синдром хромосомных поломок Ниймеген, Nijmegen breakage syndrome, NBS) [D82.8/Q95.5] — это синдром хромосомной нестабильности, распространенный у славян, который характеризуется микроцефалией, комбинированным первичным иммунодефицитом, повышенной чувствительностью к радиоактивному излучению и высокой предрасположенностью к лимфоидным опухолям [2]. Синдром Ниймеген входит в группу заболеваний с хромосомной нестабильностью [3, 4, 5]. Необычное название связано с голландским городом Ниймеген, в университетской клинике которого в 1981 году заболевание было впервые описано Weemaes [6].

Этиология: мутация гена *NBS1*, который находится в 8 хромосоме (8q21). Болезнь наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Ген синдрома Ниймеген был картирован в длинном плече хромосомы 8 в 1998 г. и назван *NBS1*. Практически в 90% случаев у больных в обоих локусах наблюдается одинаковая мутация гена *NBS1* (657del5, или «славянская мутация»). Описано также и 7 других мутаций этого гена. У всех описанных вариантов этого синдрома пациенты были гетерозиготами [1, 4].

Патогенез: ген *NBS1* кодирует нибрин — белок, который принимает участие в процессах репарации ДНК и контролирует процессы митоза. Накопление дефектных ДНК ведет к развитию иммунодефицита, злокаче-

ственных новообразований. Нибрин (p95) обеспечивает взаимодействие между двумя белками: h Mre 11 u Rad 50 и контролирует репарацию парных разрывов двуспиральной ДНК, индуцированных ионизирующим излучением или нормальными процессами — мейотическими реакциями и митотической VDG реанжировкой в зрелых лимфоцитах [6]. На основе образованной впоследствии ДНК обеспечивается синтез разнообразных специфических антител, Т-клеточных рецепторов. Синтез антител и рецепторов обеспечивает не только сам по себе иммунный ответ, но и созревание Т- и В-лимфоцитов. Двухнитевые разрывы ДНК также регулярно возникают в процессе кроссинговера при мейозе (пациенты с атаксией-телеангиэктазией страдают бесплодием [5], вызванным недостаточностью функций яичников). Процессы, напоминающие рекомбинацию генов иммуноглобулинов у пациентов с синдромом Ниймеген, происходят при созревании нейронов головного мозга, что, вероятно, и вызывает микроцефалию, умственные нарушения.

Распространенность: единичные случаи заболевания встречаются по всему миру, но чаще всего в странах Восточной Европы и на Украине. Поскольку в 90% этих случаев диагностирована мутация 657del5 в обоих локусах гена *NBS1*, это заболевание еще называют «славянская мутация».

Клиническая картина:

- микроцефалия, которая возникает с момента рождения и прогрессирует с возрастом;
- поражение головного мозга (субарахноидальные кисты, агенезия мозолистого тела, гидроцефалия);
- птицеобразное выражение лица (низкий скошенный лоб на фоне микроцефалии, гипоплазия нижней челюсти, выступающая вперед средняя часть лица, большой нос, сравнительно большие и диспластические уши с большим носом; часто отмечается монголоидный разрез глаз, короткая шея, гипертелоризм);
- задержка физического развития, у подростков задержка формирования вторичных половых признаков;
- интеллект у младших детей не нарушен, но с возрастом нарастает отставание вплоть до олигофрении;
- нарушения пигментации кожи в виде пятен цвета «кофе с молоком», часто в наличии витилиго, телеангектазии, множественные пигментные невусы, капиллярные или кавернозные гемангиомы;
- изменения со стороны волос: у детей раннего возраста волосы редкие, с возрастом они нормализуются, часто ранняя седина;
- аномалии других систем и органов;
- проявления иммунодефицита включают частые рецидивирующие инфекции верхних дыхательных путей с последующим формированием бронхоэктатической болезни;
- оппортунистические инфекции (герпетическая инфекция, кандидозы и т. д.) встречаются редко.

Диагностические критерии

типичная клиническая картина:

- мутация гена NBS1;
- лимфопения, чаще за счет CD4+лимфоцитов, инверсии соотношения CD4+/CD8+, повышение уровня NK-лимфоцитов, снижение уровня иммуноглобулинов IgA, IgG, возможен дефицит субкласса IgG2.

Материалы и методы исследования

На базе кафедры педиатрии с детской хирургией ТГМУ им. И.Я. Горбачевского и Львовского института наследственной патологии АМН Украины изучена медицинская документация (генетические карты, истории стационарного больного, история развития ребенка), произведена оценка фенотипа; общеклиническое и иммунологическое обследование девочки, историю болезни которой мы представляем как собственное наблюдение.

Результаты исследования

На протяжении последних 5 лет на территории Тернопольской области (Западный регион Украины) зарегистрировано 4 случая синдрома Ниймеген, у 3 из них

диагноз подтвержден выявлением мутации гена NBS1, в одном случае диагноз выставлен фенотипически.

Приводим пример клинико-параclinical характеристик случая, который мы наблюдали лично в течение пяти лет с момента первого обращения ребенка за помощью. Девочка впервые попала в поле зрения иммунолога в возрасте 6 лет. Обратилась по поводу частых респираторных эпизодов, которые нередко сопровождались кожными поражениями. Ребенок-пробанд родился от второй беременности, которая протекала без осложнений и закончилась физиологическими родами. Масса при рождении 2300,0 г. Период новорожденности без особенностей. С 3-летнего возраста девочка часто болеет ОРЗ. До 6,5 лет восемь раз болела пневмонией и в этом возрасте впервые начинает наблюдаться иммунологом по поводу подозрения на комбинированный иммунодефицит. В возрасте 7 лет диагноз врожденного комбинированного иммунодефицита — синдром Ниймеген подтвержден генетически во Львовском институте наследственной патологии АМН Украины. По данным молекулярно-генетического обследования, выявлена мутация 657del5 в обоих локусах гена NBS1 (то есть в гомозиготном состоянии). У матери девочки аналогичная мутация в гетерозиготном состоянии (отец не обследован, но очевидно, что и он гетерозиготен по данной мутации). С этого времени ребенок получал заместительную терапию, но нерегулярно из-за большой стоимости такого лечения и ограниченных бюджетных возможностей нашей области. В семье трое детей, первый ребенок здоров (старшая сестричка — 13 лет), а вот у младшего брата 6 лет имела место кратковременная потеря зрения с последующим неполным восстановлением (причина неизвестна). Прародители по обеим линиям с западного региона Тернопольской области (Бережанский район). Мать и отец здоровы.

Данное сообщение базируется на повторном наблюдении за данным ребенком по достижении им возраста 11 лет во время очередного поступления на стационарное лечение по поводу: Синдром Ниймеген (Najmegen beakage-syndrome) (D82.8/Q95.5). Комбинированный иммунодефицит. Аллергический дерматит. Хронический обструктивный бронхит (J 44). Артрит левого коленного сустава. Задержка физического развития (по массе тела — 3,85 δ, по росту — 3,65 δ).

Объективное состояние: при осмотре девочка отстает в физическом развитии, астенизирована (рис. 1). Особенности фенотипа: голова микроцефальной формы, гипертелоризм, большие уши, седловидный нос, «птичье» лицо (рис. 2), клинодактилия мизинцев рук, аномалия размещения III пальцев. Кожа сухая с множественными ярко-розовыми кольцевидными пятнисто-папулезными высыпаниями различной величины на руках, лице и туловище с кружевными краями, кое-где покрытыми мелким шелушением (рис. 3). Эмоционально лабильна, контакту доступна. Небные миндалины, периферические лимфоузлы гипоплазированы. Дыхание

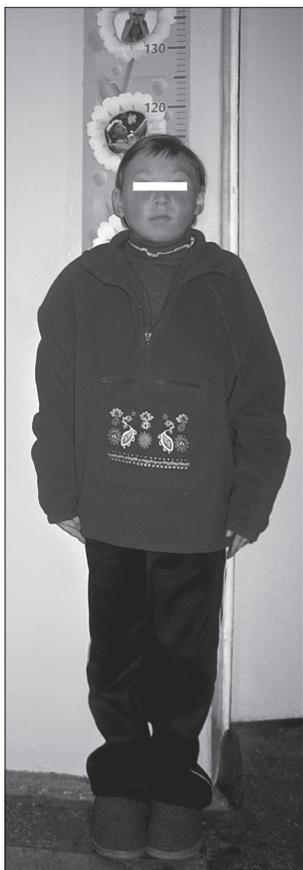


Рис. 1

жесткое, без хрипов. Одышка смешанного характера. Тоны сердца приглушены, тахикардия. Печень и селезенка выступают из подреберья на 3,5 и 1,0 см, соответственно. Стул и мочеиспускание не нарушены.

В гемограмме: тенденция до лейкопении, лимфоцитопения, снижены уровни Ig A (< 10 mg/100 ml при норме 79–169) и Ig G (124 mg/100 ml при норме 667–1169). Наблюдались также изменения со стороны клеточного звена иммунитета: CD3+ 61% (при норме 66–73%) 0,747 в абс. к-ве (N — 1,8–3,0), CD4 + 24% (при норме 32–43%) 0,294 в абс. к-ве (N — 1,0–1,8), CD8+ 31% (при норме 25–34%) 0,38 в абс. к-ве (N — 0,8–1,5), CD19 + 10% (при норме 16–24%) 0,122 в абс. к-ве (N — 0,7–1,3), CD16/56 3% (при норме 7–15%) 0,04 в абс. к-ве (N — 0,2–0,6). Таким образом, иммунологические исследования свидетельст-



Рис. 2

вуют о выраженном комбинированном иммунодефиците. Повышен уровень острофазовых белков. Рентгенография органов грудной клетки: хронический бронхит. УЗИ органов брюшной полости: гепатоспленомегалия, почки

без патологии. УЗИ суставов: слева в проекции супрапателлярного кармана акустически прозрачная жидкость до 12 мм с пристеночными фибринозными наложениями, левосторонний бурсит. ЭхоЭГ: микроцефальный синдром. ЭЭГ: признаки энцефалопатии.

Ребенок получил заместительную иммунотерапию в дозе 0,2–0,4 мл/кг. На фоне заместительной терапии в комбинации с антибактериальными препаратами во время активации инфекционного процесса и антигистаминными препаратами в связи с наличием проявлений атопии состояние девочки клинически стабилизировалось (во время амбулаторного лечения заместительная терапия проводилась крайне нерегулярно из-за материальных проблем).

Таким образом, клинико-лабораторные особенности нашей пациентки были близки параметрам международного регистра синдрома Ниймеген [5].

Вывод. Дети с микроцефалией — уроженцы западных регионов Украины как группа риска по синдрому Ниймеген заслуживают тщательного иммунологического и медико-генетического обследования с целью раннего выявления у них данной аномалии и быстрого начала заместительной иммунотерапии. Необходимо дальнейшее совершенствование программ по ранней диагностике данного синдрома и решения проблем его пренатальной диагностики.

Литература

1. Эффект основателя при синдроме Ниймеген /И.Б. Резник, О.О. Тогоев, И.В. Кондратенко и др. // Педиатрия. — 2001. — № 4. — С. 14–18.
2. Імунологія: Підр. /А.Ю. Вершигора, Є.У. Пастер, Д.В. Комебота та ін.; за ред. Є.У. Пастер. — К.: Вища школа, 2005.
3. Наказ МОЗ України від 09.0704 р. № 355 «Про затвердження Протоколів лікування дітей за спеціальністю «Дитяча імунологія».
4. Чернишова Л.І., Самарін Д.В. Первинні імунодіцити у дітей. — К., 2004. — 240 с.
5. The International Nijmegen Breakage Syndrome Study group // Arch Dis Child. — 2000. — Vol. 82. — P. 400–406.
6. Saar K., Chrzanowska K.H., Stumm M., Jung M. et al. // The gene for the ataxia-telangiectasia variant, Nijmegen breakage syndrome, maps to a 1-cm interval on chromosome 8q21.



Рис. 3

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТИ У ЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ

Н.Г. ДАНИЛЕНКО¹, М.Г. СИНЯВСКАЯ¹, А.М. ЛЕВАЯ-СМОЛЯК², О.А. ОЛЕЙНИК¹,
Е.П. МЕРКУЛОВА², О.Г. ДАВЫДЕНКО¹

¹ Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси,

² Белорусский государственный медицинский университет

Резюме. Обследовано 136 детей с сенсоневральной тугоухостью 2–4 степени на наличие мутации 35delG в гене GJB2. Мутация выявлена в гомозиготном состоянии у 47% исследуемых и в гетерозиготном состоянии у 16%. У одной девочки обнаружена митохондриальная мутация A1555G.

Ключевые слова: тугоухость, ген GJB2, митохондриальный ген 12S rРНК.

GENETIC NATURE OF SENSONEURAL HEARING LOSS IN BELARUS POPULATION

N.G. DANILENKO¹, M.G. SINIAVSKAYA¹, A.M. LEVAYA-SMOLJAK², O.A. OLEINIK¹,
E.P. MERKULOVA², O.G. DAVIDENKO¹

¹ Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Science of Belarus

² Belarus State Medical University

Summary. Analysis of the 35delG mutation were performed for 136 children with sensorineural hearing loss severe to profound. Among 136 deafness children 64 (47%) were homozygous for 35delG mutation; 22 (16%) were heterozygous carriers of 35delG. In one case there was found mitochondrial mutation A1555G.

Keywords: hearing loss, gene GJB2, mitochondrial gene 12S rRNA.

К настоящему времени у человека известно почти сто генов, связанных с глухотой и тугоухостью, которые локализованы как в ядре, так и в митохондриях [www.geneclinics.org/deafness-overview]. Наиболее часто выявляются мутации в гене GJB2, кодирующем коннексин 26. В этом небольшом гене, состоящем из 681 нуклеотида, описано к настоящему времени 90 различных мутаций. Основная мутация GJB2 — однонуклеотидная делеция 35delG — у европейцев обуславливает до 50% случаев нейросенсорной потери слуха [Antoniadi et al., 1999; Bitner-Glindzicz, 2002]. Кроме этой делеции, встречаются гораздо реже другие мутации: 167delT, 235delC, C254A, 313–314delAA, 360delG, однако частота каждой из них в различных европейских популяциях не превышает 1–2% от всех выявляемых мутаций. В ряде изученных популяций несиндромную глухоту вызывают мутации в генах GJB3, кодирующих соответственно коннексоны 31 и 30, встречающиеся с частотой от 0,5 до 5% [Bitner-Glindzicz, 2002].

На основании исследований последних лет установлено, что митохондриальные мутации составляют не менее 1% случаев доречевой потери слуха и 5% случаев послеречевой несиндромальной глухоты во многих популяциях Европы и Азии, занимая таким образом второе место после GJB2 [Fischel-Ghodsian, 1999; Jacobs et al., 2005]. Основные из них локализованы в рибосомальном гене 12S (мутации A1555G и T961G) и гене сериновой тРНК митохондрий (чаще всего это однонуклеотидная замена A7445G) [Prezant et al., 1993; Hutchin et al., 2001].

Данные мутации передаются исключительно по материнской линии и вызывают несиндромную потерю слуха. Чрезвычайно важным представляется определение носительства мутации A1555G, поскольку ее проявление часто связано с применением ряда антибиотиков, таких как гентамицин, стрептомицин, тобрамицин, неомицин, канамицин, паромомицин и др. Риск ототоксичности указанных препаратов необходимо учитывать при выявлении мутации A1555G в каждой конкретной семье для корректировки назначаемых фармацевтических препаратов при любых инфекционных заболеваниях [Estivill et al., 1998; Bitner-Glindzicz, 2002]. Данная проблема приобретает особую актуальность, так как сегодня практические детские врачи интенсивной терапии и реанимации свидетельствуют о высокой потребности использования аминогликозидов ввиду их широкого спектра действия.

Материалы и методы

В Беларуси широкомасштабные исследования генетической природы тугоухости впервые начаты нами в 2009 году. Проводится как определение мажорной ядерной мутации 35delG в гене GJB2 у детей разного возраста с нейросенсорной тугоухостью 2–4 степени, так и определение митохондриальных мутаций различной локализации.

ДНК для анализа выделяли из 0,05–0,1 мл периферической крови (пятно крови, высушенное на целлюлозном носителе) микромодификацией стандартного фенольного метода с протеиназой К. Выявление мутаций

Частота мажорных мутаций генов GJB2 и 12S rRNA в группе белорусских пациентов с НСТ

Количество пациентов с НСТ	Пациентов с мутацией в GJB2 гене:		Пациентов с мутацией в 12S rRNA гене A1555G
	35delG/35delG	35delG/N	
136	64 (47%)	22 (16%)	1 (0,74%)

осуществляли методом ПЦР-ПДРФ. После инкубации ПЦР фрагментов с соответствующей эндонуклеазой разделение фрагментов проводили в 7% полиакриламидном геле, результаты фиксировали с помощью системы гель-документирования (Doc-Print Imaging system, Vilber Lourmat).

Результаты и обсуждение

К настоящему времени проведено генотипирование 136 детей с несиндромальной сенсоневральной тугоухостью, среди которых выявлено 64 ребенка — гомозиготных носителя мутации 35delG, что составляет почти половину от всего числа обследованных. Кроме того, у 22 детей мутация 35delG обнаружена в гетерозиготном состоянии. У 50 пациентов (37%) данная мутация не выявлена. Таким образом, проведенный нами ПЦР-ПДРФ анализ мажорной мутации гена GJB2 в популяции детей с НСТ 2–4 степени показал, что 86 пациентов из 136

в гене GJB2 (рис. 1). Результатом этой делеции является образование дополнительного стоп-кодона, что приводит к синтезу более короткой неполноценной матрицы для синтеза коннексина 26. Мутация рецессивная, поэтому 22 наших пациента, являющиеся гетерозиготами по 35delG, имеют, вероятнее всего, какую-то другую мутацию во второй аллельной копии гена GJB2, т.е. являются компаунд-гетерозиготами. Поиск этих мутаций проводится нами в настоящее время с применением SSCP (анализа конформационного полиморфизма одонитетных фрагментов) и последующим секвенированием различающихся образцов.

Генетическая природа НСТ успешно исследуется в группах российских пациентов, проживающих как в европейских, так и в азиатских регионах России [Хуснутдинова, Джемилева, 2005; Джемилева и др., 2009; Журавский и др., 2009; Маркова, 2008; Барашков, 2007; Тазетдинов, 2008]. Обнаружены значительные различия

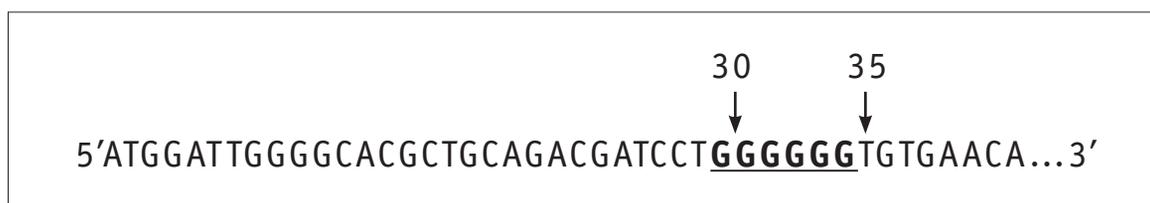


Рис. 1. Фрагмент кодирующего участка гена GJB2 с поли-G последовательностью в позициях 30–35

(63%) являются носителями одного или двух мутантных аллелей 35delG этого гена. У одной из пациенток с гомозиготным генотипом по ядерной мутации 35delG/35delG обнаружена также мутация в митохондриальном гене 12S рибосомальной РНК A1555G. Пациентка страдает сенсоневральной тугоухостью 4-й степени. Проведено генотипирование ее родных по материнской линии: сестра, мама и бабушка, являясь гомоплазматическими носителями мутации A1555G и гетерозиготами по 35delG, остаются тем не менее слышащими. Как ранее показано, пенетрантность мутации A1555G колеблется, составляя для европейских популяций примерно 40% [Leveque et al., 2007].

Мутация 35delG (обозначаемая реже как 30delG) представляет собой в действительности делецию любого из шести гуаниновых нуклеотидов (позиции 30–35)

в спектре и частоте мутаций в зависимости от региона. Так, в Республике Саха (Якутия) доля пациентов с различными мутациями в гене GJB2 и прежде всего с мутацией 35delG составляет менее 15%, что гораздо ниже, чем в европейских группах, где эта мутация встречается более чем у 40% пациентов. Первые результаты, полученные нами в белорусской популяции пациентов с НСТ, сопоставимы с частотами мутаций 35delG и A1555G у населения европейской части России.

Список литературы

1. Барашков Н.А. Молекулярно-генетическое изучение наследственной несиндромальной сенсоневральной глухоты в Республике Саха (Якутия): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Уфа, 2007.
2. Журавский С.Г., Тараскина А.Е., Курусь А.А., Иванов С.А., Гринчик О.В., Джемилёва Л.У., Хуснутдинова Э.К. Молекулярно-ге-

нетический анализ в установлении наследственной причины детской доречевой глухоты // Российская оториноларингология. — 2009. — Приложение № 1. — С. 70–73.

3. Маркова Т.Г. Клинико-генетический анализ врожденной и доречевой тугоухости: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — М., 2009.

4. Тазетдинов А.М. Анализ генов 12SrRNA, tRNASer(UCN), MYO7A и USH2A у пациентов с наследственными формами нарушения зрения и слуха: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Уфа, 2008.

5. Джемилева Л.У., Посух О.Л., Тазетдинов А.М., Барашков Н.А., Журавский С.Г., Пониделко С.Н., Маркова Т.Г., Тадинова В.Н., Федорова С.А., Максимова Н.Р., Хуснутдинова Э.К. Анализ генов 12S rRNA и tRNASer(UCN) мтДНК у больных несиндромальной сенсоневральной тугоухостью/глухотой из различных регионов России // Генетика. — 2009. — Т. 45. — № 7. — С. 982–991.

6. Хуснутдинова Э.К., Джемилева Л.У. Молекулярно-генетический анализ несиндромальной аутосомно-рецессивной тугоухости и глухоты у больных и в популяциях Волго-Уральского региона // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2005. — Т. 1. — № 1. — С. 24–31.

7. Antoniadis T., Rabionet R., Kroupis C., Aperis G.A., Economides J., Petmezakis J., Economou-Petersen E., Estivill X., Petersen M.B. High prevalence in the Greek population of the 35delG mutation in the connexin 26 gene causing prelingual deafness // Clin. Genet. — 1999. — Vol. 55, N5. — P. 381–382.

8. Bitner-Glindzicz M. Hereditary deafness and phenotyping in humans // Br. Med. Bull. — 2002. — Vol. 63. — P. 73–94.

9. Estivill X., Govea N., Barcelo E., Badenas C., Romero E., Moral L., Scozzri R., D'Urbano L., Zeviani M., Torroni A. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A155G mutation and is enhanced by treatment of aminoglycosides // Am. J. Hum. Genet. — 1998. — Vol. 62, N1. — P. 27–35.

10. Fischel-Ghodsian N. Mitochondrial deafness mutations reviewed // Hum. Mutat. — 1999. — Vol. 13, N4. — P. 261–270.

11. Hutchin T.P., Thompson K.R., Parker M., Newton V., Bitner-Glindzicz M., Mueller R.F. Prevalence of mitochondrial DNA mutations in childhood /congenital onset non-syndromal sensorineural hearing impairment // J. Med. Genet. — 2001. — Vol. 38, N4. — P. 229–231.

12. Jacobs H.T., Hutchin T.P., Käppi T., Gillies G., Minkkinen K., Walker J., Thompson K., Rovio A.T., Carella M., Melchionda S., Zelante L., Gasparini P., Pyykkö I., Shah Z.H., Zeviani M., Mueller R.F. Mitochondrial DNA mutations in patients with postlingual, nonsyndromic hearing impairment // Eur. J. Hum. Genet. — 2005. — Vol. 13, N1. — P. 26–33.

13. Leveque M., Marlin S., Jonard L., Procaccio V. et al. Whole mitochondrial genome screening in maternally inherited non-syndromic hearing impairment using a microarray resequencing mitochondrial DNA chip // Eur. J. Hum. Gen. — 2007. — Vol. 15. — P. 1145–1155.

14. Prezant T.R., Agapian J.V., Bohlman M.C., Bu X., Oztas S., Qiu W.Q., Arnos K.S., Cortopassi G.A., Jaber L., Rotter J.I. et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness // Nat. Genet. — 1993. — Vol. 4, N3. — P. 289–294.

15. Rydzanicz M., Wróbel M., Cywińska K., Froehlich D., Gaweki W., Szyfter W., Szyfter K. Screening of the general Polish population for deafness-associated mutations in mitochondrial 12S rRNA and tRNA Ser(UCN) genes // Genet. Test. Mol. Biomarkers. — 2009. — Vol. 13, N2. — P. 167–172.

16. Wilcox S.A., Saunders K., Osborn A.H., Arnold A., Wunderlich J., Kelly T., Collins V., Wilcox L.J., McKinlay Gardner R.J., Kamarinos M., Cone-Wesson B., Williamson R., Dahl H.H. High frequency hearing loss correlated with mutations in the GJB2 gene // Hum. Genet. — 2000. — Vol. 106, N4. — P. 399–405.

МУТАЦИЯ ГЕНА NF-1 И ДЕФОРМАЦИЯ ПОЗВОНОЧНИКА

А.М. ЗАЙДМАН, Е.Л. ЗАВЬЯЛОВА, М.В. МИХАЙЛОВСКИЙ, В.В. НОВИКОВ,
А.С. ВАСЮРА, В.А. СУЗДАЛОВ, М.А. САДОВОЙ
ФГУ Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии

Резюме. Изучение патогенетических механизмов формирования деформации позвоночника при нейрофиброматозе. Исследованы структурные компоненты позвоночника, полученные в ходе коррекции деформации от 15 детей с III–IV степенью сколиоза на почве нейрофиброматоза. В хондробластах пластинок роста детей ПЦР-реакцией исследована экспрессия генов агрекана, люмикана и NF-1. Этиологическим фактором формирования деформации позвоночника при нейрофиброматозе является мутация в клетках ганглиозной пластинки гена NF-1. Миграция клеток, несущих мутантный ген в одну из зон склеротома, приводит к активации онкогена и интенсивной пролиферации хондро-, остео- и фибробластов в пластинке роста, межпозвоночном диске и теле позвонка. Продолженный процесс деформации позвоночника после оперативного вмешательства объясняется пролиферацией хондро- и фибробластов в теле позвонка и межпозвоночном диске и нарушением экспрессии генов люмикана и NF-1.

Ключевые слова: нейрофиброматоз, пластинка роста, склеротом, деформация позвоночника, экспрессия гена.

MUTATION IN THE NF1 GENE AND SPINAL DEFORMITY

A.M. ZAIDMAN, E.L. ZAVYALOVA, M.V. MIKHAILOVSKY, V.V. NOVIKOV,
A.S. VASURA, V.A. SUZDALOV, M.A. SADOVOY
Federal State Institution Novosibirsk Scientific Research institute of Traumatology and Orthopedics

Summary. To study pathogenetic mechanisms of the development of spinal deformity in neurofibromatosis. Structural components of the spine were presented as specimens obtained after surgical correction of spinal deformity performed in 15 children with III–IV grade scoliosis associated with neurofibromatosis. Aggrecan, lumican and NF1 gene expression in growth plate chondroblasts in children was studied using PCR assay. Etiologic factor of the development of spinal deformity in neurofibromatosis is a mutation of the NF-1 gene in cells of ganglionic lamella. Migration of cells carrying mutant gene into one of the sclerotome zones results in oncogene activation and intensive proliferation of chondro-, osteo- and fibroblasts in the growth plate, intervertebral disc and vertebral body. Progressive development of the spinal deformity after surgical intervention is accounted both for proliferation of chondro- and fibroblasts in the vertebral body and intervertebral disc and for disturbance of the NF-1 and lumican genes expression.

Key words: neurofibromatosis, growth plate, sclerotome, spinal deformity, gene expression.

Введение

Нейрофиброматоз I типа — тяжелое системное наследственное заболевание с преимущественным поражением кожи, нервной, мышечной и костной систем. Наследуется по аутосомно-доминантному типу с высокой пенетрантностью генотипов и вариабельной экспрессивностью [18]. Этиологическим фактором заболевания является мутация гена NF-1, локализующегося в 17q-хромосоме [19, 24].

Мутация гена NF-1 вызывает повышенную активность онкобелков Ras, что приводит к пролиферации клеток и формированию опухолей. Из костных повреждений на почве нейрофиброза наиболее часто (от 2–69%) встречаются деформации позвоночника — кифозы и сколиозы с грудной локализацией [7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 19, 21, 22].

Механизм деформации позвоночника остается неизвестным. По мнению A.I. Tsirikos [12, 23], деформация позвоночника возникает вследствие давления опухолью (нейрофибромой) на тела позвонков [11, 14]. Не исключается и первичная дисплазия мезодермы, остеомаляция и эндокринный дисбаланс [17, 20]. Но ни одна из теорий не имеет достоверных доказательств. Особенно труднообъяснимой является идиопатическая форма, которая по клиническому течению и R-логическим данным неотличима от идиопатического сколиоза и диагностируется на основании сопутствующих симптомов [14, 15, 16, 20].

В настоящее время в доступной литературе отсутствуют данные, касающиеся морфологических изменений в структурных компонентах позвоночника при нейрофиброматозе. В связи с этим предпринято исследование с целью: изучить патогенетические механизмы формирования деформации позвоночника при нейрофиброматозе.

Материал и методы

Пластинки роста, межпозвоночные диски, фрагменты тел позвонков на высоте деформации, ниже и выше получены в клинике детской ортопедии Новосибирского НИИТО от 15 детей в возрасте 10–14 лет с деформациями позвоночника (от 90 до 90–120°) на почве нейрофиброматоза NF-1. Больные подвергались операции: anterior Releasing and interbody fusion. В качестве контроля были использованы структурные компоненты позвоночника детей (12–14 лет) без патологии позвоночника, полученные на кафедре судебной медицины. Ткани фиксировались в 10% растворе формалина, костная ткань подвергалась декальцинации в холодном трилоне «Б». После депарафинирования срезы окрашивались гистологическими методами (гематоксилин-эозин по Ван Гизону и Маллори), гистохимическими методами (толуидиновым синим при разных значениях pH, альциановой синью, Хейл-реакцией, Шик-реакцией).

Материалом для исследования уровня экспрессии генов — GAPDH, агрекана, люмикана и NF-1 методом ПЦР-анализа служили клетки, выделенные из ПР тел позвонков (операционный материал). В качестве контроля использовались хондробласты, выделенные из пластинок роста тел позвонков человека в возрасте 12–14 лет. Гиалиновый хрящ отмывали в растворе Хенкса с канамицином 1 г/л в течение 15 минут, измельчали в чашке Петри с минимальным объемом среды RPMI до размеров 1–2 мм, затем помещали в раствор 1,5% коллагеназы в силиконизированной посуде для инкубирования на шейкере при температуре 37 °С в течение 18–22 часов. Суспензию пропускали через нейлоновый фильтр и центрифугировали 10 мин при 1500 об./мин.

Суммарную РНК выделяли с использованием реагента PureLink Total RNA Purification System (Invitrogen, США) согласно рекомендациям производителя. Для очистки РНК от ДНК использовали реагент DNA-free™ DNase Treatment and Removal Reagents (Ambion, США).

Для проведения обратной транскрипции использовали реагент M-MLV Reverse Transcriptase (Promega, США). Все процедуры проводили в соответствии с рекомендациями производителя. Для синтеза кДНК брали по 6 мкг РНК на пробу.

Для полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовались праймеры F:

5'-GTGCAGCAGGATGCAGCGGA-3' и R;

5'-GCACACTCCCCAAGGGCAC-3' для гена NF-1 человека с размером целевого фрагмента 548 bp, F;

5'-ATCGTCACCCCCGAGGAGCAG-3' и R;

5'-GGCGCTGGACAAACCCCTCTG-3' (379 bp) для гена агрекана человека, F;

5'-GTGACTGGGCTGGGTCTCCCC-3' и R;

5'-GGCACTTGGGTAGCTTTTCAGGGC-3' для гена люмикана человека (329 bp), а также праймеры F;

5'-GGGCGCCTGGTCACCAG-3' R;

5'-AACATGGGGGCATCAGCAGAG-3' (350 bp) для гена GAPDH.

Аmplификацию фрагментов генов GAPDH, агрекана, люмикана и NF-1 проводили методом ПЦР на амплификаторе Терцик (компания «ДНК Технологии», Россия). Ген GAPDH использовался в качестве эндогенного внутреннего контроля. Объем реакционной смеси составлял 20 мкл, с добавлением ≈200 нг к ДНК, 2 мкл 10×ПЦР-буфера (10 mM Tris-HCl, 1,5 mM MgCl, 50 mM KCl, pH 8,3), 20 пмоль каждого праймера, 0,2 ммоль каждого дезоксинуклеозидтрифосфата и 1 ед. акт. Таq-ДНК-полимеразы. Реакционную смесь покрывали равным объемом минерального масла. ПЦР проводили при следующих условиях: начальная денатурация 5 мин при 95 °С, денатурация 30 с при 95 °С, отжиг праймеров 30 с при 58–60 °С, элонгация 30 с при 72 °С, 5 мин при 72 °С. Для гена GAPDH амплификация проводилась в течение 25 циклов, для генов агрекана и NF-1 — в течение 30 циклов.

Продукты ПЦР анализировали электрофорезом в 1,5–2% агарозном геле в буфере TAE (0,04 M Tris-HCl, 0,05 M EDTA pH 8,0) с содержанием 1 мкг/мл бромистого этидия. Сканирование геля проводили в УФ-свете с помощью видеосистемы «DNA Analyzer» (Москва).

Результаты исследования и обсуждение

Морфологические исследования структурных компонентов позвоночника показали, что на вогнутой стороне кривизны пластинка роста представлена мелкими без определенной ориентации плотно расположенными клетками, местами в дистрофически измененном матриксе (рис. 1). По своим фенотипическим признакам — это малодифференцированные хондробласты эмбриональ-

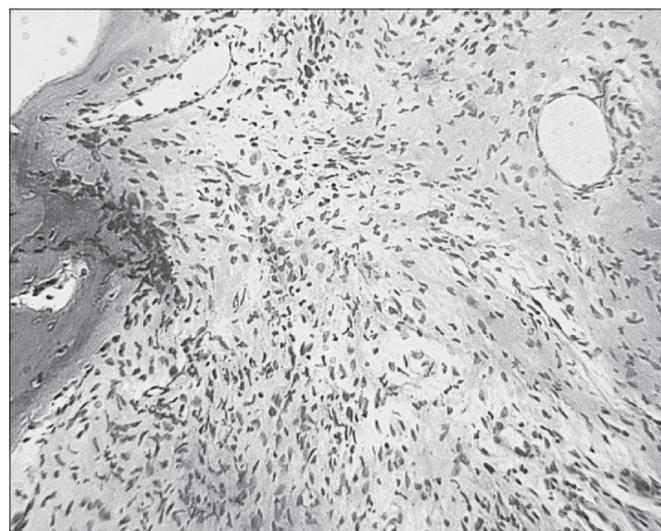


Рис. 1. Пролiferация низкодифференцированных хондробластов в пластинке роста тела позвонка на вогнутой стороне кривизны. Окраска гематоксилин-эозин; 10×20

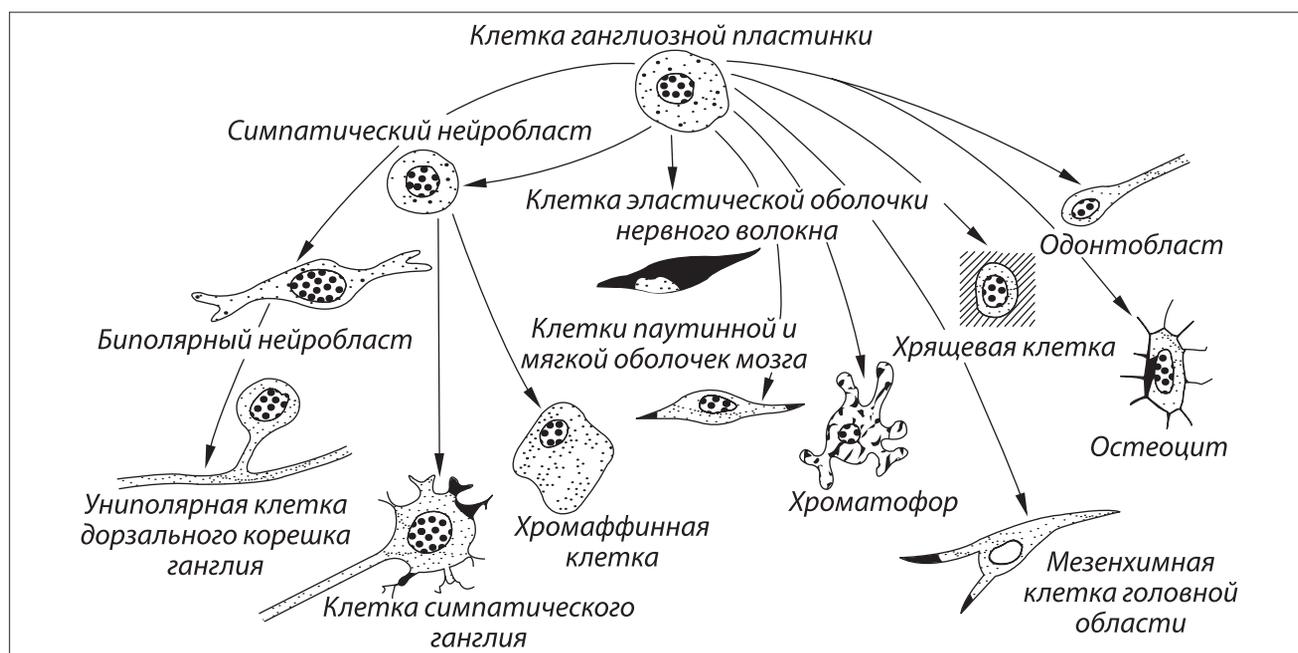


Рис. 2. «Судьба» клеток ганглиозной пластинки (по А.Г. Кнорре)

ного типа, о чем свидетельствует как ультраструктурная организация, так и морфологическая характеристика этих клеток. Возникает вопрос: каким образом в пластинке роста сохраняются клетки эмбрионального типа? Почему процесс дифференцировки и становления органной специфичности клеток не происходит? Для ответа на этот вопрос следует рассмотреть, прежде всего, происхождение этих клеток и причину активной примитивной их пролиферации.

Известно, что нейрофиброматоз — аутомно-доминантная патология, в основе которой лежит мутация в клетках ганглиозной пластинки гена NF-1. Клетки ганглиозной пластинки на ранних стадиях гаструляции, являясь производными нейроэктодермы, расселяются между экто- и энтодермой и формируют нервные ганглии, мозговое вещество надпочечников, вегетативную нервную систему, кости, хрящевые образования лицевого и головного черепа, дентин и т.д. (рис. 2). Надо полагать, что клетки ганглиозной пластинки мигрируют и в зачатки сегментированной мезодермы. Подтверждением подобного предположения является болезнь Реклингаузена — наличие множественных нейрофибром в коже — производной сегментированной мезодермы. Кроме того, пролиферация хроматофоров в эпидермис является фактором формирования кофейных пятен — одного из ведущих симптомов нейрофиброматоза. Полученные факты свидетельствуют о возможности миграции клеток ганглиозной пластинки в дерматом и в склеротом, что согласуется с классическим высказыванием Дриша: «Если процесс движения клеток идет однотипно, то траектории клеток могут быть в известной

степени случайными» [1]. Миграция клеток глиальной пластинки, несущих мутацию гена NF-1, в склеротом приводит к изменению фенотипа клеток глиальной пластинки, что согласуется с основным положением эмбриологии. «Мигрирующие клетки нервного гребня приобретают фенотип той среды, в которую они перемещаются, так как судьба клеток нервного гребня еще не детерминирована» [2]. На стадии хондрогенной дифференцировки склеротома клетки ганглиозной пластинки приобретают фенотип эмбриональных хондробластов, но генотип (мутация в гене NF-1) сохраняется. Ген NF-1 является опухолевым супрессором, экспрессирующим белок нейрофибромин. Этот ген контролирует активность онкобелков семейства Ras, переводя их в ГДФ-связанное состояние. Мутации в одном из аллелей гена NF-1 вызывает гиперэкспрессивность онкобелков Ras, что приводит к неконтролируемой стимуляции клеток и формированию опухолей. В пластинке роста — это хаотично, местами радиально расположенные низкодифференцированные хондробласты, сохраняющие «компетенцию эмбрионального материала». Эти клетки «лишены специализированных структур и не выполняют специальных частных функций, а обладают лишь органоидами общего значения, свойственными всякой клетке, и выполняют лишь общие всем клеткам функции питания, дыхания, выделения, перемещения, растут, размножаются» [2]. На ранних стадиях развития большое количество клеток обеспечивает формирование матрикса и тканеспецифической структуры — это синтезы, направленные на образование тканеспецифических органоидов и рецепторного аппарата клеток. На смену

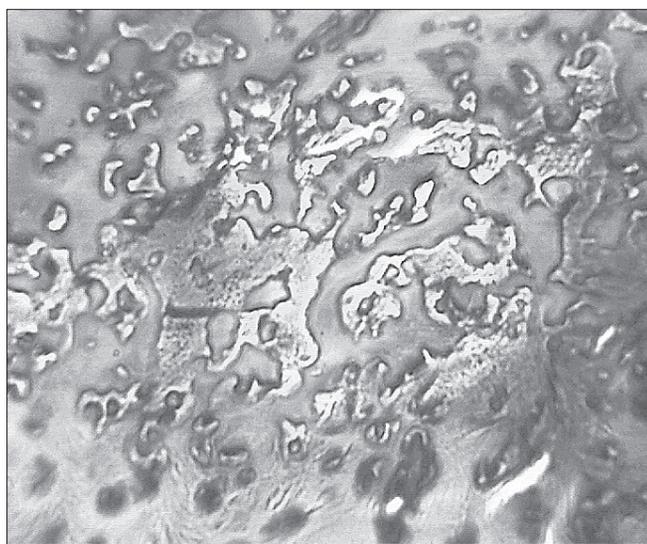


Рис. 3. Беспорядочное расположение костных балок на стадии минерализации (вогнутая сторона кривизны). Окраска гематоксилин-эозин; 10 × 10

ауто-паракринной регуляции формируется соответствующая, иерархическая регуляция, при которой возникают межтканевые взаимодействия, обеспечивающие гомеостаз функционирующего органа. Тканеспецифичность — это предшествующая стадия органоспецифичности клеток. Нарушение процесса формирования органоспецифической функции хондробластов пластинки роста на вогнутой стороне кривизны приводит к асимметрии роста. Примитивные хондробласты не проходят стадий дифференцировки — не интегрируются в хондроны, не формируют специфических рецепторов, способных к восприятию регулирующих «сигналов» гормональной и других систем. «Одиночные клетки не воспринимают действия индуктора и не способны к синтезу специфических ферментов» [3]. Мутация гена NF-1 приводит к разрыву необходимой цепочки формообразовательного процесса «клетка—ткань—орган». Нарушение специфической пролиферации и дифференцировки хондробластов сопровождается и резким нарушением остеогенеза. Так же как и в пластинке роста, на фоне пролиферации остеобластов и остеокластов наблюдается беспорядочное формирование неминерализованных балочных структур (рис. 3). Интенсивная пролиферация хондробластов выходит за пределы пластинки роста. Проллифераты внедряются в тело позвонка и ограничиваются тонкими костными пластинками, что обуславливает фистончатость тел позвонков — один из рентгенологических симптомов рассматриваемой патологии. Нарушение структурной организации костной ткани связано с активностью Ras-белков, стимулирующих митотическую активность остеобластов, на фоне низкой экспрессивности гена люмикана и высокой экспрессии гена агрекана (рис. 4). Эти гены регулируют

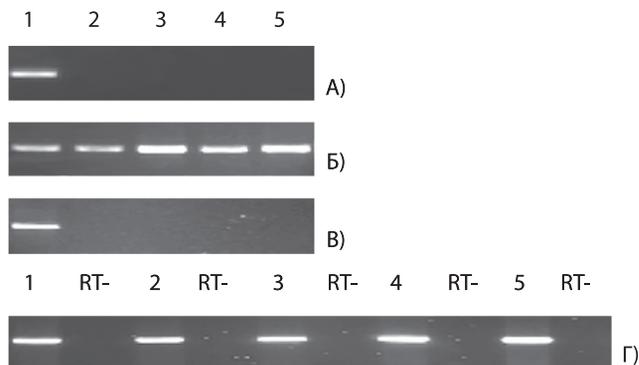


Рис. 4. ПЦР-анализ экспрессии генов: NF-1 гена (А), агрекана (Б), люмикана (В), GAPDH (Г).

1 — образец пластинки роста здорового ребенка; 2–5 — образцы пластинок роста детей, больных нейрофиброматозом NF-1; RT- — отрицательный контроль.

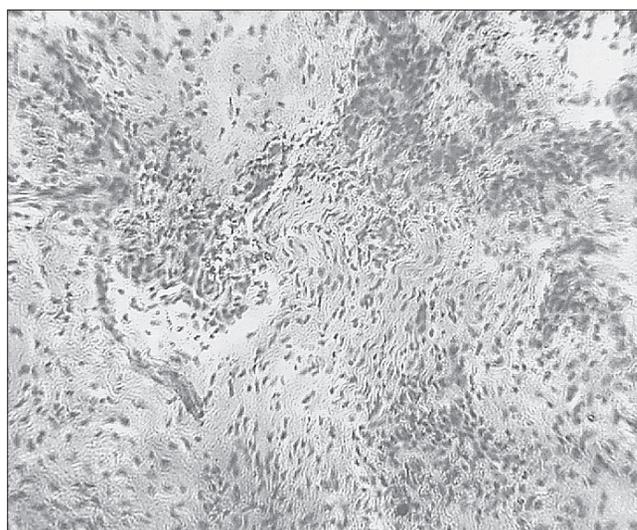


Рис. 5. Проллиферация хондро- и фибробластов в межпозвоночном диске. Окраска гематоксилин-эозин; 10 × 20

разные стадии остеогенеза, поэтому не исключено и двойное влияние этих генов.

Значительный интерес представляют изменения в межпозвоночном диске. На вогнутой стороне кривизны в разных отделах диска встречаются как отдельные пролифераты, состоящие из малодифференцированных хондробластов, так и образования, подобные нейрофибромам (рис. 5). В некоторых препаратах наблюдается формирование полисадных структур. Полученные факты подтверждают положение о том, что клетки ганглиозной пластинки в зависимости от места миграции приобретают соответствующий фенотип. Один из главных вопросов — это процесс формирования деформации позвоночника на фоне нейрофиброматоза. Морфологические исследования свидетельствуют о нарушении структурной организации пластинки роста на вогнутой

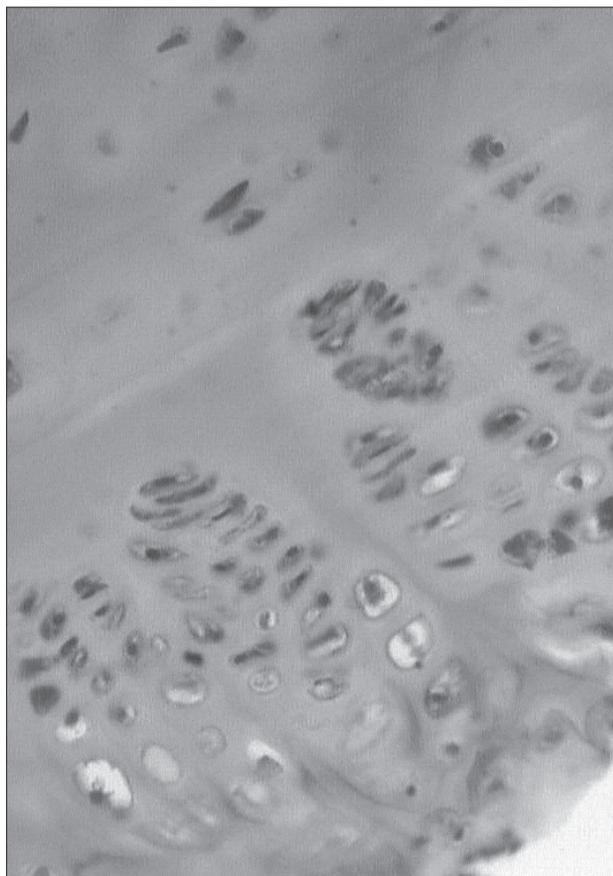


Рис. 6. Гранулы гликогена в цитоплазме клеток пластинки роста вогнутой стороны кривизны. ШИК-реакция; 10×40

стороне кривизны, тогда как на выпуклой сохраняются закономерности и стадийности дифференцировок хондробластов и адекватного остеогенеза (рис. 6). Закономерности независимого развития разных отделов тел позвонков и дифференцированная генная регуляция этих зон подтверждают возможность миграции клеток ганглиозной пластинки в один из зачатков формирующихся структурных компонентов позвоночника. Об этом свидетельствует четкая граница между выпуклой и вогнутой сторонами кривизны (рис. 7). Продолженный рост — адекватная пролиферация, дифференцировка и остеогенез на выпуклой стороне кривизны и грубое нарушение функции роста на вогнутой стороне кривизны является причиной асимметрии роста и формирования деформации позвоночника. Патогенетические механизмы деформации позвоночника при нейрофиброматозе и идиопатическом сколиозе отличны, хотя обе патологии являются результатом генетических нарушений роста.

Одной из особенностей сколиоза на фоне нейрофиброматоза является прогрессирование деформации после оперативного вмешательства. Прогрессирование деформаций (модуляцию) следует рассматривать в связи с продолжающейся пролиферативной активностью

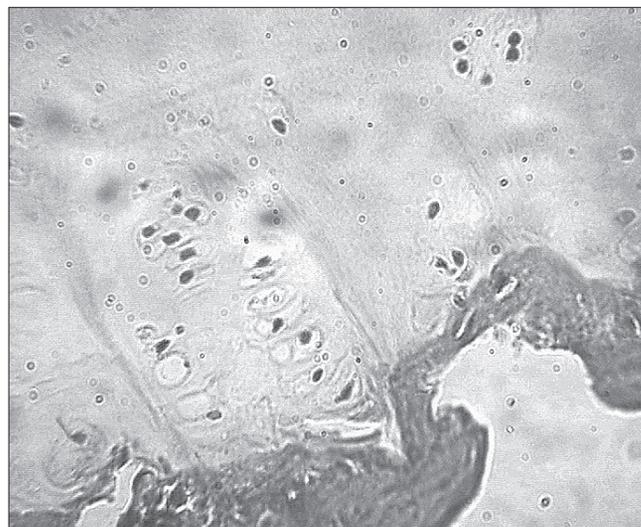


Рис. 7. Граница между вогнутой и выпуклой сторонами деформации. Пластинка роста тела позвонка на высоте деформации. Окраска по Ван Гизону; 10×40

в структурных компонентах позвоночника — межпозвоночном диске, теле позвонка и хрящевой ткани. Патологический процесс при исследуемой патологии распространяется на все структурные компоненты позвоночника, а не только на пластинку роста, как это происходит при идиопатическом сколиозе.

Пролиферацию клеток в теле позвонка, пластинке роста и диске следует рассматривать как бластоматозный процесс. В таком случае прогрессирование деформации позвоночника и ложные суставы после оперативного вмешательства можно объяснить как продолжающейся пролиферацией хондро- и фибробластов в межпозвоночном диске и теле позвонка, так и нарушением остеохондрогенеза, регуляция которых в результате мутации гена NF-1 нарушена.

Заключение

Этиологическим фактором формирования деформации позвоночника при нейрофиброматозе является мутация в клетках ганглиозной пластинки гена NF-1. Миграция клеток, несущих мутантный ген в одну из зон склеротома, приводит к активации онкогена и интенсивной пролиферации хондро-, остео- и фибробластов в ПР, межпозвоночном диске и теле позвонка. В связи с тем, что мутация затрагивает самые ранние стадии эмбриогенеза, становление дефинитивных структурных компонентов позвоночника в патологически измененных зонах нарушается.

Продолженный процесс деформации позвоночника (модуляция) после оперативного вмешательства объясняется пролиферацией хондро- и фибробластов в теле позвонка и межпозвоночном диске и нарушением процесса остеохондрогенеза в результате мутации гена NF-1.

Литература

1. Белоусов Л.В. Введение в общую эмбриологию. — М.: МГУ. — 1980. — 216 с.
2. Кнорре А.Г. Эмбриональный гистогенез. — Л.: Медицина. — 1971. — 431 с.
3. Корочкин Л.И. Взаимодействие генов в развитии. — М.: Наука. — 1977.
4. Aegeer E. The possible relationship of neurofibromatosis, congenital pseudoarthrosis and fibrous dysplasia // *J. Bone. Joint. Surg. [Am]*. — 1950. — V. 32. — P. 618 p.
5. Akbarnia B.A., Gabriel R.R., Beckman E., Chal D. Prevalence of scoliosis in neurofibromatosis // *Spine*. — 1992. V. 17. — P. 244–248.
6. Betz R.R., Iorio Lombardi A.V., Clancy M., Steel H.H. Scoliosis surgery in neurofibromatosis // *Clin. Orthop*. — 1989. V. 245. — P. 53–56.
7. Biesecker L.G. The multifaceted challenges of Proteus syndrome // *JAMA*. — 2001. V. 285. — P. 2240–2243.
8. Bunyatov R. Clinical roentgenographic characteristics of scoliosis in neurofibromatosis // *Pediatrics (USSR)*. — 1983. V. 5. — P. 49–51.
9. Calvert P.T., Edgar M.A., Webb P.J. Scoliosis in neurofibromatosis. Natural history without operation // *J. Bone. Joint. Surg. [Br]*. — 1989. V. 71. — P. 246–251.
10. Cawthon R.M., Weiss R., Xu G.F., Viskochil D., Culver M., Stevens J. et al. A major segment of the neurofibromatosis type 1 gene: cDNA sequence, genomic structure, and point mutations // *Cell*. — 1990. V. 62. — P. 193–201.
11. Chaglassian J.H., Ristborough E.J., Hall J.E. Neurofibromatous scoliosis // *J. Bone. Joint. Surg. [Am]*. — 1976. V. 58. — P. 695–702.
12. Cnossen M.N., de Goede-Bolder A., van den Broek K.M., Waasdorp C.M., Oranje A.P., Stroink H. et al. A prospective 10 years follow up study of patients with neurofibromatosis type 1 // *Arch. Dis. Child*. — 1998. V. 78. — P. 408–412.
13. Crawford A.H. Neurofibromatosis. In: Weinstein SL (ed) // *The pediatric spine: Raven Press*. — NY. — 1994. — P. 619–649.
14. Crawford A.H. Neurofibromatosis. In: Weinstein SL (ed) // *The pediatric spine: principles and practice, 2nd edn. Lippincott Williams & Wilkins*. — Philadelphia. 2001. — P. 471–490.
15. Durrani A., Crawford A.H., Choudhry S.N., Saifuddin A., Morley T.R. Modulation of spinal deformities in patients with neurofibromatosis type 1 // *Spine*. — 2000. — V. 25. — P. 69–75.
16. Flood B.M., Butt W.P., Dickson R.A. Rib penetration of the intervertebral foraminae in neurofibromatosis // *Spine*. — 1986. — V. 11. — P. 172–174.
17. Funasaki H., Winter R.B., Lonstein J.B., Denis F. Pathophysiology of spinal deformities in neurofibromatosis // *J. Bone. Joint. Surg. (Am)*. — 1994. — V. 76. — P. 692–700.
18. Goldberg N.S., Collins F.S. The hunt for the neurofibromatosis gene // *Arch. Dermatol*. — 1991. — V. 124. — P. 1701–1707.
19. Goldberg N.S., Collins F.S. The hunt for the neurofibromatosis gene // *Arch. Dermatol*. — 1991. V. 127. — P. 1705–1709.
20. Kim H.W., Wienstein S.L. Spine update: the management of scoliosis in neurofibromatosis // *Spine*. — 1997. V. 22. — P. 2770–2776.
21. North K. Neurofibromatosis type 1: review of the first 200 patients in an Australian clinic // *J. Child. Neurol*. — 1993. V. 8. — P. 395–402.
22. Sirois J.L., Drennan J.C. Dystrophic spinal deformity in neurofibromatosis // *J. Pediatr. Orthop*. — 1990. V. 10. — P. 522–526.
23. Tsiros A.I., Saifuddin A., Noordeen M.H. Spinal deformity in neurofibromatosis type — 1: diagnosis and treatment // *Eur. Spine. J*. — 2005. — V. 14. — P. 427–439.
24. Vitale M.J., Juha A., Skaggs D.J. Ophthodaedic manifestation of neurofibromatosis in children: update // *Clin. Orthop*. — 2002. V. 401. — P. 107–118.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА И АПОЛИПОПРОТЕИНА E

В.А. КОРНЕВА

Петрозаводский государственный университет

Резюме. Имеется множество исследований, указывающих на то, что в развитии артериальной гипертензии и атеросклероза наследственные факторы могут играть значительную роль. Атеросклероз и артериальная гипертензия являются мультифакториальными заболеваниями. Для изучения таких заболеваний часто используется подход с выделением так называемых генов-кандидатов. Геном-кандидатом называют ген, продукт экспрессии которого (фермент, рецептор, структурный или транспортный белок) может прямо или косвенно участвовать в развитии изучаемой болезни. Целью обзора явилась систематизация сведений о генах-кандидатах, продукты экспрессии которых связаны с развитием сердечно-сосудистых заболеваний. Рассмотрены гены ангиотензин-превращающего фермента, ген аполипопротеина E.

Ключевые слова: ген ангиотензин-превращающего фермента, ApoE ген, аллель, прогноз, молекулярные и генетические маркеры, нестабильная стенокардия, инфаркт миокарда, атеросклероз, гипертрофия левого желудочка.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME AND APOLIPOPROTEIN E GENES POLYMORPHISM

V.A. KORNEVA

Petrozavodsk State University

Summary. Numerous investigations are devoted to the role of hereditary factors in arterial hypertension and atherosclerosis, which are known to be multifactorial. In these investigations the approach with finding of candidate genes is widely used. As the candidate genes are considered the genes, products of which (enzyme, receptor, structural or transport protein) can directly or indirectly participate in pathogenesis of the disease. The aim of the article was to make a systematic review concerning some candidate genes related to the development of cardiovascular diseases: angiotensin-converting enzyme and apolipoprotein E.

Key words: ACE gene, ApoE gene, allele, prognosis, molecular and genetic markers, unstable angina, myocardial infarction, left ventricular hypertrophy.

В России в последние 30 лет отмечается эпидемический рост заболеваемости и высокая смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), которая составляет около 55% общей смертности. Показатели общей смертности от ССЗ в России в 2–4 раза превышают таковые в западноевропейских странах: США, Канаде, Австралии [59]. Атеросклеротическое поражение сосудов занимает главенствующее место среди патогенетических механизмов ИБС. В связи с этим в настоящее время стоит проблема первичной профилактики атеросклероза. В каком возрасте нужно начинать первичную профилактику и кому [8]? Генотип человека не меняется в течение жизни и не подвержен влиянию модифицирующих факторов внешней среды, т. е. анализ ДНК позволяет выявить генетическую предрасположенность к нарушению липидного обмена задолго до проявления клинических признаков атеросклероза. К настоящему времени изучена роль нескольких десятков генов-«виновников» ИБС и атеросклероза [8, 10]. Это гены, кодирующие синтез белков, участвующих в транспорте и метаболизме липидов; контролирующие пролиферацию клеток гладкомышечной ткани кровеносных сосудов

кардиомиоцитов, уровень артериального давления, воспаления и апоптоза.

Ген ангиотензин-превращающего фермента

Одним из основных патогенетических механизмов сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе артериальной гипертензии, ИБС, атеросклероза, является нарушение функции эндотелия. Важнейшим фактором нарушения функции эндотелия является гиперактивность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), которая отвечает за регуляцию тонуса кровеносных сосудов, поддержание водно-солевого гомеостаза, стимулирует пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов и кардиомиоцитов, т. е. РААС напрямую вовлечена в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний, что подтверждается клиническим опытом использования ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента в лечении артериальной гипертензии, сердечной недостаточности, цереброваскулярной патологии [1, 6, 7, 9, 10, 23, 25, 37, 49, 50].

Известно, что ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) гидролизует ангиотензин I в ангиотензин-

II-альдостерон-стимулирующий пептид, и в то же время он инактивирует брадикинин. Повышенный уровень АПФ через продукцию ангиотензина II и брадикинина способствует развитию атеросклероза, тромбоза и супрессирует эндогенную фибринолитическую функцию. Индивидуальные различия уровня фермента в плазме крови на 50% определяются инсерционно-делеционным полиморфизмом по Alu повтору 16 интроне гена АПФ (I/D полиморфизм). У пациентов с делеционным генотипом DD уровень фермента в плазме крови примерно в 2 раза выше, чем у пациентов с генотипом II, а пациенты с генотипом ID имеют промежуточный уровень фермента [51].

Изучение инсерционно-делеционного (I/D) полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) позволило установить связи аллеля D и генотипа DD гена АПФ с предрасположенностью к инфаркту миокарда (ИМ) и летальному исходу, а аллеля I и генотипа ID и II — с более благоприятным течением заболевания [7, 17, 23]. При остром коронарном синдроме у больных с генотипом DD выявлялся значительно меньший временной интервал между первым ангинозным приступом и развитием ИМ, чем у носителей генотипов ID и II гена АПФ [34]. Данные наблюдения делают актуальным анализ взаимосвязей генотипов гена АПФ с клиническим течением ИБС и своевременностью начала лечения ИМ [9].

По данным Малыгиной Н.А. (2009), генотип DD гена АПФ ассоциируется с развитием крупноочагового КФК/КФК-МВ — позитивного инфаркта миокарда. Вероятность развития мелкоочагового ИМ, так же как и нестабильной стенокардии, сопоставима с таковой у больных с ID и II генотипа гена АПФ [8]. При остром коронарном синдроме (ОКС) генотип DD гена АПФ выступает как фактор риска преимущественно в возрасте до 65 лет, при этом вероятность летального события при ОКС у носителей генотипа DD с возрастом меняется незначительно [8].

Ассоциативные связи генотипов, как правило, популяционно-специфические и отражают историю развития популяции, влияние отбора и др.

Ассоциация аллеля D гена ACE с увеличенной массой миокарда левого желудочка (ММЛЖ) была подтверждена в работе N. Iwai и соавт. [34]. В ряде работ [32, 49] было установлено, что индекс массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) у больных артериальной гипертензией с генотипами DD и ID выше, чем у носителей генотипа II. Однако, по данным некоторых авторов [33, 40], не обнаружено ассоциации полиморфного маркера типа I/D гена ACE с гипертрофией левого желудочка (ГЛЖ).

Установлено, что соотношения частот аллелей и генотипов гена АПФ в разных популяциях значительно отличаются. Так, и меньшая частота встречаемости аллеля D и генотипа DD обнаружена на Востоке: в Японии

и в Китае, а наиболее высокие — в странах Западной Европы и США, что коррелирует с распространенностью ИБС и частотой встречаемости факторов риска этого заболевания [56]. Однако, согласно данным ряда молекулярно-генетических исследований, повышение риска ИБС и вероятности ее неблагоприятного течения у носителей генотипа DD не опосредовано такими «классическими» факторами риска заболевания как курение, избыточная масса тела, артериальная гипертензия, гиперхолестеринемия [23]. Поэтому с точки зрения профилактического подхода представляет интерес связь генетических и личностно-поведенческих особенностей, рассматриваемых в качестве психологических факторов риска ИБС [7, 9]. Осуществленный по гену АПФ генотипический дифференцированный анализ психологического портрета больных ИБС показал, что носители генотипа DD достоверно чаще, чем носители генотипов ID и II, имели повышенный уровень общей враждебности (по шкале враждебности Кука и Мэдли) и принадлежали к поведенческому «стресс-коронарному типу А» (по сокращенному тесту Дженкинса). Сочетание повышенной враждебности, выражающейся в негативных отношениях и оценках применительно к окружающим людям и событиям, и признаков поведения типа А (склонность к соперничеству, амбициозность, нетерпеливость и напряженность) также достоверно чаще выявлялось у больных ИБС с генотипом DD [1]. Это может объяснять предрасположенность носителей генотипа DD к развитию ИБС даже при отсутствии у них общепризнанных факторов риска развития атеросклероза. При этом наиболее часто носители генотипа DD встречались в группе пациентов с повторным и осложненным инфарктом миокарда, а у больных с первичным инфарктом миокарда носительство генотипа DD ассоциировано с достоверно большей выраженностью эхокардиографических показателей постинфарктного ремоделирования и нарушения диастолической функции левого желудочка, а также с наличием идиопатической кардиопатии [1, 23, 35].

Показано, что генотип DD ангиотензин-превращающего фермента является потенциальным фактором риска для развития атеросклероза каротидных артерий с формированием гемодинамически значимых стенозов [19], при этом связи генотипа с развитием ишемического инсульта не установлено [15, 18, 21, 25, 43]. Вероятно, это свидетельствует о менее прямолинейной связи атеросклероза мозговых артерий крупного калибра с морфофункциональным состоянием мозга. Мозговой кровоток зависит не только от выраженности атеросклеротического поражения сосудов и степени стеноза. Но в не меньшей степени и от механизмов, предотвращающих развитие ишемии — состояния коллатерального кровообращения, способности мозговых сосудов к расширению, индивидуальной чувствительности ткани мозга к ишемии. Указанные гемодинамические резервы мозга позволяют существовать «бессимптомным» стенозам —

без наличия жалоб и объективных клинических проявлений у пациентов [19].

По данным В.И. Скворцовой и соавт. (2007), распределение генотипов АПФ в популяции практически здоровых москвичей показало увеличение с возрастом частоты выявления аллеля D и генотипа DD. Наибольшая частота наличия генотипа DD наблюдалась у долгожителей (старше 80 лет), не имевших инсультов в анамнезе [15]. Вероятно, процесс формирования атеросклероза сосудов и ишемизация органов и тканей является универсальным компонентом процесса старения организма. Выбор же органа-мишени, наиболее подверженного воздействию ишемического повреждения, а также пути, по которому будет развиваться патологический процесс (острая ишемия или хронические дегенеративные изменения), вероятно, определяется другими факторами [14].

В исследовании REGRESS [5] было показано, что генотип DD ассоциируется с достоверно более высоким риском ишемических эпизодов и более низкой эффективностью правастатина, чем у пациентов с другими генотипами.

Генетический полиморфизм лежит в основе патофизиологии заболеваний и может сказываться на эффективности терапии лекарственными препаратами за счет модификации их метаболизма, всасывания, экскреции, изменения структуры и функции рецепторов, на которые воздействуют лекарства [10, 11].

Лечение артериальной гипертонии снижает риск возникновения ИМ у носителей генотипа DD в большей степени, чем у носителей ID-генотипа гена АПФ. Напротив, у носителей II генотипа гена АПФ, имеющих исходно низкий риск развития ИМ, использование традиционных гипотензивных средств менее эффективно [13].

Гены, кодирующие элементы ренин-ангиотензиновой системы, рассматриваются как основные гены-кандидаты для препаратов из группы иАПФ и блокаторов ангиотензиновых рецепторов. Одним из первых исследований, посвященных изучению фармакогенетических взаимодействий иАПФ, было изучение гипотензивного эффекта внутривенного введения эналаприла в зависимости от генотипа полиморфного маркера I/D гена ACE у здоровых добровольцев. Оказалось, что у лиц с генотипом II реакция на введение эналаприла была наиболее выраженной и максимальной по длительности [60]. Влияние терапии эналаприлом в дозе 5–10 мг/сут на степень гипертрофии миокарда левого желудочка было изучено у 60 больных АГ, не получавших ранее гипотензивной терапии. Оказалось, что наибольшая степень регрессии гипертрофии левого желудочка при лечении эналаприлом была у больных с генотипом DD полиморфного маркера I/D гена ACE [54]. У этих же больных отмечалось улучшение диастолического расслабления левого желудочка. Однако такая закономерность наблюдалась не во всех исследованиях. Так, при исследовании немецкой популяции, в которое были включены

121 больной АГ и 125 здоровых лиц, не было выявлено ни ассоциации полиморфных маркеров I/D гена ACE, ни взаимосвязи с эффективностью терапии каптоприлом [45]. Не было выявлено также зависимости влияния иАПФ на степень гипертрофии левого желудочка у больных АГ от генотипа гена ACE при длительном (в течение 5 лет) наблюдении [52].

При длительной терапии иАПФ наблюдается так называемый «феномен ускользания» альдостерона, когда у части больных отмечается повышение уровня этого нейрогормона. При проспективном наблюдении за 132 больными с сердечной недостаточностью (с фракцией выброса менее 45%) было выявлено, что феномен «ускользания альдостерона» ассоциируется с генотипом DD гена ACE. При этом дозы иАПФ у больных с разными генотипами ACE и разным уровнем альдостерона достоверно не различались [27].

Интересны также данные исследования по изучению фармакогенетических свойств разных иАПФ (каптоприл и лизиноприл), которые сравнивались в двойном слепом перекрестном исследовании у 34 больных с симптоматической сердечной недостаточностью, с выраженной систолической дисфункцией (средняя фракция выброса составила 24%). Оценивалось влияние препаратов на уровень АД и скорость клубочковой фильтрации. Оказалось, что снижение среднего АД при лечении каптоприлом было наиболее значимым у больных с генотипом II гена ACE по сравнению с носителями генотипов ID и DD (соответственно 7,4; 4,7 и 0,5 мм рт. ст.). Влияние лизиноприла на АД у носителей разных генотипов достоверно не различалось. Эффект обоих препаратов по отношению к скорости клубочковой фильтрации также не зависел от генотипа полиморфного маркера типа I/D гена ACE [58].

Показана также взаимосвязь развития сухого кашля при терапии иАПФ и генотипом полиморфного маркера I/D гена ACE. При лечении иАПФ пожилых больных АГ в китайской популяции оказалось, что сухой кашель чаще возникал у больных с генотипом II полиморфного маркера I/D гена ACE. У этих же больных уровень АПФ был наименьшим по сравнению с носителями генотипов I/D и DD [62]. В то же время в американской популяции не было отмечено ассоциации появления сухого кашля при терапии иАПФ с полиморфными маркерами генов ACE, химазы и рецепторов брадикинина второго типа [62]. Генотип II полиморфного маркера I/D гена ACE ассоциировался с достоверно большим снижением диастолического АД при лечении ирбесартаном, для атенолола такой закономерности не было выявлено [38, 39]. Не было выявлено связи регрессии гипертрофии левого желудочка под влиянием терапии ирбесартаном и атенололом с полиморфными маркерами гена ACE [44].

В исследовании, проведенном у 199 больных с сердечной недостаточностью, при длительном наблюдении (около 3 лет) не получено доказательств влияния полиморфного маркера I/D гена ACE на выживаемость этой

группы больных. Эффективность терапии В-адреноблокаторами у данной группы больных также не связана с генотипом гена ACE [29].

Группой авторов [57] было показано, что у белых американцев максимальная эффективность стандартной гипотензивной терапии гидрохлортиазидом связана с разными аллелями гена ACE у мужчин и женщин: среди женщин эффект диуретиков был максимальным у носителей генотипа II, среди мужчин — у носителей генотипа DD.

По данным С.Ю. Никулиной (2002), генотипы ID и DD ассоциируются с развитием атриовентрикулярной блокады, в то время как генотип II — с формированием внутрижелудочковой блокады [12].

Ген аполипопротеина E

Аполипопротеин E является структурным компонентом нескольких видов липопротеинов. Он входит в состав атерогенных триглицерид-богатых липопротеинов (хиломикроны, ЛПОНП и ЛПНП) и в состав липопротеинов высокой плотности.

Человеческий апо-E — генетический полиморфный белок, вовлеченный в транспорт и метаболизм холестерина, состоящий из 299 аминокислот. Описано около 30 вариантов апоЕ [5, 8]. Известны три аллеля гена апо-E, содержащиеся в одиночном гене локуса хромосомы 19, в положении 19q13.2 — ε2, ε3, ε4 — это код трех изоформ аполипопротеина E (E2, E3, E4), которые различаются по аминокислотной замене в остатках 112 и 158 и также детерминируют шесть фенотипов комбинаций двух из них [63]. Норме соответствует аллель ε3 [5]. Частота выявления аллелей гена апо-E во Фремингемском исследовании среди 2457 здоровых субъектов составила: ε2 — 8%, ε3 — 78% и ε4 — 14% [55]. При исследовании распространенности полиморфизма гена апо-E в мире установлено, что аллель ε3 — самый часто встречающийся во всей популяции людей и его частота всегда отрицательно коррелирует с частотой аллеля ε4 [26], который выявляется относительно часто в популяции, где отмечается недоедание.

Форма белка E4 связана с повышенным уровнем общего холестерина и ЛПНП по сравнению с E2 и E3, что в дополнение к повышенной усвояемости в кишечнике лежит в основе хорошо известного гиперхолестеринемического эффекта аллеля ε4, который ассоциируется с высоким риском атеросклероза, инфаркта миокарда и сердечно-сосудистой смертности [28, 30, 58]. Кроме того, апо-E4 в большей степени присутствует в ЛПОНП, а апо-E3 — в ЛПВП [5]. Имея максимальное сродство к апо-E-рецепторам и наибольшую скорость катаболизма, апо-E4-содержащие ЛПОНП быстро переходят в ЛПНП. Есть данные, что ЛПНП-рецепторы имеют большую активность у гомозигот по ε2, а гомозиготы по ε4 — меньшую, чем гомозиготы по ε3 [5]. Этим можно объяснить связь аллеля ε4 с повышенным риском ИБС и более высокими уровнями общего холестерина

и ЛПНП по сравнению с другими формами апо-E. Форма E2, напротив, связана с более низким уровнем ЛПНП, но с повышенным уровнем ТГ [41].

Липопротеины, содержащие апо-E2, уменьшают связывание с ЛПНП-рецепторами; таким образом их уровень в плазме снижается. Это обуславливает низкий внутриклеточный уровень ХС и нерегулярный синтез ГМГ-КОА-редуктазы. Однако повышенный риск сердечно-сосудистой смертности у носителей аллеля ε4 может быть снижен с помощью терапии статинами [31], в этом же исследовании было показано, что пациенты с исходно низким синтезом холестерина являются менее чувствительными к терапии.

Известно, что в восточных популяциях (жители Японии), где население характеризуется низким уровнем холестерина в плазме крови и где значительно ниже частота ИБС, частота аллеля ε4 примерно в два раза ниже, чем в Европе. Напротив, у аборигенов Австралии, где высока частота ИБС, встречаемость аллеля ε4 в два раза выше, чем в Западной Европе [56]. Аллель ε2 гена апо-E встречается достоверно чаще у больных ИБС в возрасте старше 90 лет (долгожителей) по сравнению с более молодыми, что позволяет рассматривать их в качестве маркеров стабильного течения ИБС [6, 8].

Интересны результаты, полученные при изучении ответа на проводимую липидкорректирующую терапию (диета, статины) у лиц с различными аллелями гена апо-E. Установлено, что у носителей аллеля ε2 диета-терапия оказывает значительно меньший эффект. Видимо, для этих больных показана медикаментозная коррекция липидного профиля. Напротив, при наличии аллеля ε4 в генотипе эффективность диетотерапии максимальна: отмечалось значительное снижение уровней триглицеридов и холестерина [8, 21, 33]. Таким образом, аллель ε4 гена апо-E может служить маркером предрасположенности к ИБС [8].

Эти результаты подтверждают также исследования [20], показавшие, что статины могут быть менее эффективными в снижении уровня ХС у индивидуумов с апо-E4, которые могут иметь исходно низкую активность ГМГ-КОА-редуктазы [24, 46, 47, 50]. Снижение уровня общего ХС и ХС ЛПНП было большим у субъектов с аллелем ε2, чем у носителей ε3 и ε4. В некоторых исследованиях не было найдено существенных различий в гиполипидемической терапии статинами между генотипами апо-E [22, 31, 36, 42, 53]. Другие исследования выявили зависимость терапии у мужчин от изоформ апо-E, в то время как у женщин такой связи выявлено не было [24, 48].

По данным Д.В. Демидовой, среди больных с семейной комбинированной гиперлипидемией аллель E2 выявляется в 2,2 раза чаще (различие достоверно), а аллель E4 — в 2,8 раза реже, чем в контрольной группе. У 45,8% пациентов с семейной формой гиперлипидемии (ГЛП) была выявлена аллель E2, в то время как у лиц с ГЛП, не имеющей семейного характера, и в контроль-

ной группе частота носителей аллеля E2 составляла 20 и 24% соответственно. Эти различия обеспечивались в основном за счет значительного увеличения среди больных с семейной комбинированной ГЛП лиц с генотипом E2/E2 и E2/E3 [3].

Таким образом, накопленных сведений о генетической природе сердечно-сосудистых заболеваний в настоящее время недостаточно, некоторые из полученных данных противоречивы. Однако уже сегодня можно сделать вывод, что большая часть мутаций, найденных к настоящему времени, в какой-то степени определяют течение атеросклероза, ишемической болезни сердца и артериальной гипертензии и сроки развития осложнений. Является интересным изучение особенностей действия лекарственных препаратов у пациентов с разными генотипами и изучение распространенности аллельных частот описанных генов в регионах России, имеющих разную частоту встречаемости сердечно-сосудистой патологии.

Список литературы

1. Вершинин А.А., Мелентьев И.А., Малыгина Н.А. и др. Клиническое течение ишемической болезни сердца и постинфарктное ремоделирование у больных с различными генотипами гена ангиотензин-превращающего фермента // Вестник РГМУ. — 2006. — № 3(50). — С. 9–15.
2. Бражник В.А., Горашко Н.М., Минушкина Л.О. и др. Полиморфные маркеры I/D и G7831A гена фермента, превращающего ангиотензин I, и гипертрофия миокарда у больных артериальной гипертензией // Кардиология. — 2003. — № 2. — С. 44–49.
3. Демидова Д.В., Ларионова В.И., Волкова М.В. и др. Анализ влияния структуры генов липопротеиновой липазы, аполипопротеинов С III и E на развитие комбинированной гиперлипидемии // Кардиология. — 2001. — № 8. — С. 17–21.
4. Карпов Р.С., Пузырев К.В., Павлюкова Е.Н. Молекулярно-генетический анализ гипертрофии миокарда левого желудочка // Кардиология. — 2001. — № 6. — С. 25–29.
5. Королева О.С., Затеищikov Д.А., Сидоренко Б.А. Генетические аспекты индивидуальной чувствительности к статинам // Кардиология. — 2005. — № 5. — С. 60–70.
6. Костомарова И.В. Молекулярно-генетические маркеры особенностей течения ишемической болезни сердца и продолжительности жизни больных старших возрастных групп: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — 2002.
7. Малыгина Н.А., Костомарова И.В., Криводубская Т.Ю. и др. Анализ полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента у больных ишемической болезнью сердца и гипертензией // Кардиология. — 2000. — № 4. — С. 19–22.
8. Малыгина Н.А., Костомарова И.В., Мелентьев И.А. и др. Молекулярно-генетические маркеры для прогноза течения ишемической болезни сердца у больных старших возрастных групп // Российский кардиологический журнал. — 2009. — № 4(78). — С. 68–72.
9. Мелентьев И.А., Вершинин А.А., Колесников Е.А. и др. Клиническое течение ишемической болезни сердца, постинфарктное ремоделирование, психологический статус и сроки госпитализации у больных с различными генотипами гена ангиотензин-превращающего фермента // Российский кардиологический журнал. — 2006. № 3 (59). — С. 6–16.
10. Минушкина Л.О., Затеищikov Д.А., Сидоренко Б.А. Генетические аспекты регуляции эндотелиальной функции при артериальной гипертензии // Кардиология. — 2000. — № 3. — С. 68–75.
11. Минушкина Л.О., Затеищikov Д.А., Сидоренко Б.А. Индивидуальная чувствительность к антигипертензивным препаратам: генетические аспекты // Кардиология. — 2005. — № 7. — С. 58–65.
12. Никулина С.Ю., Шульман В.А., Воронникова Ю.В. и др. Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента у больных с нарушением сердечной проводимости // Кардиология. — 2002. — № 11. — С. 44–47.
13. Сайгитов Р.Т. Острый коронарный синдром: клинико-генетические аспекты прогнозирования и профилактики: Автореф. дис. ... д. м. н., 2007.
14. Скворцова В.И., Кольцова Е.А., Константинов Е.В. Клинические формы атеросклероза сосудов мозга // Руководство по атеросклерозу и ишемической болезни сердца / Под ред. Е.И. Чазова, В.В. Кухарчука, С.А. Бойцова. — М.: Материя-медика, 2007. — С. 199–214.
15. Скворцова В.И., Кольцова Е.А., Лимборская С.А. и др. Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента у больных ишемической болезнью мозга // Инсульт. Журн. неврол. и психиатр. Приложение. — 2001. — № 3. — С. 11–15.
16. Чазов Е.И. Ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, атеросклероз. — М., 1992. — 178 с.
17. Шахнович Р.М. Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента и ишемическая болезнь сердца // Кардиология. — 1999. — Т. 39. — № 8. — С. 68–74.
18. Aalto-Setälä K., Palomaki H., Miettinen H. et al. Genetic risk factors and ischaemic cerebrovascular disease: role of common variation of the genes encoding apolipoproteins and angiotensin-converting enzyme // Ann. Med., 1998; 30(2): 224–233.
19. Amant C., Bauters C., Bodart J. et al. D Allele of the angiotensin-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting // Circulation, 1997; 96 (1): 25–8.
20. Ballantyne C.M., Herd J.A., Stein E.A. Apolipoprotein E genotypes and response of plasma lipids and progression—regression of coronary atherosclerosis to lipid-lowering therapy [In Process Citation] // J. Am. Coll. Cardiol. — 2000; 36: 1572–1578.
21. Barley J., Markus H., Brown M., Carter N. Lack of association between angiotensinogen polymorphism (M235T) and cerebrovascular disease and carotid atheroma // J. Hum. Hypertens. — 1995; 9: 681–683.
22. Berglund L., Wiklund O., Eggertsen G. et al. Apolipoprotein E phenotypes in familial hypercholesterolaemia: importance for expression of disease and response to therapy // J. Intern. Med. — 1993; 233: 173–178.
23. Cambien F., Poirier O., Lecerf L. et al. Deletion polymorphism in gene ACE is a potent risk factor of myocardial infarction // Nature. — 1992; 359. — P. 641–644.
24. Carmena R., Roederer G., Mattloux H. et al. The response to lovastatin treatment in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia modulated by apolipoprotein E polymorphism // Metabolism. — 1993; 42: 895–901.
25. Catto A., Carter A., Barrett J. et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and cerebrovascular disease. Stroke. — 1996b; 27: 435–440.
26. Corbo R.M., Scacchi R. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE4 a thrifty allele? // Ann. Hum. Genet., 1999; 63: 301–310.
27. Ciccoira M., Zanolla L., Rossi A. et al. Failure of aldosterone suppression despite angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor administration in chronic heart failure is associated with ACE DD genotype // J. Am. Coll. Cardiol. — 2001; 37: 1808–1812.
28. Davignon J., Gregg R.E., Sing C.F. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis // Arteriosclerosis. — 1988; 8: 1–21.

29. De Groote P., Helbechue N., Lamblin N. et al. Beta-adrenergic receptor blockade and angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism in patients with chronic heart failure // *Eur. J. Heart. Fail.* — 2004; 6: 17–21.
30. Ehnholm C., Lukka M., Kuusi T. et al. Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations // *J. lipid. Res.* — 1986; 27: 227–235.
31. Gerdes L.U., Gerdes C., Kervinen K. et al. The apolipoprotein epsilon 4 allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction: a substudy of the Scandinavian Simvastatin Survival Study // *Circulation.* — 2000; 101: 1366–1371.
32. Ghavari A.G., Lipkowitz M.S., Diamond J.A. et al. Deletion polymorphism of the ACE gene is independently associated with left ventricular mass and geometric remodeling in systemic hypertension // *Am. J. Cardiol.* — 1996; 77: 1315–1319.
33. Gomez-Angelats e., de la Sierra A., Enjuto M. et al. Lack of association between ACE gene polymorphism and left ventricular hypertrophy in essential hypertension // *J. Hum. Hypertens.* — 2000; 14: 47–49.
34. Iwai N., Ohmichi N., Kinoshita M. DD genotype of angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy // *Circulation.* — 1994; 90: 2622–2628.
35. Katsuya T., Koike G., Yee T.W. et al. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease // *Lancet.* — 1995; 345 (8965): 1600–1603.
36. Kniff de P., Stalenhoel A.F., Mol M.J. et al. Influence of apo E polymorphism on the response to simvastatin treatment in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia // *Atherosclerosis.* — 1990; 83: 89–97.
37. Kurland L., Liljedahl U., Karlsson J. et al. Angiotensin gene polymorphisms: relationship to blood pressure response to angiotensin II receptor type I antagonist treatment in hypertensive patients // *J. Hypertens.* — 2001; 19: 10: 1783–1787.
38. Kurland L., Liljedahl U., Karlsson J. et al. Angiotensin gene polymorphisms: relationship to blood pressure response to antihypertensive treatment. *AJH* 2004; 17: 8–13.
39. Kurland L., Melhus H., Karlsson J. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism predicts blood pressure response to angiotensin II receptor type I antagonist treatment in hypertensive patients // *J. hypertens.* — 2001; 19: 1783–1787.
40. Lindpaintner K., Lee M.A., Larson M.G. et al. Absence of association or genetic linkage between the angiotensin converting enzyme gene and left ventricle mass / *Engl. J. Med.* — 1996; 334: 1023–1028.
41. Luc G., Bard J.M., Arveiler D. et al. Impact of apolipoprotein E polymorphism on lipoproteins and risk of myocardial infarction. The ECTIM Study // *Arterioscler. Thromb.* — 1994; 14: 1412–1419.
42. O' Malley J.P., Hlingworth D.R. The influence of apolipoprotein E phenotype on the response to lovastatin therapy in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia // *Metabolism.* — 1990; 39: 150–154.
43. Malik F., Lavie C., Mehra M. et al. Renin-angiotensin system: genes to bedside // *Am. Heart. J.* — 1997; 25: 514–526.
44. Miller J.A., Thai K., Scholey J.W. Angiotensin II type I receptor gene polymorphism predicts response to losartan and angiotensin II // *Kidney. Int.* — 1999; 56: 2173–2180.
45. Mondorf U.F., Russ A., Wiesemann A. et al. Contribution of angiotensin 1 converting enzyme gene polymorphism to blood pressure regulation in essential hypertension // *Am. J. Hypertens.* — 1998; 11: 174–183.
46. Nestel P., Simons L., Barter P. et al. A comparative study of the efficacy of simvastatin and gemfibrosil in combined hyperlipoproteinemia: Prediction of response by baseline lipids, apoE genotype, lipoprotein (a) and insulin // *Atherosclerosis.* — 1997; 129: 231–239.
47. Ojala J.P., Helve E., Ehnholm C. et al. Effect of Apolipoprotein E polymorphism and Xbal polymorphism of apolipoprotein B on response to lovastatin treatment in familial and non-familial hypercholesterolaemia // *J. Intern. Med.* — 1991; 230: 397–405.
48. Pedro-Botel J., Schaefer E.J., Bakker-Arkema R.G. et al. Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in a gender specific manner // *Atherosclerosis.* — 2001; 158: 118–193.
49. Pontremoli M., Sofia A., Tirotta A. et al. The deletion polymorphism of the Angiotensin 1-converting enzyme gene is associated with target organ damage in essential hypertension // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 1996; 7: 2550–2558.
50. Resch K.L., Ernst E., Matrai A., Paulsen H.F. Fibrinogen and viscosity as risk factors for subsequent cardiovascular events in stroke survivors // *Ann. Intern. Med.* — 1988; 19: 634–636.
51. Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. et al. An insertion / deletion polymorphism in the angiotensin 1-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels // *J. Clin. Invest.* — 1990; 86: 1343–1346.
52. Rugale C., du Cailar G., Ribstein J., Mimran A. I/D gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme and left ventricular hypertrophy. Response to converting enzyme inhibitors // *Arch. Mai. Coeur. Vaiss.* — 2003; 96: 772–775.
53. Sanllehy C., Calas E., Rodrigues-Villar C. et al. Lack of interaction of apolipoprotein E phenotype with the lipoprotein response to lovastatin or gemfibrosil in patients with primary hypercholesterolemia // *Metabolism.* — 1998; 47: 560–565.
54. Sasaki M., Oki T., Iuchi A. Relationship between the angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the effects of enalapril on left ventricular hypertrophy and impaired diastolic filling in essential hypertension: M-mode and pulsed Doppler echocardiographic studies // *J. Hypertens.* — 1996; 14: 1403–1408.
55. Schaefer E.L., Lamon-Fava S., Johnson S. et al. Effects of gender and menopausal status on the association of apolipoprotein E phenotype with plasma lipoprotein levels. Results from the Framingham Study // *Atheroscler. Thromb.* — 1994; 14: 1105–1113.
56. Schachter F., Faure-Delanef L., Guenot F. et al. Genetic association with human longevity at the APOE and ACE loci // *Nature Genetic.* — 1994; 6: 29–32.
57. Schwartz G.L., Turner S.T., Chapman A.B. et al. Interacting effects of gender and genotype on blood pressure response to hydrochlorothiazide // *Kidney. Int.* — 2002; 62: 5: 1718–1723.
58. O'Toole L., Stewart M., Padfield P., Channer K. Effect of the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene on response to angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with heart failure // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 1998; 32: 988–994.
59. The World Health report 2003. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2003.
60. Ueda S., Meredith P.A., Morton J.J. et al. ACE (I/D) genotype as a predictor of the magnitude and duration of the response to an ACE inhibitor drug (enalaprilat) in humans // *Circulation.* — 1998; 98: 2148–2153.
61. Utermann G. Apolipoprotein E polymorphism in health and disease // *Am. Heart. J.* — 1987; 113: 2: Pt2: 433–440.
62. Yang S.M., He Q.Y., Miao Y.D. The relationship between polymorphism of angiotensin converting enzyme gene and cough caused by angiotensin converting enzyme inhibitors. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* — 2003; 26: 203–205.
63. Zannis V.I., Just P.W., Breslow J.L. Human apolipoprotein E isoprotein subclasses are genetically determined // *Am. J. Hum. Genet.* 1981; 33: 11–24.

О РОЛИ КОРРЕКТОРСКИХ ЭКЗОНУКЛЕАЗ В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Т.П. КРАВЕЦКАЯ, Н.Л. РОНЖИНА, В.М. КРУТЯКОВ

Отделение молекулярной и радиационной биофизики

Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН

Резюме. Мутации в генах ДНК-полимераз или корректорских 3'→5'-экзонуклеаз приводят к снижению точности биосинтеза ДНК по всему геному. Это сопровождается повышением вероятности мутагенеза и канцерогенеза. В настоящей работе исследованы активности 3'→5'-экзонуклеаз и ДНК-полимераз в экстрактах нормальных и раковых клеток грызунов и человека, впервые измерены их интегральные соотношения с целью выяснения роли корректирующих экзонуклеаз в канцерогенезе. Так, в опытах на клетках, растущих в культуре, обнаружено, что в дермальных фибробластах взрослого человека величина отношения активности 3'→5'-экзонуклеаз к ДНК-полимеразной активности (3'-экзо/пол) в несколько раз превосходит таковую величину для клеток HeLa. Аналогичная картина наблюдается и при сравнении нормальных фибробластов эмбрионов крысы и трансформированных фибробластов китайского хомячка A238. Опыты с экстрактами клеток некоторых органов здоровых крыс разного возраста показали, что в норме пролиферирующим клеткам свойственна более высокая активность 3'→5'-экзонуклеаз и более высокое значение величины 3'-экзо/пол, чем покоящимся клеткам. Сопоставление этих данных позволяет сделать вывод о нарушении функции корректорских 3'→5'-экзонуклеаз в патологически растущих раковых клетках.

Ключевые слова: 3'→5'-экзонуклеазы, ДНК-полимеразы, нормальные и раковые клетки.

ABOUT ROLE OF CORRECTIVE EXONUCLEASES IN CARCINOGENESIS

T.P. KRAVETSKAYA, N.L. RONZHINA, V.M. KRUTYAKOV

Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute RAS, Division of Molecular and Radiation Biophysics

Summary. Mutations in the genes of corrective 3'→5'-exonucleases as well as in DNA polymerases lead to decrease of DNA biosynthesis accuracy all over genome. This is accompanied by the increase of mutagenesis and carcinogenesis probabilities. In this work, the activities of 3'→5'-exonucleases and DNA polymerases are studied in the extracts from normal and cancer cells of rodents and human, and we are the first to measure their integral ratios. As example, in cultivated dermal fibroblasts of an adult human, the value of the ratio of activities of 3'→5'-exonucleases to DNA polymerase activity (3'-exo/pol) surpasses several fold the such a value for HeLa cells. Similar picture is observed during the comparison of normal fibroblasts of rat embryos and transformed fibroblasts of Chinese hamster A238. Experiments with cell-free extracts of some organs from the healthy rats of various age have shown that normal proliferating cells demonstrate higher 3'→5'-exonuclease activity and higher values of 3'-exo/pol than quiescent cells. Comparison of these data allows to come the conclusion about violation of function of the corrective 3'→5'-exonucleases in abnormally growing cancer cells.

Key words: 3'→5'-exonucleases, DNA polymerases, normal and cancer cells.

Принятые сокращения: КЭ — корректорские 3'→5'-экзонуклеазы, 3'-экзо/пол — отношение активности 3'→5'-экзонуклеаз к ДНК-полимеразной активности, ФЛЭЧ — легочные фибробласты эмбрионов человека, MMR (mismatch repair) — система пострепликативной репарации гетеродуплексов.

Эукариотические ДНК-полимеразы, за исключением главной элонгирующей ДНК-полимеразы δ , ДНК-полимеразы ϵ , митохондриальной ДНК-полимеразы γ и специализированных ДНК-полимераз θ и σ , лишены собственной 3'→5'-экзонуклеазной активности [Крутяков, 2006]. Корректорские 3'→5'-экзонуклеазы (КЭ), как связанные, так и не связанные ковалентно с ДНК-полимеразами, часто входят в состав комплексов с другими белками, исправляют ДНК-полимеразные ошибки, которые в отсутствие коррекции могут стать мутациями

при следующем раунде репликации. Мутации в генах, в норме поддерживающих стабильность генома, в частности, в генах ДНК-полимераз и (или) КЭ, нередко приводят к снижению точности биосинтеза ДНК по всему геному («катастрофа ошибок»), и клетка становится мутатором. Такие клетки отличаются повышенной частотой спонтанного и индуцированного мутагенеза по сравнению с клетками дикого типа, и вероятность канцерогенеза увеличивается [Крутяков, 1980; Loeb, 2001; Sarasin, 2003]. В опытах на трансгенных мышах показано, что инактивация корректорской 3'-экзонуклеазной функции ДНК-полимеразы δ приводит к образованию множественных эпителиальных злокачественных опухолей [Goldsby et al., 2002]. В раковых клетках обнаружены формы ДНК-полимеразы β , проявляющие меньшую точность синтеза ДНК по сравнению с ДНК-

полимеразой β дикого типа в 2 раза или более [Dalal et al., 2005; Starcevic et al., 2004; Chan et al., 2006]. Суперпродукция специализированных ДНК-полимераз, склонных к ошибкам [Крутяков, 2006], таких как β , ι , κ , λ , была обнаружена в некоторых опухолях человека [Chan et al., 2006]. КЭ, участвуя в исправлении ошибок ДНК-полимеразного синтеза, могут играть антимутагенную роль [Shevelev, Hubscher, 2002; Крутяков, 2004]. Показано, что КЭ увеличивают до 30 раз точность работы ДНК-полимеразы α [Belyakova et al., 1993], β [Белякова и др., 2007] и δ [Шевелев и др., 2002], входя в состав комплексов с этими полимеразми. Пока не ясна роль активации или инактивации КЭ в канцерогенезе. Сопоставление генетики и энзимологии бактериофага Т4, у которого известны мутаторные и антимутаторные штаммы с увеличением или уменьшением частоты спонтанного мутагенеза на два порядка величины по сравнению с диким типом, и эти признаки картируются в гене ДНК-полимеразы, кодирующем и 3'→5'-экзонуклеазную активность, дало следующие результаты. В антимутаторных штаммах фага Т4 наблюдается повышение в 10–20 раз величины отношения активностей 3'-экзо/пол по сравнению с диким типом, а в мутаторных штаммах, наоборот, понижение на порядок этой величины [Muzyczka et al., 1972].

Задача данного исследования — определить, как изменяется соотношение суммарной активности КЭ (как связанных ковалентно с ДНК-полимеразми, так и не связанных с ними) и суммарной активности ДНК-полимераз в клетках млекопитающих при нормальном и патологическом их росте. В настоящей работе впервые измерена величина 3'-экзо/пол в нормальных и раковых клетках грызунов и человека с целью выяснения роли КЭ в канцерогенезе.

Материал и методика

Клетки HeLa рака шейки матки, трансформированные фибробласты китайского хомячка линии А238, саркомы крысы линии RA235 и нормальные фибробласты эмбрионов крысы предоставлены Р.А. Пантиной (лаборатория клеточной биологии ОМРБ ПИЯФ РАН). Легочные фибробласты эмбрионов человека (ФЛЭЧ) приобретены в ГУ НИИ гриппа РАМН (Санкт-Петербург), дермальные фибробласты взрослого человека — в ООО «Центр клеточных технологий» (Институт цитологии РАН). Использовали белых беспородных крыс разного возраста, а также их эмбрионы (с 10 дней беременности — середина эмбриогенеза). Несколько самок после контакта с самцом рассаживали по отдельным клеткам, используя затем для получения эмбрионов разных сроков и новорожденных крысят, часть которых выращивали до разного возраста (0–120 дней). Вес взрослых крыс 130–160 г. Животных забивали эфирным наркозом. Как правило, в опыт брали не менее трех животных.

Мы намеренно работали с экстрактами целых клеток, а не с отдельными клеточными компартментами и ферментами, чтобы предотвратить неизбежные и неравные потери изучаемого материала при фракционировании клеток.

Получение экстрактов клеток и измерение экзонуклеазной и ДНК-полимеразной активностей описаны ранее [Ронжина и др., 2000]. Ферментативные активности измеряли при 37 °С в параллельных опытах в одинаковом объеме (150 мкл) и с одинаковым количеством экстракта (5, 10 или 20 мкл). Концентрация белка экстракта в пробе составляла 80–160 мкг/мл.

Величину 3'-экзо/пол определяли как отношение количества выщепленных из ДНК нуклеотидов (пмоль) к количеству включенных в ДНК нуклеотидов (пмоль) за соответствующее время.

Результаты и обсуждение

Для всех клеток и тканей мы брали в расчет данные, где наблюдается линейная зависимость от концентрации экстракта в пробе и времени инкубации, т. е. начальная скорость ферментативных реакций. Это дает возможность сравнивать результаты, полученные на разных объектах.

Как видно из таблицы 1, величина 3'-экзо/пол в экстракте нормальных дермальных фибробластов взрослого человека в 4,5 раза выше, чем в экстракте клеточной линии человеческой эпителиальной карциномы HeLa (рак шейки матки). ФЛЭЧ незначительно, всего в 1,5 раза, превышают этот показатель по сравнению с клетками HeLa. Что касается грызунов, то в нормальных фибробластах эмбрионов крысы величина 3'-экзо/пол в 1,8 раза более, чем в клетках саркомы крысы RA235, и в 8,3 раза выше, чем в трансформированных фибробластах китайского хомячка А238. Таким образом, в опытах с клеточными культурами наблюдается достоверное уменьшение величины 3'-экзо/пол в раковых и

Таблица 1

Соотношение 3'→5'-экзонуклеазной и ДНК-полимеразной активностей (3'-экзо/пол) в экстрактах нормальных и раковых клеток грызунов и человека, растущих в культуре

Клетки	3'-экзо/пол
HeLa	13 ± 1
Легочные фибробласты эмбрионов человека	19 ± 4
Дермальные фибробласты взрослого человека	58 ± 4
Трансформированные фибробласты китайского хомячка А 238	7 ± 1
Саркома крысы RA 235	32 ± 2
Нормальные фибробласты эмбрионов крысы	58 ± 6

трансформированных клетках, которые мы исследовали, по сравнению с нормальными клетками.

Кроме того, мы измерили интегральные соотношения 3'-экзо/пол в экстрактах клеток различных органов здоровых взрослых крыс: самца и беременной самки (табл. 2), пол животных не влиял на эти показатели. В быстро пролиферирующих тканях, где идет активная репликация, а именно в селезенке, величина 3'-экзо/пол в 5,8 раза превышает таковую для печени, имеющей потенциальную способность к репликации, и в 15 раз – для сердца и мозга, клетки которых практически не способны к репликации.

Таблица 2

Соотношение 3'→5'-экзонуклеазной и ДНК-полимеразной активностей (3'-экзо/пол) в экстрактах клеток некоторых органов взрослых крыс

Органы	3'-экзо/пол
Печень	13 ± 1
Селезенка	75 ± 7
Сердце	5 ± 2
Головной мозг	5 ± 1

На рисунке 1 представлена удельная 3'→5'-экзонуклеазная активность в бесклеточных экстрактах (цитозоль + ядерный экстракт) некоторых органов крысы в зависимости от возраста. Видно, что примерно в последней трети эмбриогенеза (-7 дней) селезенка, печень,

сердце и головной мозг имеют одинаковые показатели, но уже в последней четверти эмбриогенеза (-4 дня) в селезенке отмечается заметное повышение 3'→5'-экзонуклеазной активности, и она продолжает возрастать по сравнению с таковой активностью в других органах в течение всего срока наблюдения (до 120 дней). В головном мозге эта активность держится на уровне эмбрионов и возрастает у новорожденных и молодых крысят, но к моменту взросления (после 30 дней) значительно снижается.

Таким образом, в норме пролиферирующим тканям свойственна в несколько раз более высокая 3'→5'-экзонуклеазная активность (рис. 1) и более высокое значение величины 3'-экзо/пол (табл. 2), чем покоящимся клеткам. Сравнение данных двух таблиц наводит на мысль о том, что в быстро размножающихся раковых клетках нарушена функция КЭ. Действительно, чем быстрее размножаются клетки (например, селезенки), тем выше 3'→5'-экзонуклеазная активность и, соответственно, величина 3'-экзо/пол в здоровых клетках. Для раковых клеток также характерен быстрый рост, однако величина 3'-экзо/пол существенно ниже. Чем выше репликативный статус клетки, тем быстрее идут обменные процессы, биосинтез ДНК и белка, и возможные неточности ДНК-полимеразного синтеза нуждаются в коррекции. То есть интенсивному росту клеток должен соответствовать определенный уровень величины 3'-экзо/пол.

Возможно, высокое соотношение 3'-экзо/пол в пролиферирующих здоровых тканях обеспечивает нормальную пролиферацию. При патологически бурном росте

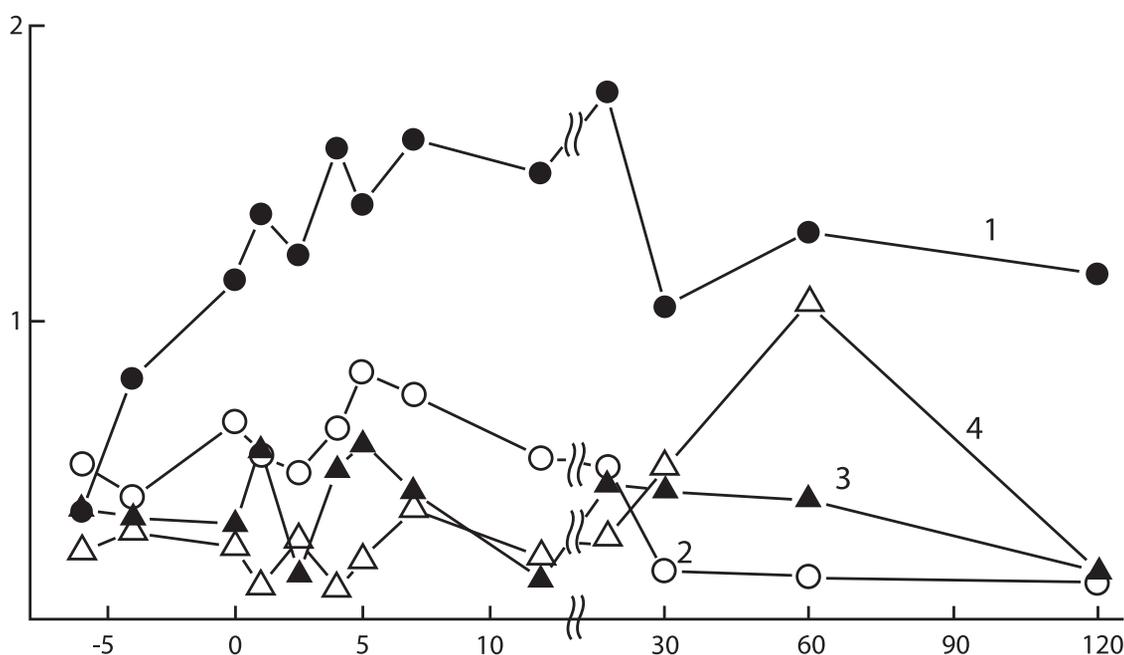


Рис. 1. Удельная активность 3'→5'-экзонуклеазы в экстрактах органов крысы.

По оси абсцисс – возраст крыс, дни; по оси ординат – % выщепления меченых нуклеотидов из одонитивой 3'-[³H]-ДНК за 1 мин/кг белка экстракта; 1 – селезенка; 2 – головной мозг; 3 – сердце; 4 – печень

мутаторных клеток не хватает активности КЭ, что выражается в более низком значении 3'-экзо/пол. Тогда как в нормальных дифференцированных клетках аналогичное значение 3'-экзо/пол может быть достаточным для того, чтобы поддерживать точный синтез ДНК. Если в процессе репликации ДНК ошибка синтеза не удалена КЭ, образуется гетеродуплекс, который затем может быть устранен системой пострепликативной репарации «mismatch repair» (MMR), состоящей из продуктов четырех генов *hMSH2*, *hMSH6*, *hMLH1* и *PMS2*. Мутации в любом гене MMR являются причиной наследственного колоректального рака, дефекты MMR приводят к значительному увеличению уровня спонтанных мутаций в различных организмах от бактерий до человека и обнаружены во многих случаях sporadических раков [Hsieh, Yamane, 2008].

Следовательно, системы пострепликативной репарации MMR и КЭ дополняют друг друга в процессе биосинтеза ДНК в клетках. Под действием различных мутагенных факторов возрастает репаративный синтез ДНК [Крутяков и др., 1985] и вероятность «ошибок» при репликации ДНК увеличивается. Можно предположить, что при канцерогенезе дефекты MMR приводят к тому, что клетки нуждаются в более высоком уровне 3'-экзо/пол и КЭ.

Список литературы

1. Белякова Н.В., Кравецкая Т.П., Легина О.К., Ронжина Н.Л., Шевелев И.В., Крутяков В.М. Комплекс репаративной ДНК-полимеразы β с автономной 3'→5'-экзонуклеазой проявляет повышенную точность синтеза ДНК. — Известия РАН, 2007, серия биол. № 5: 517–523.
2. Крутяков В.М. Надежность синтеза ДНК в связи с проблемами мутагенеза, канцерогенеза и клеточного старения // Повреждения и репарация ДНК. — Пушино, Научный центр биологических исследований АН СССР, 1980. — С. 95–107.
3. Крутяков В.М. Антимутагенная роль автономных 3'→5'-экзонуклеаз // Молекулярная биология, 2004. 38 (5): 823–833.
4. Крутяков В.М. 2006. Эукариотические ДНК-полимеразы, склонные к ошибкам: предполагаемая роль в репликации, репарации и мутагенезе. Молекулярная биология. 40 (1): 3–11.
5. Крутяков В.М., Белякова Н.В., Кравецкая Т.П., Нарыжный С.Н. Ферментативные и структурные механизмы репарации ДНК в выделенном хроматине млекопитающих. — Известия АН СССР, 1985, серия биол. № 4: 562–571.
6. Ронжина Н.Л., Кравецкая Т.П., Крутяков В.М. Ассоциированные с ДНК-полимеразами и автономные 3'→5'-экзонуклеазы позвоночных // Ж. эвол. биохим. и физиол., 2000. 36 (3): 198–201.
7. Шевелев И.В., Белякова Н.В., Кравецкая Т.П., Крутяков В.М. Корректорская роль автономных 3'→5'-экзонуклеаз в составе мультиферментных ДНК-полимеразных комплексов млекопитающих // Молекулярная биология, 2002. 36 (6): 1054–1061.
8. Belyakova N.V., Kleiner N.E., Kravetskaya T.P., Legina O.K., Naryzhny S.N., Perrino F.W., Shevelev I.V., Krutyakov V.M. Proofreading 3'→5'-exonucleases isolated from rat liver nuclei. // Eur. J. Biochem., 1993. 217: 493–500.
9. Chan K. K., ZhanCg Q. M., Dianov G. L. Base excision repair fidelity in normal an cancer cells // Mutagenesis, 2006. 21: 173–178.
10. Dalal S., Hile S., Eckert K. A., Sun K.W., Starcevic D., Sweasy J. B. Prostate-cancer-associated 1260M variant of DNA polymerase β is a sequence-specific mutator // Biochemistry, 2005. 44: 15664–15673.
11. Goldsby R.E., Hays L.E., Chen X., Olmsted E.A., Slayton W.B., Spangrude G.J., Preston B.D. High incidence of epithelial cancers in mice deficient for DNA polymerase δ proofreading // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002. 99: 15560–15565.
12. Hsieh P., Yamane K. DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing // Mech. Ageing Dev., 2008. 129: 391–407.
13. Loeb L. A. A mutator phenotype in cancer // Cancer Res., 2001. 61: 3230–3239.
14. Muzyczka N., Poland R.L., Bessman M.J. Studies of the biochemical bases of spontaneous mutations. I. A comparison of the DNA polymerases of mutator, antimutator and wild type strains of bacteriophage T4 // J. Biol. Chem., 1972. 247: 7116–7122.
15. Sarasin A. An overview of mechanisms of mutagenesis and carcinogenesis // Mutat. Res., 2003. 544: 99–106.
16. Shevelev I. V., Hubscher U. The 3'→5'-exonucleases // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol., 2002. 3: 364–376.
17. Starcevic D., Dalal S., Sweasy J. B. Is there a link between DNA polymerase β and cancer? // Cell Cycle, 2004. 3: 998–1001.

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ CD38/АДФ-РИБОЗИЛЦИКЛАЗЫ И ЦИТОКИНОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

А.Ю. КРАПОШИНА, Е.А. СОБКО, Л.И. КАПТЮК, И.В. ДЕМКО, А.Б. САЛМИНА

Кафедра внутренних болезней № 2 с курсом ПО,
Кафедра биохимии с курсами медицинской, фармакологической и токсикологической химии,
ГОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗиСР РФ

Резюме. В статье оценивается роль CD38/АДФ-рибозилциклазы как маркера воспаления при бронхиальной астме и его взаимосвязь с уровнем цитокинов в сыворотке крови.

Исследовали экспрессию фермента CD38 лимфоцитами периферической крови и его роль в развитии воспалительного процесса при бронхиальной астме тяжелой и средней степени тяжести. Обнаружили увеличение экспрессии CD38 лимфоцитами периферической крови у пациентов с бронхиальной астмой тяжелой и средней степени тяжести в соответствии с группой контроля. Динамика снижения экспрессии CD38 лимфоцитами у больных с бронхиальной астмой при выписке отражает эффективность проведенного лечения.

Независимо от тяжести течения бронхиальной астмы обострение заболевания сопровождается повышением содержания в сыворотке крови ИЛ-6 и ФНО α . На основании наших результатов мы полагаем, что экспрессия CD38 на лимфоцитах периферической крови является объектом регуляции ФНО- α и ИЛ-6 у больных бронхиальной астмой и может рассматриваться в качестве мишени для фармакологического преодоления феномена стероидорезистентности.

Ключевые слова: бронхиальная астма, CD38/АДФ-рибозилциклаза, глюкокортикостероиды, цитокины.

LEVEL OF EXPRESSION CD38/ADP-RIBOSYL CYCLASE AND CYTOKINES IN PERIPHERAL BLOOD IN BRONCHIAL ASTHMA

A.JU. KRAPOSHINA, E.A. SOBKO, L.I. KAPTJUK, I.V. DEMKO, A.B. SALMINA

State educational institution of higher professional education "Krasnoyarsk state
prof. V.F. Voino-Yasenetski medical university, ministry of health care and social development"

Summary. We studied the role of CD38/ADP-ribosyl cyclase as a marker of inflammation in bronchial asthma and its interrelation with level of cytokines in peripheral blood.

We assessed expression of CD38 in peripheral blood lymphocytes and its role in the process of inflammation development in severe and mild bronchial asthma. We found increase in CD38 expression in the peripheral blood lymphocytes in patients with severe and mild bronchial asthma in comparison with the control group. The dynamics of lymphocytes' CD38 expression in patients with bronchial asthma represents the efficiency of the treatment.

Irrespective of the degree of the disease aggravation we identified dramatics elevation of IL-6 and TNF- α in the peripheral blood. On the basis of our results we suggest that CD38 expression in the peripheral blood lymphocytes is an object for regulation by TNF- α and IL-6 in patients with bronchial asthma, and it can be considered as a target for pharmacological overcoming of a phenomenon steroid resistance.

Key words: bronchial asthma, CD38/ADP-ribosyl cyclase, glucocorticoid, cytokines.

Введение

Бронхиальная астма (БА) представляет глобальную проблему здравоохранения. Во всем мире, в том числе и в России, прогрессивно увеличивается число больных, страдающих бронхиальной астмой [1, 2, 7]. По данным крупных исследований, бронхиальной астмой страдает около 8–18% взрослого населения индустриально развитых стран [4, 5, 6, 7]. Ежегодно от астмы умирают 250 тыс. человек, что свидетельствует о недостатке аде-

кватного контроля над этим заболеванием. Недостаточный контроль заболевания приводит к снижению качества жизни, поскольку неконтролируемые симптомы нарушают сон, ограничивают повседневную активность на работе и дома, приводят к необходимости госпитализации.

Основным патогенетическим механизмом при бронхиальной астме является гиперреактивность дыхательных путей. Установлено, что бронхоспазм характери-

зуется увеличенной продукцией циклической аденозиндифосфат-рибозилциклазы (АДФР) в гладкомышечных клетках, фактор некроза опухоли и дексаметазон регулируют экспрессию гена CD38 в гладкомышечных клетках бронхиального дерева, CD38-нокаутные животные демонстрируют редукцию гиперреактивности бронхов в ответ на ИЛ-13 [9, 13], что позволило ряду авторов считать CD38 ответственным за феномен гиперчувствительности бронхов к действию бронхоконстрикторов, регулятором локального иммунного ответа, а также мишенью для фармакологической коррекции бронхиальной астмы [12].

В терапии бронхиальной астмы глюкокортикостероиды (ГКС) оказывают влияние на ранние и поздние патохимические, патофизиологические, иммунологические реакции, действуя на раннюю и позднюю фазу воспаления [3]. Молекулярная основа фармакодинамических свойств ГКС хорошо изучена, однако ответ организма на действие этих препаратов неоднозначен и определяется большим количеством факторов.

Ранее нами было показано, что в лимфоцитах периферической крови экспрессия CD38 увеличивается на пике концентрации ИЛ-6 при системном воспалительном ответе организма. В мононуклеарах периферической крови экспрессия CD38 регулируется (стимулируется) ФНО- α [11], но не ИЛ-4 или ИЛ-10 [10].

В связи с этим мы предположили, что уровень экспрессии CD38 в лимфоцитах периферической крови больных бронхиальной астмой может быть объектом регуляции про- и противовоспалительных цитокинов, синтезируемых в организме в период обострения этого заболевания. Для проверки этой гипотезы мы исследовали уровень некоторых цитокинов — ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 — в периферической крови пациентов с бронхиальной астмой, характеризующейся стероидорезистентностью, и в контрольной группе.

Цель исследования: изучить клиническую характеристику и особенности экспрессии CD38/АДФ-рибозилциклазы в лимфоцитах периферической крови у больных среднетяжелой и тяжелой бронхиальной астмой (БА), а также оценить взаимосвязь уровня экспрессии CD38 и цитокинов сыворотки крови.

Задачи исследования:

- оценить степень выраженности нарушения проходимости дыхательных путей у больных БА среднетяжелого и тяжелого течения в период обострения и ремиссии;
- изучить экспрессию CD38 на лимфоцитах периферической крови больных БА среднетяжелого и тяжелого течения в период обострения и ремиссии;
- изучить содержание ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 в сыворотке крови у больных БА среднетяжелого и тяжелого течения в период обострения и ремиссии.

Научная новизна

Впервые показано, что организация и течение воспалительного процесса при бронхиальной астме характеризуется взаимосвязями между уровнем экспрессии CD38 в лимфоцитах и содержанием в сыворотке крови провоспалительных цитокинов.

Впервые показано, что уровень экспрессии CD38 в лимфоцитах периферической крови может являться маркером, отражающим эффективность проводимой противовоспалительной терапии.

Материалы и методы

В исследование были включены 50 больных персистирующей бронхиальной астмой среднетяжелого и тяжелого течения в возрасте от 23 до 60 лет, средний возраст 47 [34; 53] лет, среди них было мужчин — 11 (22%), женщин — 39 (78%). Средняя длительность заболевания составила 10 [2; 15] лет. В группу контроля вошли 12 практически здоровых человек.

Забор венозной крови производился натощак на 1-е и 14-е сутки госпитализации. Лимфоциты выделяли из цельной гепаринизированной периферической крови на градиенте плотности фиколл-верографин. Детекция CD38+ лимфоцитов периферической крови осуществлялась с использованием мышиных античеловеческих CD38 AT и овечьих антимышиных FITC-меченых AT по стандартному протоколу ИГХ исследования в фиксированных препаратах и регистрацией результатов с помощью люминесцентного микроскопа Люам. Интерлейкины определялись с помощью ИФА с использованием стандартных наборов.

Статистическая обработка результатов проводится с помощью прикладных программ Statistica for Windows, Release 6.0. Использовались непараметрические методы подсчета. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования

В зависимости от степени тяжести БА больные были разделены на 2 группы. В 1-ю группу вошли 26 пациентов со среднетяжелой БА, во 2-ю 24 человека с тяжелой БА, средний возраст составил 42 [32; 53] и 50 [45; 54] лет соответственно (табл. 1). Отмечено, что средняя длительность заболевания была выше у пациентов с тяжелой БА 13 [10,5; 19,5] ($p = 0,000323$).

При поступлении в стационар у всех пациентов степень тяжести обострения расценивалась как тяжелая. Все больные получали СГКС в течение 8–12 дней в дозе 40 мг/сутки по преднизолону. Исследование ФВД проводилось в динамике заболевания (табл. 2). Данные спирограммы свидетельствовали о том, что у больных как 1-й, так и 2-й группы имелись нарушения проходимости дыхательных путей, более выраженные в группе больных с тяжелым течением БА: показатели ОФВ1% и ОФВ1/ФЖЕЛ% были достоверно ниже как показателей контрольной группы, так и показателей больных

Таблица 1

Характеристика больных по полу, возрасту, длительность заболевания в группе среднетяжелой и тяжелой БА

Группа	N, чел	Пол, %		Сред. возраст, лет	Сред. длительность, лет
		Жен.	Муж.		
Среднетяжелая БА	26	76,9	23,1	42 [32; 53]	2 [0,83; 9]
Тяжелая БА	24	79,17	20,83	50 [45; 54]	13 [10,5; 19,5]*

* – $p < 0,05$ между группами среднетяжелой и тяжелой БА.

со среднетяжелым течением БА ($p = 0,000091$, $p = 0,000003$). Обструкция дыхательных путей была обратимой в обеих группах, что подтверждалось пробой с бронходилататором. В процессе лечения отмечалась положительная клиническая и функциональная динамика: показатели ОФВ1% и ОФВ1/ФЖЕЛ% возрастали, однако не достигали показателей контрольной группы. Кроме того, в группе больных с тяжелым течением БА показатель теста Тиффно (ОФВ1/ФЖЕЛ%) был достоверно ниже, чем в группе больных со среднетяжелым течением БА ($p = 0,002112$).

При проведении бодиплетизмографии установлено, что во всех исследуемых группах достоверно повышалось бронхиальное сопротивление выдоха (Rex), уровень которого превышал показатель как контрольной группы ($p = 0,011297$), так и достоверно возрастал с тяжестью течения заболевания ($p = 0,004256$). Во всех анализируемых группах наблюдалось увеличение остаточного объема (RV) – 132,85 [110,5; 169,95] и 176,4 [144,5; 194] в первой и второй группах соответственно, по сравнению со здоровыми 110 [95,9; 118,5] ($p = 0,005837$ и $p = 0,0000001$). По такому показателю, как отношение остаточного объема к общей емкости легких (RV/TLC), нами были получены достоверные различия

в сравнении с контролем во всех анализируемых группах ($p = 0,000038$ и $p = 0,0000001$ соответственно).

Для оценки уровня экспрессии CD38 были отобраны по 19 пациентов со средней и тяжелой бронхиальной астмой в стадии обострения. В контрольную группу вошли 12 человек (табл. 2). Обнаружено, что уровень экспрессии CD38 на лимфоцитах периферической крови в период обострения был достоверно выше по сравнению с контролем (3 на 300 клеток) как в группе среднетяжелой (9 на 300 клеток), так и тяжелой (12 на 300 клеток) БА при поступлении ($p = 0,002353$, $p = 0,001672$ соответственно). В динамике заболевания регистрировалось снижение количества CD38+ клеток как в 1-й группе больных, так и во 2-й группе, но достоверных различий получено не было ($p = 0,211300$ и $p = 0,479500$ соответственно). Уровень экспрессии CD38 на лимфоцитах периферической крови в период ремиссии был выше у пациентов 2-й группы (7 на 300 клеток) по сравнению с показателями 1-й группы (3 на 300 клеток) ($p = 0,174606$). Как в 1-й, так и во 2-й группе в период ремиссии количество CD38+ клеток оставалось повышенным в сравнении с показателями контрольной группы.

Таблица 2

Уровень экспрессии CD38 лимфоцитами периферической крови в зависимости от периода заболевания

Показатель	Группы больных				Контроль	p
	БА сред. тяжести		БА тяжелая			
	Период наблюдения		Период наблюдения			
	обострение	ремиссия	обострение	ремиссия		
	I	II	III	IV		
CD 38 кл	9 [3; 10]	3 [2; 8]	12 [3; 21]	7 [2; 16]	3 [0,5; 3]	$P_{I-II} 0,211300$ $P_{III-IV} 0,479500$ $P_{I-III} 0,144363$ $P_{II-IV} 0,174606$ $P_{I-V} 0,002353$ $P_{II-V} 0,062106$ $P_{III-V} 0,001672$ $P_{IV-V} 0,005137$

Уровень концентрации ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 периферической крови в зависимости от периода заболевания

Показатель	Группы больных				Контроль	P
	БА сред. тяжести		БА тяжелая			
	Период наблюдения		Период наблюдения			
	Обострение	Ремиссия	Обострение	Ремиссия		
	I	II	III	IV		
ФНО- α пкг/л	3,29 [2,53; 4,39]	3,17 [2,36; 4,2]	3,78 [3,07; 6,53]	3,53 [2,79; 4,1]	3,89 [2,5; 4,78]	PI-II 0,168669 PIII-IV 1,000000 PI-III 0,184060 PII-IV 0,474442 PI-V 0,542969 PII-V 0,350938 PIII-V 0,584037 PIV-V 0,871132
ИЛ-2 пкг/л	4,8 [3,5; 6,17]	4,65 [2,8; 7,42]	4,43 [2,38; 6,26]	3,9 [2,7; 6,18]	4,45 [3,6; 5,7]	PI-II 0,656355 PIII-IV 0,646355 PI-III 0,389104 PII-IV 0,815328 PI-V 0,570188 PII-V 0,903168 PIII-V 0,871132 PIV-V 1,000000
ИЛ-4 пкг/л	0,65 [0,49; 0,93]	0,74 [0,4; 1,4]	0,74 [2,3; 1,1]	0,39 [0,2; 1,1]	2,09 [1,4; 2,8]	PI-II 1,000000 PIII-IV 0,331975 PI-III 0,690931 PII-IV 0,021046 PI-V 0,001667 PII-V 0,002184 PIII-V 0,000971 PIV-V 0,000045
ИЛ-6 пкг/л	2,75 [2,01; 3,6]	3,14 [2,6; 4,55]	2,19 [2,01; 2,8]	4,3 [3,3; 7,05]	2,8 [2,4; 3,8]	PI-II 0,358795 PIII-IV 0,005905 PI-III 0,149382 PII-IV 0,064233 PI-V 0,504731 PII-V 0,254093 PIII-V 0,061196 PIV-V 0,020128

Мы предположили, что уровень экспрессии CD38 в лимфоцитах периферической крови больных бронхиальной астмой может быть объектом регуляции про- и противовоспалительных цитокинов, синтезируемых в организме в период обострения этого заболевания. Для проверки этой гипотезы мы исследовали уровень некоторых цитокинов – ФНО- α , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 – в периферической крови пациентов со среднетяжелой и тяжелой бронхиальной астмой и в контрольной группе.

Мы обнаружили, что при рецидиве астмы наблюдается повышение уровня ФНО- α в сыворотке крови у

больных с тяжелым течением заболевания (2-я группа) по сравнению с показателями пациентов со среднетяжелым течением заболевания ($p = 0,184060$). При достижении ремиссии наблюдалась тенденция к снижению концентрации ФНО- α в сыворотке крови у пациентов 2-й группы. Так, в 1-й группе уровень ФНО- α в периферической крови составил 3,29 [2,53; 4,39] и 3,17 [2,36; 4,2] при поступлении и выписке, соответственно, во 2-й группе – 3,78 [3,07; 6,53] и 3,53 [2,79; 4,1] пкг/л соответственно. Достоверных отличий в уровне другого Th1 провоспалительного цитокина – ИЛ-2 – в перифе-

рической крови больных 1 и 2 групп ни при поступлении, ни при выписке отмечено не было (табл. 3). Уровни цитокинов Th2-звена иммунного ответа — ИЛ-4 и ИЛ-6 — иным образом изменялись у больных 1-й и 2-й групп. Так, уровень ИЛ-6 прогрессивно увеличивался в динамике наблюдения за больными (в 4 раза по сравнению с исходными значениями), тогда как уровень ИЛ-4 оставался низким и только значимо отличался от контрольных значений (0,65 [0,49; 0,93], 0,74 [0,39; 1,4], 0,74 [2,3; 1,1], 0,39 [0,21; 1,1] пкг/л в первой и второй группах при поступлении и выписке, соответственно), и в периоде обострения, но не ремиссии заболевания мы зарегистрировали положительную корреляционную взаимосвязь между уровнем экспрессии CD38 и уровнем ИЛ-4 в периферической крови ($r = 0,78$, $p < 0,00001$). При анализе корреляционных взаимосвязей нами также была обнаружена средней степени корреляционная положительная связь между уровнем экспрессии CD38 и концентрацией в периферической крови ИЛ-6 и ФНО- α у больных с тяжелой бронхиальной астмой на пике обострения заболевания ($r = 0,52$, $p < 0,0001$ и $r = 0,36$, $p < 0,03$, соответственно), но не в периоде ремиссии ($r = -0,14$, $p < 0,39$ и $r = -0,31$, $p < 0,05$ соответственно). Таким образом, уровни двух цитокинов периферической крови — ИЛ-4 и ИЛ-6 — значимо изменялись у пациентов с бронхиальной астмой средней и тяжелой степени тяжести.

Обсуждение

По нашим данным, уровень экспрессии CD38 был достоверно выше в группе среднетяжелой и тяжелой астмы в сравнении с контролем, при этом отмечалось снижение количества CD38+ клеток при выписке в обеих группах. Также был обнаружен достоверно более высокий уровень экспрессии CD38 во 2-й группе при сравнении с этим же показателем в 1-й группе, что свидетельствует в пользу ассоциации увеличенной экспрессии CD38 на лимфоцитах периферической крови, и степени тяжести заболевания и прогрессированием феномена резистентности к глюкокортикостероидам.

В динамике заболевания регистрировалось снижение количества CD38+ клеток как в 1-й группе больных, так и во 2-й группе, но достоверных различий получено не было ($p = 0,211300$ и $p = 0,479500$ в 1 и 2 группах соответственно). Уровень экспрессии CD38 на лимфоцитах периферической крови в период ремиссии был выше у пациентов 2-й группы по сравнению с показателями 1-й группы ($p = 0,174606$) и был выше, чем в контрольной группе.

Известно, что продукция Th1-цитокинов, в частности, ФНО- α характеризует, с одной стороны, интенсивность выраженности воспалительного ответа, но одновременно является индикатором запуска протективных механизмов, ограничивающих иммуновоспалительную реакцию, тогда как продукция Th2-цитокинов, в частности, ИЛ-6, характеризует противовоспалительный ответ,

но одновременно свидетельствует о развитии аллергической реакции. При бронхиальной астме именно профиль продукции цитокинов определяет низкую чувствительность к действию ГКС [8].

В целом на основании наших результатов мы полагаем, что экспрессия CD38 на лимфоцитах периферической крови является объектом регуляции ФНО- α и ИЛ-6 у больных бронхиальной астмой и может рассматриваться в качестве мишени для фармакологического преодоления феномена стероидорезистентности.

Выводы

1. Хроническое персистирующее воспаление в дыхательных путях приводит к увеличению сопротивления в дыхательных путях и ограничению потока выдыхаемого воздуха. С тяжестью течения заболевания увеличение сопротивления выдоха возрастает параллельно выраженности нарушений бронхиальной проходимости.
2. Рецидив заболевания характеризовался повышением уровня экспрессии CD38 на лимфоцитах периферической крови независимо от тяжести течения бронхиальной астмы. Улучшение клинико-функциональных параметров происходило однонаправленно со снижением экспрессии CD38 на лимфоцитах периферической крови. Оценка экспрессии CD38 на лимфоцитах периферической крови может использоваться в качестве биомаркера иммуновоспалительного процесса и чувствительности к действию глюкокортикостероидов при бронхиальной астме.
3. Независимо от тяжести течения бронхиальной астмы обострение заболевания сопровождается повышением содержания в сыворотке крови ИЛ-6 и ИЛ-4. Сохранение высокого уровня ИЛ-6 в сыворотке крови больных бронхиальной астмой свидетельствует о сохранении механизмов воспаления и нестабильности достигнутой ремиссии.
4. Уровень экспрессии CD38 в лимфоцитах периферической крови больных бронхиальной астмы является объектом регуляции ИЛ-6 и ИЛ-4 и может рассматриваться в качестве мишени для фармакологического преодоления феномена стероидорезистентности.

Литература

1. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы / Под ред. А.Г. Чучалина. — М.: Атмосфера, 2007. — С. 104.
2. Биличенко Т.Н. Распространенность хронического бронхита и бронхиальной астмы (данные эпидемиологических исследований) // Пульмонология. — 1994. — № 1. — С. 78–83.
3. Трофимов В.И. Глюкокортикоидная зависимость и резистентность // Бронхиальная астма / Под ред. Г.Б. Федосеева. — СПб.: Медицинское информ. агентство, 1996. — С. 161–165.

4. Федосеев Г.Б. Бронхиальная астма / Г.Б. Федосеев, В.И. Трофимов. — СПб.: Нормедиздат, 2006. — 308 с.
5. Чучалин А.Г. Тяжелая бронхиальная астма / А. Г. Чучалин // Рус. мед. журн. — 2000, № 12. — С. 482–486.
6. Шестовицкий В.А., Гринштейн Ю.И., Черкашина И.И. и др. Тяжелые формы бронхиальной астмы, диагностика и лечение // Сиб. мед. обозрение. — 2002, № 1. — С. 15–17.
7. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report / M. Masoli, D. Fabian, S. Holt, R. Beasley // Allergy. — 2004. — V. 59, N 5. — P. 469–478.
8. Ito K. Impact of post-translational modifications of proteins on the inflammatory process // Biochemical Society Transactions. — 2007. — N 35. — P. 281–283.
9. Kang B., Tirumurugaan K. G., Deshpande D.A. et al. Transcriptional regulation of CD38 expression by tumor necrosis factor — in human airway smooth muscle cells: role of NF- κ B and sensitivity to glucocorticoids // FASEB. — 2006. — Vol. 20. — P. 1000–1002.
10. Musso T., Varesio L., Zhang X. et al. IL-4 and IL-13 induce Lsk, a Csk-like tyrosine kinase, in human monocytes // J. of Experimental Medicine. — Vol. 180. — P. 2383–2388.
11. Tirumurugaan K.G., Kang B.N., Panettieri R.A. et al. Regulation of the cd38 promoter in human airway smooth muscle cells by TNF- α and dexamethasone // Respiratory Research. — 2008. — 9:26.
12. Tliba O., Cidlowski J.A. and Amrani Y. CD38 Expression Is Insensitive to Steroid Action in Cells Treated with Tumor Necrosis Factor — and Interferon — by a Mechanism Involving the Up-Regulation of the Glucocorticoid Receptor Isoform // Mol. Pharmacol. — 2006. — Vol. 69. — P. 588–596.
13. Wilson H.L., Dipp M., Thomas J.T. et al. ADP-ribosyl cyclase and cyclic ADP-ribose hydrolase act as redox sensors // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276, N 14. — P. 1180–1188.

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ ТИПА 2 И ДИСПАЗИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

И.С. МАСЛОВА¹, И.А. КУРНИКОВА¹, Т.Е. ЧЕРНЫШОВА², Е.Н. УКРАИНЕЦ¹

¹ Кафедра факультетской терапии с курсом эндокринологии

ГОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Росздрава,

² Кафедра внутренних болезней с курсом поликлинической терапии ФПК

и ПП ГОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Росздрава

Резюме. Для определения влияния дисплазии соединительной ткани (ДСТ) у больных сахарным диабетом (СД) было обследовано 109 больных с СД типа 2. Пациенты были разделены на две группы наблюдения в зависимости от наличия ДСТ, обе группы были сопоставимы по характеристикам течения СД. Продолжительность мониторинга составила 9–15 лет. В исследовании применялись клиническое и инструментальное обследование больных, определение метаболического статуса, оценка состояния психосоциальной сферы. Выявлено, что при СД типа 2 на фоне ДСТ наиболее часто регистрировались нарушения психической сферы, синдром диабетической стопы, аритмии. В группе пациентов с СД и ДСТ чаще наблюдались некомпенсированное течение СД и высокая частота и степень выраженности психоэмоциональных нарушений, у них раньше формировались поздние осложнения диабета.

Ключевые слова: дисплазия соединительной ткани, сахарный диабет типа 2.

TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

I.S. MASLOVA¹, I.A. CURNIKOVA¹, T.E. CHERNYSHOVA², E.N. UCRAINEZ¹

¹ Department of the faculty therapy with the course of endocrinology

State Educational Institution of Higher Professional Education

“Izhevsk state medical academy, Federal Agency of Health care and social development”,

² Department of the internal diseases with the course of polyclinic therapy FPK and PP

State Educational Institution of Higher Professional Education

“Izhevsk state medical academy, Federal Agency of Health care and social development”

Summary. 109 patients with diabetes mellitus (DM) type 2 were examined for determination of the role of the connective tissue dysplasia. The patients were divided into two groups depending on the absence of the connective tissue dysplasia, both groups were comparable on the features of the DM. Length of the monitoring had formed 9–15 years. Clinical and instrumental examination, metabolic status and psychosocial status were used. The patients with DM type 2 and connective tissue dysplasia more often had the disorganization in the psychoemotional sphere, the syndrome of the diabetic foot and the arrhythmia. The patients with DM and connective tissue dysplasia more often had the uncontrolled current DM and high frequency and degree of the psychosocial disorganization; they had earlier formed the late complications of the diabetes.

Key words: connective tissue dysplasia, type 2 diabetes.

Болезни соединительной ткани и их значение в общей патологии в последние годы привлекают все большее внимание клиницистов [7, 5, 10, 11]. Новизна научного направления подчеркивается разнообразием используемой терминологии: соединительнотканная недостаточность [1, 2, 3, 12, 13], дисплазия соединительной ткани (ДСТ), диффузные болезни соединительной ткани и др.

Основные виды соединительной ткани хорошо известны: костная, хрящевая (гиалиновый, эластический и волокнистый хрящ), кровь, лимфа, собственно соединительная ткань (рыхлая волокнистая, плотная волокнистая, ретикулярная), жировая ткань. Функция соединительной ткани определяется строением и физическими свойствами межклеточного вещества, однако наиболее глобальными являются опорная, защитная,

трофическая и участие в обмене веществ. Проявления патологии соединительной ткани могут быть связаны с наследственными особенностями (врожденная дисплазия соединительной ткани — ДСТ) либо приобретенными в процессе жизни, приводя к изменению плотности соединительнотканых структур и нарушению их функции.

Дисплазия соединительной ткани на молекулярном уровне связана как с количественными, так и с качественными изменениями основных ее структур. Основной причиной таких изменений являются мутации генов, кодирующих синтез и пространственную организацию коллагена, ответственных за формирование компонентов экстрацеллюлярного матрикса, а также многочисленных ферментов, принимающих участие во внутри-

внечелочном созревании коллагена и процессах фибриллогенеза [9, 14].

Особое значение имеет изменение структуры соединительной ткани при системной патологии на фоне метаболических нарушений. К числу таких заболеваний относится сахарный диабет 2 типа.

В современном здравоохранении сахарный диабет (СД) является одной из важнейших медицинских и социальных проблем. Это связано с постоянным ростом числа больных, страдающих сахарным диабетом. За последние 10 лет численность больных СД по обращаемости выросла в 2 раза и достигла 2,83 млн человек (по данным Государственного регистра больных с СД на январь 2008 г.).

Данные о распространенности ДСТ в популяции разнятся от 20–25 до 85% [6, 7, 8], что связано с отсутствием единых методических подходов к диагностике НДСТ и различием в технической оснащенности исследователей.

Несмотря на то, что функциональное состояние соединительной ткани при сахарном диабете должно иметь большое значение в патогенезе макро- и микрососудистых осложнений, этот раздел научных исследований находится в стадии разработки. В доступной литературе нам не удалось найти данных о влиянии НДСТ на течение СД типа 2. В 2009 году появились единичные публикации о проявлениях эндотелиальной дисфункции и активации агрегации тромбоцитов при СД типа 1 в сочетании с НДСТ [4].

Целью нашей работы является выявление особенностей течения сахарного диабета типа 2 и психосоматический статус у больных с ДСТ.

Материал и методы. Нами было обследовано 55 пациентов с СД 2 типа с фенотипическими признаками ДСТ (группа наблюдения) и 54 пациента СД типа 2 без признаков ДСТ (группа сравнения) в возрасте от 38 до 60 лет. Средний возраст в первой группе составил $45 \pm 7,8$ лет, во второй группе — $49 \pm 9,2$ лет. Динамика течения СД отслеживалась в течение 15 лет. К моменту начала исследования давность диабета составляла от 0 до 3 лет. Для определения ДСТ использовался алгоритм, предложенный Э.В. Земцовским (2007 г.). Клиническое обследование больных соответствовало требованиям медико-экономических стандартов.

О состоянии автономной регуляции судили по данным спектрального анализа сердечного ритма. Реабилитационные возможности организма оценивались по морфофункциональному индексу — МФИ (патент № 2344751). Высоким реабилитационным возможностям организма соответствовали значения МФИ ≤ 0 , средний уровень функциональных резервов организма отражало значение ≤ 0 МФИ < 1 . При МФИ > 1 имели место неудовлетворительная компенсация СД и низкий уровень реабилитационных возможностей организма. Состояние психосоциальной сферы изучалось с помощью опросника SF-36. Когнитивная функция оцени-

валась по методике Р300, рекомендованной Международной ассоциацией клинических нейрофизиологов в качестве метода выбора при изучении вызванных потенциалов в клинике.

Базовыми методами статистического исследования были: линейная описательная статистика с исчислением плотности нормального распределения с помощью критериев Колмогорова–Смирнова, критерия Стьюдента (t-test). За уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$. Анализ корреляции переменных производился по методу Пирсона при нормальных распределениях и по методу Спирмена (ранговая корреляция) при других типах распределения.

Результаты исследования

В процессе мониторинга в основной группе чаще наблюдалась неудовлетворительная компенсация сахарного диабета ($r = 0,65$; $p < 0,01$), чем в группе сравнения, на 2–3 года раньше формировались поздние осложнения диабета ($r = 0,69$; $p < 0,005$). Достоверные различия в группах регистрировались, начиная с 5-го года мониторинга. Поздние осложнения сахарного диабета при ДСТ наблюдались в среднем в 2 раза чаще, чем в группе сравнения ($r = 0,69$; $p < 0,005$).

У больных сахарным диабетом с проявлениями ДСТ наиболее часто регистрировались: нарушения психической сферы, синдром диабетической стопы, аритмии.

В оценке качества жизни у больных группы наблюдения зарегистрировано опережающее снижение уровня физического функционирования (PF) у больных с давностью СД не более 2 лет. По мере прогрессирования заболевания ролевое (RD) и эмоциональное (RE) функционирование прогрессивно снижалось ($r = 0,47$; $p < 0,05$ и $r = 0,55$; $p < 0,01$). Высокая частота и степень выраженности психоэмоциональных нарушений при ДСТ нашли подтверждение при определении когнитивного потенциала Р300. В группе наблюдения больных зарегистрировано прогрессирующее увеличение латентности по показателю со скачкообразным увеличением процента отклонений ($23 \pm 7,4$; $p < 0,01$). Прогрессирование диабета на фоне ДСТ сопровождалось высокой частотой и степенью выраженности потери пациентом собственной позиции в обществе, когда его поведение во многом зависело от личностей с более высоким эмоциональным потенциалом.

Синдром диабетической стопы в группе наблюдения отмечался в 40,7% случаев, в то время как в группе сравнения в 5,7% ($\chi^2 = 10,736$, $p = 0,001$). Наши исследования подтвердили, что в патогенезе формирования синдрома диабетической стопы у больных СД имеют значение несколько механизмов, характерных и для ДСТ: плоскостопие и гипермобильность суставов и поражение вен.

Диабетическая автономная нейропатия (ДАН) в группе наблюдения регистрировалась в 95% случаев, а в группе сравнения в 18,2% ($\chi^2 = 19,1$, $p < 0,001$). При

сопоставлении симптомов ДАН наиболее значимыми оказались: нарушение терморегуляции (1:0,4), ортостатическая гипотония (1:0,5), липотимические состояния без потери сознания (1:0,08), тахикардия покоя (1:0,03), фиксированный сердечный ритм (1:0,5). Проявлением ДАН на фоне ДСТ было ускоренное (2–3 года) формирование гиперсимпатикотонии и ее жизнеугрожающего проявления — электрической нестабильности миокарда: «фиксированного» сердечного ритма, удлинение и дисперсия QT интервала. Важно, что у больных группы сравнения за первые 5 лет мониторинга степень напряжения регуляторных систем (предиктор гиперсимпатикотонии) коррелировала с компенсацией диабета ($r=0,59$; $p<0,01$) и замедляла скорость прогрессирования поздних осложнений СД. Одна из причин подобного эффекта, по нашему мнению, сохранность адаптационно-трофической функции симпатической нервной системы и ее участия в активации энергетических механизмов поддержания миокардиально-гемодинамического гомеостаза. В дальнейшем, параллельно повышению степени централизации процессов управления, регистрировалось истощение вегетативного звена регуляции, которое в группе наблюдения в 1,7–3,8 раза

опережало динамику показателя в группе сравнения. Происходило резкое снижение уровня функционирования системы в результате истощения регуляторных систем и ухудшение реабилитационных показателей. Значительное ограничение реабилитационных возможностей пациентов подтверждалось $MFI>1$. В группе сравнения активность центральных гуморально-метаболических процессов регуляции сердечного ритма (уменьшение VLF) была ниже, равно как и напряжение адаптационных механизмов ($MFI = 0,54 \pm 0,1$).

Выводы

1. Дисплазия соединительной ткани оказывает отрицательное влияние на течение и прогноз СД типа 2, вызывает раннее истощение регуляторных механизмов, уменьшение реабилитационных возможностей и психологической дезадаптации.

2. ДСТ, являясь самостоятельным фактором риска таких состояний, как аритмии сердца, клапанная дисфункция, вегетативная дисфункция, в сочетании с СД типа 2 приводит к гиперсимпатикотонии, электрической нестабильности миокарда и удлинению интервала PQ, увеличивая риск внезапной смерти.

Литература

1. Алексеев А.А., Ларионова И.С., Дудина Н.А. ВРАЧИ — ЗАЛОЖНИКИ СМЕРТИ (Почему врачи умирают на 10–20 лет раньше своих пациентов). — М., 2000.
2. Алексеев А.А. Стресс и гормональный дисбаланс в соединительной ткани — норма жизни и смерти? www.genmir.ru
3. Алексеев А.А. «Соединительнотканное» артериальное давление и другие физиологические параметры тела человека — важнейшие тесты оценки психического и физического здоровья. www.genmir.ru
4. Гладких Н.Н., Ягода А.В. Состояние эндотелия и агрегация тромбоцитов у больных с впервые выявленным сахарным диабетом 1-го типа и недифференцированной дисплазией соединительной ткани // Клиническая медицина, 2009. — № 5.
5. Гусева Н.Г., Иванова М.М., Сигидин Я.А. Диффузные болезни соединительной ткани. — М.: Медицина, 2004.
6. Евсеева М.Е. Дисплазия соединительной ткани и дисрегуляция артериального давления. — Ставрополь, 2006.
7. Земцовский Э.В. Диспластические фенотипы. Диспластическое сердце: Аналитический обзор. — СПб: Ольга, 2007.
8. Клеменов А.В., Алексеева О.П. Течение и исходы беременности у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани // Русский Медицинский Журнал, 2006. — № 1.
9. Кадурина Т.Н. Поражение сердечно-сосудистой системы у детей с различными вариантами наследственных болезней соединительной ткани // Вести аритмологии, 2000. — № 3.
10. Лысов А.В., Нечаева Г.И., Васнева С.А., Викторов С.И. Дисплазия соединительной ткани в практике врача-фтизиатра // Центрально-Азиатский медицинский журнал. — 2003. Т.IX, № 1. — С. 102.
11. Лысов А.В., Нечаева Г.И., Васнева С.А. Особенности течения туберкулеза легких, ассоциированного с дисплазией соединительной ткани // Резюме доклада на 13 национальный конгресс по болезням органов дыхания. — СПб., 2003.
12. Нечаева Г.И., Викторова И.А., Друк И.В. Бронхиальная астма, ассоциированная с наследственной дисплазией соединительной ткани: особенности клинических проявлений и течения // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья, 2003. — № 6. — С. 26–30.
13. Нечаева Г.И., Викторова И.А., Шлычков А.В., Акимов М.А., Викторов С.И. Течение язвенной болезни на фоне дисплазии соединительной ткани // Охрана здоровья тружеников Обь-Иртышского бассейна на рубеже веков: достижения, проблемы, перспективы. — Омск, 2001. — С. 82–84.
14. Cohen L., Bittermann H., Grenadier E. et al. Idiopathic magnesium deficiency in mitral valve prolapse // Amer. J. Cardiol., 1986; 57(6): 486–7.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА ПО ПОЛИМОРФНЫМ МАРКЕРАМ ГЕНОВ АПОПТОЗА И СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

Т.Р. НАСИБУЛЛИН¹, И.А. ТУКТАРОВА¹, А.М. ВАСИЛЬЕВА¹, Е.М. ГРАХОВСКАЯ¹,
И.М. КАРАМОВА¹, О.Е. МУСТАФИНА²

¹ Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа

² ГУЗ Республиканский кардиологический диспансер, Уфа

Резюме. Проведен сравнительный анализ частот генотипов и аллелей полиморфных маркеров 2592+58T>A (rs4648110) гена ядерного фактора капта В1 (NFKB1), -877C>T (rs481736) гена каспазы 1 (CASP1), 33L>P (rs5918) гена β3 субъединицы интегрина (ITGB3) и -455G>A гена β цепи фибриногена (FGB) в группе больных, перенесших инфаркт миокарда (ИМ N=216), и контрольной группе (N=158). У больных ИМ в сравнении с контрольной группой наблюдали статистически значимые повышения частот генотипов T/A гена NFKB1 (P=0,008), T/T гена CASP1 (P=0,046), L/P гена ITGB3 (P=0,028) и A/A гена FGB (P=0,002), кроме того отмечено снижение доли генотипов T/T гена NFKB1 (P=0,001), L/L гена ITGB3 (P=0,028) и G/G гена FGB (P=0,001). Логистический регрессионный анализ показал, что полиморфные маркеры генов NFKB1, ITGB3 и FGB вносят существенный вклад в формирование наследственной предрасположенности к ИМ у татар.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, апоптоз, гемостаз, генетический полиморфизм.

MOLECULAR GENETIC INVESTIGATION IN MYOCARDIAL INFARCTION: POLYMORPHIC MARKERS OF APOPTOSIS AND HEMOSTASIS SYSTEME GENES

T.R. NASIBULLIN¹, I.A. TUKTAROVA¹, A.M. VASILEVA¹, E.M. GRAHOVSKAYA¹,
I.M. KARAMOVA¹, O.E. MUSTAFINA²

¹ Institution of Russian Science Academy Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa

² State Institution of Health Care Republican cardiology clinic, Ufa

Summary. The groups of patients with myocardial infarction (MI, N=216) and healthy individuals (N=158) from Tatars populations (Bashkortostan) were examined for 2592+58T>A (rs4648110) polymorphism gene NFKB1, -877C>T (rs481736) gene CASP1, 33L>P (rs5918) gene ITGB3, -455G>A (rs800790) gene FGB. Our investigation showed that in MI patients frequencies of genotypes T/A of NFKB1 gene, T/T of CASP1 gene, L/P of ITGB3 gene, A/A of FGB gene were significantly higher than control group (P=0.008, P=0.046, P=0.028, P=0.002 respectively), whereas the proportion of T/T of NFKB1 gene (P=0.001), L/L of ITGB3 gene (P=0.028), G/G of FGB gene (P=0.001) was lower. Logistic regression showed that polymorphisms 2592+58T>A of NFKB1 gene, 33L>P (rs5918) of ITGB3 gene, -455G>A (rs800790) of FGB gene may be beneficial in assessment of the genetic risk MI.

Key words: myocardial infarction, apoptosis, haemostasis, genetic polymorphism.

Инфаркт миокарда (ИМ) остается одной из наиболее частых причин инвалидизации и смертности населения большинства развитых стран мира. В связи с этим актуальной задачей геномики является разработка новых подходов ранней диагностики и выявления предрасположенности к данной патологии. Одним из таких подходов является анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов-кандидатов с ИМ. При этом выбор генов основывается на функциональной значимости кодируемых ими белков в этиопатогенезе изучаемого заболевания.

Цель настоящего исследования состояла в анализе ассоциаций полиморфных маркеров 2592+58T>A гена NFKB1, -877C>T гена CASP1, 33L>P гена ITGB3 и -455G>A гена FGB с ИМ.

Ядерный фактор капта В (NFKB) — универсальный фактор транскрипции, играет важную роль в регуляции экспрессии более 200 генов, к числу которых относятся

гены цитокинов, молекул клеточной адгезии [8], матриксных протеаз [4]. Показана роль NFKB в регуляции экспрессии генов апоптоза [2, 10]. Ген NFKB1 контролирует синтез двух белков семейства NFKB — p50 и p105, причем p50 не является продуктом p105, а образуется в результате посттрансляционной модификации с участием протеасомы 26S, что обеспечивает сбалансированный синтез и независимую функцию белков p50 и p105 [12]. Белок p105 является ингибитором специфической Rel-белковой транскрипции, тогда как p50 образует комплекс с белком p65. Указанный комплекс является активатором транскрипции, в то время как гомодимеры p50/p50 способны подавлять экспрессию генов-мишеней, что позволяет клетке тонко регулировать экспрессию своих генов [5].

Каспаза 1 (CASP1) — цистеиновая протеаза относится к группе каспаз, обеспечивающих процессинг

Локализация, последовательности праймеров и номенклатура аллелей полиморфных маркеров генов-кандидатов ИМ

Ген, хромосомная локализация	Полиморфизм (локализация)	Праймеры (рестриктаза)	Аллели (размер фрагментов, п. о.)
NFKB1 4q24	2592+58T > A rs4648110 (интрон 22)	F 5'-aaa cac tta tgg aca act atg agg-3' R 5'-agt taa gga aaa ggg aag gag att-3' (BseNI)	T (118) A (86, 32)
Casp1 11q22.3	-877C > T rs481736 (промотор)	F 5'-gag cca ccc acc cat cct g-3' R 5'-aaa taa tct gca aat aat cat cct-3' (TaqI)	C (85, 253) T (338)
FGB 4q32.1	-455A > G rs800790 (промотор)	F 5'-agg gtc ttt ctg atg tgt att-3' R 5'-atg tgt atc ttg ttt ctg gta a-3' (HaeIII)	A (311) G (188, 123)
ITGB3 17q21.32	33L > P rs5918 (экзон 2)	F 5'-tgg cct caa gca gtc ct-3' R 5'-tgt ctc cag agc cct tgt c-3' (MspI)	L (230) P (230, 132)

провоспалительных цитокинов, в частности, CASP1 участвует в процессе активации интерлейкина 1 β . Кроме того, показана роль CASP1 в процессах FAS индуцированного апоптоза [7].

Ген ITGB3 контролирует синтез $\beta 3$ субъединицы интегрин. Интегрин $\alpha \text{IIb} \beta 3$ является основным рецептором, взаимодействующим с факторами свертывания (фибриноген, фактор Виллебранда) [9]. Кроме того, интегрин, обладая способностью связываться со специфическими белками экстрацеллюлярного матрикса, являются участниками каскада передачи сигнала, задерживающего апоптоз. Разрыв же связи рецептор—лиганд, наоборот, генерирует сигнал, индуцирующий апоптоз [16].

Ген FGB кодирует β -цепь фибриногена. Образование β -цепи фибриногена является скоростью-лимитирующей стадией в процессе синтеза зрелого белка [19]. Фибриноген — это один из основных факторов, обуславливающих вязкость плазмы крови. При повреждении кровеносных сосудов фибриноген переходит в фибрин — основной компонент тромбов. Фибрин взаимодействует с тромбоцитами, способствуя их агрегации, что является первым этапом тромбообразования, также он участвует в активации фибринолитической системы, является матрицей, на которой происходит активация плазминогена [1].

Материалы и методы

Группу больных составили 216 мужчин, перенесших ИМ, в возрасте от 26 до 55 лет, не родственников между собой. Из группы больных были исключены больные с эндокринной патологией, с заболеваниями крови, лица с выраженной хронической патологией легких. Все больные обследованы на базе Республиканского кардиологического диспансера (г. Уфа).

Контрольную группу составили 158 практически здоровых мужчин, в возрасте от 27 до 60 лет, не родственников между собой. Все участники исследования были татарами по этнической принадлежности.

ДНК из лимфоцитов периферической крови выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ полиморфизма осуществлялся методом полимеразной цепной реакции; последовательности праймеров, использованные эндонуклеазы, размеры полученных фрагментов и номенклатура аллелей представлены в таблице 1. Продукты расщепления разделяли с помощью электрофореза в 7% полиакриламидном или 2% агарозном гелях.

Сравнительный анализ распределения частот генотипов и аллелей проводили с помощью точного двухстороннего критерия Фишера. Логистический регрессионный анализ проводили с помощью программы SPSS 13.0.

Результаты и обсуждение

Результаты сравнительного анализа изученных полиморфных маркеров в группе больных и контрольной группе представлены в таблице 2. Среди больных с ИМ в отличие от контрольной группы статистически значимо повышены частоты генотипов T/A гена NFKB1 (P=0,008), T/T гена CASP1 (P=0,046), L/P гена ITGB3 (P=0,028) и A/A гена FGB (P=0,002), кроме того, отмечено снижение доли генотипов T/T гена NFKB1 (P=0,001), L/L гена ITGB3 (P=0,028) и G/G гена FGB (P=0,001).

Для изучения совместного влияния изучаемых полиморфных маркеров на развитие ИМ было использовано уравнение множественной логистической регрессии. Использовался алгоритм пошагового включения переменных в уравнения регрессии. В таблице 3 представле-

Таблица 2

Частоты встречаемости генотипов и аллелей генов апоптоза и системы гемостаза в группе больных с инфарктом миокарда и контрольной группе

			Контроль		Больные		P
			Численность	Частота (%)	Численность	Частота (%)	
NFKB1	Генотип	ТТ	110	73,33	130	60,19 ± 3,33	0,01
		ТА	34	22,67 ± 3,42	78	36,11 ± 3,27	0,008
		АА	6	4	8	3,7	1
	Аллель	Т	254	84,67	338	78,24	0,035
		А	46	15,33	94	21,76	0,035
CASP1	Генотип	ТТ	3	1,96	14	6,48	0,046
		ТС	49	32,03	73	33,8	0,738
		СС	101	66,01	129	59,72	0,232
	Аллель	Т	55	17,97	101	23,38	0,082
		С	251	82,03	331	76,62	0,082
ITGB3	Генотип	LL	134	84,81	158	73,83	0,011
		LP	24	15,19	53	24,77	0,028
		PP	0	—	3	1,4	0,265
	Аллель	L	292	92,41	369	86,21	0,009
		P	24	7,59	59	13,79	0,009
FGB	Генотип	AA	6	3,9	28	13,73	0,002
		AG	39	25,32	67	32,84	0,13
		GG	109	70,78	109	53,43	0,001
	Аллель	A	51	16,56	123	30,15	P<0,001
		G	257	83,44	285	69,85	P<0,001

Таблица 3

Коэффициенты множественной логистической регрессии и статистическая оценка

Маркер		B	OR (expB)	P
NFKB1	ТТ	-0,033	0,968	0,04
	ТА	0,559	1,749	
	АА	-0,526	0,591	
ITGB3	LL	-0,333	0,717	0,02
	LP+PP	0,333	1,395	
FGB	AA	0,882	2,416	0,002
	AG	-0,184	0,832	
	GG	-0,698	0,498	

ны результаты регрессионного анализа по трем полиморфным маркерам. Полиморфизм -877C>T гена CASP1 не был включен в уравнение регрессии, поскольку уровень значимости этой переменной составил 0,234.

В исследовании по анализу ассоциаций полиморфных маркеров гена NFKB1 с различными заболеваниями

наиболее часто используется полиморфный маркер - 94(4)I/D, локализованный в промоторной области гена. Так, выявлена связь данного маркера с различными новообразованиями [11, 20], кардиомиопатией [21], показана связь с функциональным состоянием эндотелия [6]. Эти данные вместе с полученными нами резуль-

татами дают основание предположить, что полиморфные маркеры гена NFKB1 могут вносить значительный вклад в формирование наследственной предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям.

В проспективном исследовании Blankenberg с соавт. показана связь полиморфного маркера 943+34G>T (rs505901), расположенного в 6 интроне гена CASP1, со смертью от ИМ в течение 6 лет для лиц с атеросклерозом коронарных артерий, в этом же исследовании выявлена связь данного маркера с уровнем экспрессии гена CASP1 [3].

Анализ полиморфизма 33L>P гена ITGB3 показал, что полученные нами результаты схожи с результатами, описанными в работе Weiss с соавт., где выявлено повышение аллеля P среди лиц, перенесших ИМ, или лиц с нестабильной стенокардией старше 60 лет [14]. В другом исследовании показано, что у носителей аллеля P более высокий уровень тромбина в области микрососудистого повреждения, а также у них нарушена чувствительность к антикоагулянтам (аспирину) [18].

Среди нескольких полиморфных маркеров гена FGB маркер -455G>A наиболее изучен с точки зрения прогностической значимости. Установлено, что наличие аллеля A определяет более высокий уровень его транскрипции, что приводит к повышенному уровню фибриногена в крови и увеличивает вероятность образования тромбов [17, 15]. Также в ряде исследований продемонстрировано, что носительство генотипа A/A связано с повышенной частотой сердечно-сосудистых осложнений [13, 15].

Таким образом, результаты нашего исследования показывают, что полиморфные маркеры 2592+58T>A гена NFKB1, 33L>P гена ITGB3 и -455G>A гена FGB вносят значительный вклад в формирование наследственной предрасположенности к ИМ, что же касается -877C>T полиморфизма гена CASP1, то его роль в формировании наследственной предрасположенности требует дополнительных исследований.

Список литературы

1. Балуда В.П., Балуда М. В., Деянов И.И., Тепшуков И.К. Физиология системы гемостаза. — М., 1995. — С. 19–35.
2. Beg A.A., Baltimore D. An essential role of NF- κ B in preventing TNF- α induced cell death // *Science*, 1996; 274: 787–789.
3. Blankenberg S., Godefroy T., Poirier O. et al. Haplotypes of the caspase-1 gene, plasma caspase-1 levels, and cardiovascular risk // *Circ. Res.*, 2006; 99: 102–108.
4. Breuss J.M., Cejna M., Bergmeister H. et al. Activation of nuclear factor- κ B significantly contributes to lumen loss in a rabbit iliac artery balloon angioplasty model // *Circulation*, 2002; 105: 633–638.
5. Grossmann M., O'Reilly L., Gugasyan R. et al. The anti-apoptotic activities of Rel and RelA required during B-cell maturation involve the regulation of Bcl-2 expression // *The EMBO Journal*, 2000; 19(23): 6351–6360.

6. Park J.-Y., Farrance I.K.G., Fenty N.M. et al. NFKB1 promoter variation implicates shear-induced NOS3 gene expression and endothelial function in prehypertensives and stage I hypertensives // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2007; 293: H2320–H2327.

7. Kuida K., Lippke J.A., Ku G. et al. Altered cytokine export and apoptosis in mice deficient in interleukin-1-beta converting enzyme // *Science*, 1995; 267: 2000–2003.

8. Landry D.B., Couper L.L., Bryant S.R., Lindner V. Activation of the NF κ B and I κ B system in smooth muscle cells after rat arterial injury. Induction of vascular cell adhesion molecule-1 and monocyte chemoattractant protein-1 // *Am. J. Pathol.*, 1997; 151: 1085–1095.

9. Lefkovits J., Plow E.F., Topol E.J. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine // *New Eng. J. Med.*, 1995; 332: 1553–1559.

10. Legembre P., Barnhart B.C., Peter M.E. The relevance of NF- κ B for CD95 signaling in tumor cells // *Cell Cycle*, 2004; 3: 87–91.

11. Lewander A., Butchi A.K., Gao J. et al. Polymorphism in the promoter region of the NFKB1 gene increases the risk of sporadic colorectal cancer in Swedish but not in Chinese populations // *Scand. J. Gastroenterol.*, 2007; 42(11): 1332–1338.

12. Lin L., DeMartino G.N., Greene W.C. Cotranslational biogenesis of NF- κ B p50 by the 26S proteasome // *Cell*, 1998; 92: 819–828.

13. Martiskainen M., Pohjasvaara T., Mikkelsen J. et al. Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke // *Stroke*, 2003; 34(4): 886–891.

14. Michelson A.D., Furman M.I., Goldschmidt-Clermont P. et al. Platelet GP IIIa PlA polymorphisms display different sensitivities to agonists // *Circulation*, 2000; 101: 1013–1018.

15. Siegerink B., Rosendaal F.R., Algra A. Genetic variation in fibrinogen; its relationship to fibrinogen levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2009; 7: 385–390.

16. Stupack D.G., Puente X.S., Boutsabouloy S. et al. Apoptosis of adherent cells by recruitment of caspase-8 to unligated integrins // *J. Cell Biol.*, 2001; 155(3): 459–470.

17. Tybjaerg-Hansen A., Agerholm-Larsen B., Humphries S.E. et al. A common mutation (G(-455)-to-A) in the beta-fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischemic heart disease: a study of 9,127 individuals based on the Copenhagen City Heart Study // *J. Clin. Invest.*, 1997; 99: 3034–3039.

18. Undas A., Brummel K., Musial J. et al. Pl(A2) polymorphism of beta-3 integrins is associated with enhanced thrombin generation and impaired antithrombotic action of aspirin at the site of microvascular injury // *Circulation*, 2001; 104: 2666–2672.

19. van 't Hooft F.M., von Bahr S.J., Silveira A. et al. Two common, functional polymorphisms in the promoter region of the beta-fibrinogen gene contribute to regulation of plasma fibrinogen concentration // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19(12): 3063–3070.

20. Zhang P., Wei Q., Li X. et al. A functional insertion/deletion polymorphism in the promoter region of the NFKB1 gene increases susceptibility for prostate cancer // *Cancer Genet. Cytogenet.*, 2009; 191(2): 73–77.

21. Zhou B., Rao L., Peng Y. et al. Functional polymorphism of the NFKB1 gene promoter is related to the risk of dilated cardiomyopathy // *BMC Med. Genet.*, 2009; 31: 10: 47.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ КАРДИОМИОПАТИЙ

В.Г. ПИНЕЛИС, Н.А. БЕРЕЗНЕВА, А.Ю. АСАНОВ

НЦЗД РАМ, г. Москва

MOLECULAR GENETIC MECHANISMS OF HEREDITARY CARDIOMYOPATHIES

V.G. PINELIS, N.A. BERESNEVA, A.JU. ASANOV

Scientific center of children health Russian Academy of Science, Moscow

Заболевания сердечно-сосудистой системы являются наиболее частой причиной заболеваемости и смертности во всем мире. Постоянное накопление информации о патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы привело к пониманию того, насколько значительную роль в их развитии играют генетические факторы. Сегодня практически не осталось болезней, в формировании которых не было бы установлено наследственной компоненты. Наиболее частые заболевания — ишемическая болезнь сердца (ИБС), атеросклероз и артериальная гипертензия (АГ) — являются мультифакторными. В формирование клинического фенотипа при этих заболеваниях приблизительно равный вклад вносят наследственность и среда. Для каждого заболевания существует достаточно большое число генов, различные аллельные формы которых влияют на вероятность развития заболевания, скорость прогрессирования и выраженность клинических симптомов. Как правило, генами предрасположенности являются те гены, белковые продукты которых прямо или косвенно вовлечены в патогенез заболевания. Наряду с мультифакторными существует большое количество моногенных заболеваний, для развития которых достаточно наличия мутации в одном гене. В настоящее время описано около 2,5 тысяч моногенных наследственных синдромов, при которых наблюдается вовлечение в патологический процесс сердца и/или сосудов. Известно около сотни наследственных заболеваний, при которых поражения сердца и сосудов являются ведущими в клинической картине (табл. 1). Даже из общей структуры таких классических мультифакторных заболеваний, как ИБС и АГ, вычлняется все большее число моногенных форм, которые наследуются по менделевскому типу.

В последнее время представления об этиологии многих заболеваний сердечно-сосудистой системы претерпели значительную эволюцию. В особенно большой степени это касается состояний, для которых не было получено убедительных данных, однозначно свидетельствующих в пользу инфекционных и/или воспалительных процессов, лежащих в их основе. Как правило, эти заболевания описывались как «идиопатические». Быстрое развитие современных генетических методов позволило во многих случаях решить вопрос о наследственной

природе заболевания, установить первичный биохимический дефект, разработать ДНК-диагностику, искать подходы к этиологической терапии.

Кардиомиопатии представляют собой группу гетерогенных заболеваний миокарда, характеризующихся структурными изменениями миокарда и сопровождающихся различными нарушениями сердечной деятельности: от длительно текущих бессимптомных форм до серьезных проявлений, таких как прогрессирующая сердечная недостаточность, разнообразные аритмии и кардиогенная внезапная смерть (КВС). Все виды кардиомиопатий классифицируются как первичные и вторичные кардиомиопатии. Вторичные кардиомиопатии являются следствием хронической ишемии миокарда, артериальной гипертензии, метаболических нарушений. Диагноз первичных кардиомиопатий основан на исключении вторичных кардиомиопатий и включает несколько различных клинических подтипов [15, 71]. Выделяют четыре основных фенотипических класса кардиомиопатий: гипертрофическую (ГКМП), дилатационную (ДКМП), аритмогенную правожелудочковую и рестриктивную [27, 30, 42]. Исследования последних лет установили роль генетических факторов в развитии данных заболеваний. Идентифицировано большое количество мутаций в генах, кодирующих белки сложной сети миофиламентов и ассоциированных с ними белков, в комплексе образующих цитоскелет кардиомиоцита. Белки цитоскелета могут быть разделены на 3 группы.

Сократительный цитоскелет, генерирующий мышечное сокращение, состоящий из высокоспециализированного комплекса тонких и толстых актиновых волокон и связанных с ними белков, таких, как тропониновый, тропомиозиновый комплексы. Упорядоченные повторяющиеся тропониновые единицы формируют поперечную исчерченность миофибрилл.

Внутрисаркомерный цитоскелет, содержащий титин-, а-актинин, миозин-связывающий С-белок и другие белки, которые удерживают миофиламенты и их саркомерные единицы и регулируют перемещения миофиламентов во время каждого сократительного цикла.

Внесаркомерный цитоскелет, состоящий из десмина и содержащих ламин промежуточных филаментов. Эти структуры обеспечивают связь между соседними мио-

Примеры наследственных моногенных заболеваний сердечно-сосудистой системы

Заболевание	ТН	Ген/локус
Семейная гиперхолестеринемия	А/Д, А/Р	LDLR (19p13.2), ARH (1p36-p35), USF1 (1q22-q23)
Псевдогипоальдостеронизм	А/Д, А/Р	WNK1 (17q21), WNK4 (12p13.3), PHA2A (1q31-q42)
Синдром удлиненного интервала QT	А/Д, А/Р	KCNQ1 (11p15.5), KCNH2 (7q3), SCN5A (3p21-24), ANKB (4q25-27), KCNE1 (21q22), KCNE2 (21q22), KCNJ2 (17q23)
Синдром укороченного интервала QT	А/Д	KCNQ1 (11p15.5), KCNH2 (7q3)
Синдром Бругада	А/Д	SCN5A (3p21-24), 3p22-25
Аритмогенная правожелудочковая дисплазия/кардиомиопатия	А/Д, А/Р	14q23-q24, hRyR2 (1q42-q43), 14q12-q22, 2q32.1-q32.3, 3p23, 10p12-p14, DSP (6p24)
Катехоламинергическая желудочковая тахикардия	А/Д, А/Р	hRyR2 (1q42-q43), CASQ2 (1p13-21)-
Семейные формы ФП	А/Д	KCNQ1 (11p15.5)
Семейные формы CCCU	А/Д	SCN5A (3p21-24)
Синдром Вольфа-Паркинсона-Уайта	А/Д	PRAK2 (7q3)
Гипертрофическая кардиомиопатия	А/Д	MYHCB (14q12), TNNT2 (1q32), TPM1 (15q22.1), MYBPC3 (11p11.2), PRKAG2 (7q36), TNNI3 (19q13.4), MYL3 (3p), TTN (2q24.3)
Дилатационная кардиомиопатия	А/Д, А/Р, Х/Р	Более 20 локусов

Здесь и далее ТН – тип наследования, А/Д – аутосомно-доминантный, А/Р – аутосомно-рецессивный, Х/Р – Х-сцепленный рецессивный, ФП – фибрилляция предсердий, CCCU – синдром слабости синусового узла.

фибриллами и структурами ядерной оболочки. Эта сеть включает в себя также субсаркомерные белки, обеспечивающие связь между периферическими миофибриллами с сарколеммой и внеклеточным матриксом. К ним относят белок дистрофии и ассоциированные с ним гликопротеины, связывающие саркомер с внеклеточным матриксом посредством ламинина. Внесаркомерный цитоскелет также содержит связанный с внеклеточным матриксом комплекс, содержащий белки талин, винкулин, интегрины.

Мутации в генах, кодирующих собственно сократительные белки миокарда и белки внутрисаркомерного цитоскелета, являются причиной ГКМП.

Гипертрофическая кардиомиопатия является одним из самых распространенных наследственных заболеваний сердечно-сосудистой системы. Она характеризуется гипертрофией стенок левого желудочка без расширения его полости, усилением систолической и нарушением диастолической функции. В подавляющем большинстве случаев этого заболевания гипертрофия бывает асимметричной с явным преобладанием утолщения межжелудочковой перегородки по сравнению со свободными стенками левого желудочка [6, 42, 50]. Клинические проявления ГКМП связаны с наличием коронарной недостаточности, патологией вегетативной регуляции кровообращения, нарушением электрофизиологических процессов в сердце [10]. У больных с ГКМП часто регистрируются разнообразные нарушения ритма и проводимости: мерцательная аритмия, желудочковые, не-

редко злокачественные, жизнеугрожающие тахикардии. Наряду с длительным стабильным состоянием, ГКМП может осложниться острой и хронической сердечной недостаточностью, жизнеопасными расстройствами сердечного ритма, внезапной смертью [51, 67]. В последнее время отмечается рост числа зарегистрированных случаев ГКМП, как за счет внедрения в практику современных методов диагностики, так и, вероятно, в связи с истинным увеличением числа больных [2]. Оценки распространенности ГКМП варьируют от 1:500 до 1:5000 в зависимости от популяции [50]. При ГКМП наблюдаются гипертрофия миокарда, дезорганизация миоцитов и фиброз. Эти нарушения приводят к широкому спектру функциональных нарушений, которые включают ишемию миокарда, диастолическую дисфункцию, обструкцию выносящего тракта левого желудочка, клинически значимые аритмии и, у ряда пациентов, КВС. Чаще всего КВС наступает в молодом возрасте (до 30 лет), зачастую у пациентов с минимальной выраженностью собственно гипертрофических процессов. Источником жизнеугрожающих состояний, как правило, являются нарушения ритма разной локализации. Основным типом наследования ГКМП является аутосомно-доминантный [40, 42, 66]. Оставшуюся часть составляют спорадические случаи заболевания. Считается, что большинство, если не все случаи спорадической ГКМП, также имеют генетическую причину, то есть вызваны случайными мутациями. На данный момент идентифицировано, по крайней мере, 13 генов (табл. 2), мутации

Гены, ответственные за развитие гипертрофической кардиомиопатии

ГКМП	Локус	Ген	Белок
ГКМП 1	14q12	MYH7	Тяжелая цепь β -миозина
ГКМП 2	1q32	TNNT2	Сердечный тропонин Т
ГКМП 3	15q22.1	TPM1	α -тропомиозин
ГКМП 4	11p11.2	MYBPC3	Миозин-связанный С-белок
ГКМП 5	15q11	ACTC	Сердечный α -актин
ГКМП 6 с WPW	7q36	PRKAG2	δ 2-регулярная субъединица АМФ – активир. протеинкиназы
ГКМП 7	19p13.2	TNNI3	Тропонин I
ГКМП 8	3p21.3	MYL3	Легкая цепь основного миозина
ГКМП 9	12q23-q24.3	MYL2	Легкая цепь регуляторного миозина
ГКМП10	2q24.1	TTN	Титин
ГКМП 11	14q1	MYH6	Легкая цепь α -миозина
ГКМП 12	3p21.3-14.3	TNNC1	Сердечный тропонин С
ГКМП 13	Мутации митохондриальной ДНК		

которых могут приводить к развитию ГКМП [7, 15, 27, 42, 48, 62]. Идентифицированы около 150 мутаций в этих генах, при этом, как правило, в неродственных семьях молекулярно-генетические повреждения различны. К ним относятся гены β -миозина, миозин-связывающего белка С, сердечного тропонина Т, сердечного тропонина С, сердечного тропонина I, α -тропомиозина, легких цепей миозина (основных и регуляторных), сердечного α -актина, тайтина, а также протеинкиназы А (γ -субъединицы) и гена калиевых потенциал-зависимых каналов. Более четверти всех случаев ГКМП обусловлено мутациями в гене MYH7, кодирующем тяжелую цепь β -миозина. На долю мутаций в генах TNNT2 и MYBPC3 приходится по 15% случаев ГКМП. Остальные типы кардиомиопатии встречаются более редко. Кроме того, описаны семьи с ГКМП, в которых исключено сцепление со всеми известными локусами заболевания. Большинство описываемых генов кодируют сократительные белки кардиомиоцитов или белки, входящие в структуру толстых и тонких филаментов. Данные об этих молекулярных дефектах позволяют в настоящее время рассматривать ГКМП как «болезнь саркомера» [5, 70].

Тяжелые цепи миозина являются основным компонентом толстых филаментов миофибрилл в поперечно-полосатой мускулатуре. В организме человека существуют две изоформы тяжелых цепей миозина – α и β . α -изоформа в высокой степени экспрессируется в миокарде предсердий, тогда как β -миозин является основным сократительным белком, экспрессирующимся в миокарде желудочков [66, 67]. Мутация гена β -миозина была первой, описанной в качестве причины развития ГКМП в 1990 году. В настоящее время выявлено более

50 мутаций данного гена. Ген тяжелой цепи β -миозина картирован в хромосоме 14q11.2–q12 и состоит из 43 экзонов, 38 из которых являются кодирующими. Почти все мутации гена являются мисенс-мутациями [31] и локализованы в пределах первых 23 экзонов, кодирующих миозиновую головку и область перехода от головки к хвосту. В большинстве случаев ГКМП мутации гена β -миозина связаны с высокой пенетрантностью, выраженной гипертрофией левого желудочка и высоким риском внезапной смерти [48]. В организме человека экспрессируется три формы миозинсвязывающего белка С (МСБС) – две скелетные и одна кардиальная. Этот белок играет роль в формировании саркомеров миофибрилл, связываясь с миозином и тайтином, и регулирует сокращения посредством фосфорилирования [77]. Ген МСБС локализуется на 11 хромосоме (11p11) и состоит из 35 экзонов [20]. Описано более 30 мутаций этого гена. Большинство из них являются мутациями сплайсинга или мутациями типа вставка/делеция. ГКМП, возникающие вследствие мутаций гена МСБС, в большинстве случаев поздно манифестируют и протекают относительно доброкачественно.

Тропонин Т (ТрТ) связывается с тропомиозином и отвечает за положение тропонинового комплекса на тонких нитях филамента. Ген тропонина Т располагается на хромосоме 1q32 [65] и состоит из 17 экзонов. Несмотря на большое количество мутаций и их различный механизм, большинство случаев ГКМП, связанных с ТрТ, имеют сходную клиническую картину. Ее особенностями является незначительно выраженная гипертрофия левого желудочка, сочетающаяся с высоким риском внезапной смерти [74]. Тропонин I (ТрI) является одним

из компонентов тропонин-тропомиозинового комплекса и отвечает за Ca^{2+} -чувствительное ингибирование актин-миозинового взаимодействия. Он является ключевым звеном, обеспечивающим связь между изменениями внутриклеточной концентрации ионов кальция и процессом сокращения. Ген сердечного тропонина I располагается на 19 хромосоме (19p 13.2–q 13/4). Описано 8 его мутаций, приводящих к развитию ГКМП [26]. В зависимости от мутации ингибиторного региона молекулы или дистальной ее части, наблюдается различная клиническая картина заболевания: развитие диастолической дисфункции или изолированная верхушечная гипертрофия миокарда [17]. Тропонин C (ТрС) существует в виде двух изоформ, которые экспрессируются в сердечной и скелетной мускулатуре. Ионы Ca^{2+} , связанные с сердечным ТрС, вызывают конформационные изменения в тропонин-тропомиозиновом комплексе, что приводит к мышечным сокращениям. При ГКМП описана одна миссенс-мутация гена тропонина C [36]. α -тропомиозин входит в состав тропомиозинового комплекса и способствует ингибированию актин-миозинового взаимодействия при низкой концентрации кальция в цитоплазме. Ген α -тропомиозина располагается на длинном плече 15 хромосомы (15q22) и состоит из 15 экзонов [27]. Клиническими особенностями ГКМП на фоне мутаций данного гена являются умеренная степень гипертрофии и раннее развитие диастолической дисфункции.

Основные и регуляторные легкие цепи миозина принимают участие в формировании толстых филаментов. Ген основной субъединицы легкой цепи миозина картирован в хромосоме 3p21 и состоит из 7 экзонов. Ген регуляторной субъединицы картирован в хромосоме 12q 23–q 24 и включает 7 экзонов. Все описанные к настоящему времени мутации являются структурными и встречаются довольно редко [62]. Они проявляются массивной гипертрофией папиллярных мышц и прилегающих участков миокарда, что сопровождается явлениями обструкции выходного тракта левого желудочка [61]. Актин является компонентом структуры саркомера, входя в состав тонких филаментов, и белком цитоскелета. Ген сердечной формы актина локализован на длинном плече 15 хромосомы (15q 14) и состоит из 6 экзонов [56]. Патология актина является редкой причиной развития ГКМП и, как правило, не характеризуется наличием синдрома внезапной смерти. Тайтин обеспечивает структурную целостность саркомера и стабилизацию толстых филаментов. Полная последовательность гена тайтина и его аминокислотный состав были расшифрованы только в 2001 году. Ген тайтина расположен на длинном плече второй хромосомы (2q31) и состоит из 363 экзонов, кодирующих белок длиной в 27 000 аминокислот. К настоящему моменту отсутствуют данные об особенностях клинического течения ГКМП на фоне мутаций гена тайтина, что обусловлено малым количеством случаев заболевания [62].

В рамках исследования EUROGENE Heart Failure Project был проведен скрининговый анализ и идентификация мутаций всех известных на данный момент генов, связанных с развитием ГКМП [62]. Исключение составлял ген тайтина, что было связано с большим размером данного гена. В работе было исследовано 197 не родственных случаев ГКМП. В результате в 63% случаев мутации вышперечисленных генов были идентифицированы в качестве причины заболевания. Наиболее частыми из них являлись мутации миозин-связывающего белка C и β -миозина (42 и 40% соответственно). Таким образом, данные, полученные в этой работе, свидетельствуют о том, что около 40% всех генетических причин, приводящих к развитию ГКМП, до сих пор являются не изученными. Их идентификация является одной из главных задач современной молекулярной кардиологии и может в дальнейшем привести к появлению новых диагностических и терапевтических алгоритмов в лечении заболевания [7].

Степень выраженности проявлений ГКМП широко варьирует даже у лиц с одним и тем же типом молекулярных дефектов сократительных белков миокарда. Внутри одной семьи, члены которой несут идентичные мутационные повреждения сократительных белков, клиническая картина и течение заболевания могут сильно отличаться (Magian A.J., 2000). В этой связи в основе развития клинической гетерогенности ГКМП можно рассматривать две возможные причины: влияние факторов внешней среды или генетических детерминант [5, 6]. Такие кандидатные гены рассматриваются как гены-модификаторы [46, 47]. Они определяют клинический полиморфизм заболевания, в основе которого лежит мутация конкретного участка ДНК (эффект главных генов) [4]. Среди возможных генов-кандидатов, оказывающих влияние на степень выраженности патологического процесса, в настоящее время ведущая роль отводится генам ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Именно эта система определяет водно-солевой гомеостаз организма, оказывая тем самым прямое влияние на физиологию сердечно-сосудистой системы. С другой стороны, один из ее основных компонентов — ангиотензин II, являясь мощным вазоконстриктором, обладает также строгим митогенным эффектом для кардиомиоцитов и гладкомышечных клеток сосудистой стенки, вызывая гипертрофию миокарда независимо от гемодинамических и нейрогуморальных эффектов [5, 6, 8, 9].

Одним из наиболее изученных компонентов РААС является ангиотензин-превращающий фермент. АПФ превращает ангиотензин I в ангиотензин II и конвертирует брадикинин в кинины. Синтез АПФ осуществляется во многих тканях [73], в том числе и в сердечной ткани, как в предсердиях, так и в желудочках [1]. Содержание АПФ в плазме крови и тканях варьирует у разных индивидуумов. Ген АПФ картирован на хромосоме 17q23. Полиморфизм гена АПФ определяется при-

сутствием или отсутствием (делеция/вставка — *D/I*) фрагмента 287 пары нуклеотидов в 16 интроне. Этот полиморфизм влияет на степень экспрессии гена. Установлено, что у лиц с *DD*-генотипом уровень АПФ в 2 раза выше, чем у обладателей *ID*- и *II*-генотипа [37]. Выявлено, что аллель *D* и особенно *DD*-генотип гена АПФ являются важными генетическими факторами риска сердечно-сосудистых поражений в различных популяциях и ассоциируются именно с повышенным уровнем циркулирующего АПФ и АТ II, тогда как *I* аллель и особенно *II* генотип являются протективными факторами [3]. По данным многих работ, полиморфизм гена АПФ связан с повышенным риском острой коронарной недостаточности, внезапной смертью, инфарктом миокарда в молодом возрасте [18, 23, 68]. Изучение влияния *DD*-полиморфизма гена АПФ на фенотипическую экспрессию гипертрофии у больных ГКМП выявило, что степень гипертрофии левого желудочка значительно выше у лиц с генотипом *DD* по сравнению с *ID* и *II* ($p < 0,05-0,005$) [11, 44]. У 26 пациентов с ГКМП из одной семьи левожелудочковая гипертрофия была выше у обладателей именно *DD*-генотипа [44]. Исследования *ID*-полиморфизма гена АПФ при ГКМП носят противоречивый характер. Примерно одинаковое количество работ подтверждают и опровергают взаимосвязь *ID*-полиморфизма с гипертрофией левого желудочка при ГКМП [4, 32, 78]. Неоднородность подобных результатов, по всей видимости, связана с популяционными и этническими особенностями частоты распределения генотипов у данной категории больных [4].

Ангиотензиноген (АТГ) является субстратом и предшественником ангиотензина I.

Ген ангиотензиногена локализован на 1-й хромосоме (1q 42–43) и включает пять экзонов и четыре интрона. На данный момент известно около 15 различных точечных мутаций в гене АТГ. Описаны два основных полиморфных маркера этого гена, приводящих к замене метионина на треонин (*M235T*) в структуре ангиотензиногена и треонина на метионин в 174 (*T174M*) позиции [32]. Эти замены аминокислот являются результатом замены нуклеотидов в позициях +704 и +521 соответственно от начала транскрипции. Однако эти полиморфные маркеры не располагаются в непосредственной близости от места деления ангиотензиногена, в результате которого под влиянием ренина он превращается в ангиотензин I. Возможно, они не являются функциональными. Замена нуклеотидов гуанина аденином в регионе промотора гена АТГ в позиции –6 от места начала транскрипции приводит к появлению функциональной мутации [33]. В результате этого увеличивается транскрипция гена и повышается уровень ангиотензиногена. Полиморфизм *G-6A* находится в тесной неустойчивой связи с полиморфизмом *M235T* гена ангиотензиногена [1].

Не существует единого мнения при оценке связи между полиморфными вариантами гена АТГ и гипер-

трофией левого желудочка. Одни авторы выявили связь *M235T* полиморфизма с этим процессом [37, 38], другие ассоциацию полиморфизма *M235T* и *T174M* с массой миокарда левого желудочка не обнаруживали [28, 45]. Р.И. Туракулов [13] продемонстрировал связь *T174M* аллеля и генотипа *MM* с артериальной гипертензией, инфарктом миокарда и ГКМП в московской популяции. Исследование связи *T174M* полиморфизма и ГКМП в сибирской популяции не выявило [4]. Большинство исследователей отвергают наличие связи между полиморфизмами (*T174M* и *M235T*) гена АТГ и гипертрофией левого желудочка. Однако практически всегда выявляются ассоциации с показателями АД и уровнем ангиотензиногена в плазме крови. По-видимому, молекулярно-генетическая детерминация уровня АТГ в плазме крови ключевым образом не влияет на развитие гипертрофии, а сам АТГ не оказывает существенного прямого пролиферативного влияния на гладкомышечную ткань [4].

В результате активации рецепторов ангиотензина II первого типа (АТ₁-рецепторов) реализуются такие эффекты ангиотензина II, как вазоконстрикция и стимуляция роста кардиомиоцитов. Ген АТ₁ R расположен на хромосоме 3q22 [24]. Описано 16 его полиморфных состояний, из которых наиболее хорошо охарактеризована мутация в положении 1166, приводящая к замене аденина на цитозин (*A1166C*). Обнаружена ассоциация *C*-аллеля с артериальной гипертензией, инфарктом миокарда и гипертрофией левого желудочка [14, 68]. Другие авторы подобные закономерности отрицают; так, [35, 58] обнаружили корреляцию *C*-аллеля гена рецептора АТ₁ 1-го типа с индексом массы миокарда и толщиной межжелудочковой перегородки у больных с ГКМП, что соответствует данным по московской популяции [14]. Носители *CC*-генотипа характеризуются достоверно более высоким индексом массы левого желудочка в сравнении с другими генотипами гена рецептора. Однако в Японии у больных с ГКМП и гипертонической гипертрофией миокарда подобных закономерностей не наблюдалось [38, 42]. Таким образом, полученные данные о влиянии ДНК-полиморфизмов гена рецептора АТ₁ на степень гипертрофии левого желудочка при гипертрофической кардиомиопатии носят противоречивый характер и, по всей видимости, также связаны с популяционными и этническими особенностями.

Ангиотензин II также стимулирует рецепторы ангиотензина II второго типа (АТ₂-рецепторы). Хотя содержание рецепторов ангиотензина II 2-го типа в сердце колеблется при различных патологических состояниях [52, 73, 74], большинство из их эффектов до сих пор не изучено. Исследования на животных показывают, что стимуляция АТ₂-рецепторов противостоит активации АТ₁-рецепторов и включает вазодилатацию и уменьшение пролиферации кардиомиоцитов [19, 59]. Ген рецептора ангиотензина II 2-го типа локализован на хромосоме X. Полиморфизм гена связан с заменой адени-

Гены, ответственные за развитие дилатационной кардиомиопатии

Ген/локус	Белок	Тип наследования
1q21.2	Ламин А/С	А/Д
1q32	Сердечный тропонин Т	А/Д
2q11-22	Неизвестен	А/Д
2q24.3	Титин	А/Р
2q35	Десмин	А/Д
3p22-25	Неизвестен	А/Д
4q35	Актинин-ассоциированный LIM-белок	А/Д
5q33	d-саркогликан	А/Д
6q12-16	Неизвестен	А/Д
6q22.1	Фосфоламбан	А/Д
6q23-24	Неизвестен	А/Д
9q13-22	Неизвестен	А/Д
10q22	Метавинкулин	А/Д
11p11.2	Миозин-связанный С-белок	А/Д
14q12	Тяжелая цепь b-миозина	А/Д
12p1.1	АТФ-связывающий комплекс, семейство 3, белок 31	А/Д
15q14	Актин	А/Д
15q22.1	а-тропомиозин	А/Д
17q12-21.33	Телетонин	А/Д
Xp21	Дистрофии	Х/Р
Xq28	Эмерин	Х/Р
Xq28	Тафаззин	Х/Р

на на цитозин (A3123C) в 3'-нетранслируемой области 3 экзона [41]. Среди немногочисленных работ, посвященных влиянию полиморфизма гена AT_2 на развитие сердечно-сосудистых заболеваний, обращает на себя внимание исследование [25], в котором была рассмотрена связь данного полиморфизма и ГКМП. Изучение влияния полиморфизма гена AT_2 -рецепторов выявило, что индекс массы миокарда левого желудочка и толщина межжелудочковой перегородки значительно ниже у женщин с генотипом *CC* по сравнению с *AC* и *AA*. У мужчин подобных ассоциаций не наблюдалось. Полученные результаты авторы связывают с локализацией генов AT_2 рецепторов на X-хромосоме и эстроген-зависимыми факторами транскрипции.

Альдостерон контролирует баланс натрия в организме и объем циркулирующей крови. Он стимулирует синтез коллагена и пролиферацию фибробластов в сердце через активацию локальных рецепторов минералкортикоидов. Найдена корреляция уровня альдостерона в крови с толщиной межжелудочковой перегородки и задней стенки левого желудочка у лиц обоего пола [1]. У женщин выявлена положительная зависимость между уровнем альдостерона и индексом массы миокарда левого желудочка. У пациентов с альдостеронсекретирующими аденомами наблюдалась гипертрофия левого желудочка, подвергавшаяся обратному развитию после резекции опухоли. Альдостерон синтезируется в коре надпочечников из дезоксикортикостерона ферментом митохондриального цитохрома P 450 альдостеронсинтетазой (*CYP11B2*). Ген альдостеронсинтетазы картирован в хромосоме 8q22. Описано несколько полиморфных маркеров в регионе промоутера и во втором интроне этого гена. Наиболее изучен полиморфизм в 5'-конце гена — замена цитозина тимидином в -344-й позиции, который участвует в связывании фактора транскрипции *SF-1* и, таким образом, может влиять на экспрессию гена [1]. Связь полиморфизма гена альдостеронсинтетазы с массой миокарда была найдена лишь у здоровых молодых людей: в финской популяции гомозиготы по -344C аллелю имели достоверно большую массу миокарда, чем гомозиготы по -344T аллелю [43]. Не было обнаружено зависимости между полиморфизмом гена альдостеронсинтетазы и толщиной межжелудочковой перегородки у больных артериальной гипертензией [63] и перенесших инфаркт миокарда [34]. Не получено однозначных данных об ассоциации данного полиморфизма с массой миокарда левого желудочка при ГКМП [21, 58].

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), характеризующаяся увеличением размеров полостей сердца и снижением систолической функции ЛЖ, встречается в популяции с частотой не менее 1:10000–1:3000 населения. Несмотря на имеющийся прогресс, достигнутый в лечении этого заболевания, смертность при ДКМП остается высокой. Наследственные формы этого заболевания составляют около 40% от всех случаев ДКМП.

Наиболее часто встречается аутосомно-доминантный тип наследования, на долю аутосомно-рецессивных форм приходится около 16% всех случаев наследственной ДКМП, X-сцепленный рецессивный тип наследования встречается в 2–5% случаев. ДКМП является результатом мутаций в генах, кодирующих структурные внутри- и внесаркомерные белки миокарда (табл. 3). Это свидетельствует о том, что этиология семейных форм ДКМП очень гетерогенна. Рассматриваются мутации в генах, кодирующие белки плазматической мембраны и цитоскелета, самого саркомера [22, 29, 55, 56, 71]. Однако японские авторы в своих исследованиях не нашли указанных мутаций, а выявили мутации в генах Z-диска миофибрилл [42]. Кроме того, описаны мутации в генах, кодирующие ядерные белки, хотя молекулярные механизмы этого неясны [42]. Отдельную группу составляют мутации в генах, изменяющих функцию ионных каналов, метаболизм Ca^{2+} [16, 26, 27]. Относительно недавно была описана наследственная аритмогенная правожелудочковая дисплазия/кардиомиопатия, характеризующаяся фиброзно-жировым замещением миокарда правого желудочка, выраженной его дилатацией и снижением

фракции выброса при относительной сохранности левого желудочка, жизнеугрожающими желудочковыми тахикардиями, вызываемыми физическими и эмоциональными нагрузками. Заболевание чаще всего встречается в популяции северо-восточной Италии с частотой 1:1000 населения, в остальных европейских регионах его частота составляет 1:10000. Описано 8 локусов ауто-сомно-доминантной формы заболевания (табл. 4).

Таблица 4

Гены/локусы, ответственные за развитие аритмогенной дисплазии правого желудочка (ARVD)

Форма	Локус	Белок/ген
ARVD1	14q23-q24	Истмин-подобный белок, тип 1 (TAIL1)
ARVD2	1q42-q43	Рианодиновый рецептор (RYR2)
ARVD3	14q12-q22	Неизвестен
ARVD4	2q32.1-q32.3	Неизвестен
ARVD5	3p23	Неизвестен
ARVD6	10p12-p14	Неизвестен
ARVD7	6p24	Десмоплакин (DSP)

В последнее время накапливается все большее количество данных, говорящих об отсутствии жестких границ между различными группами кардиомиопатий. Установлено, что мутации в генах сердечного тропонина Т (TNNT2) и титина (TTN) могут приводить к развитию как ГКМП, так и ДКМП. Различные повреждения в гене тропонина I (TNNI3) также описаны при рестриктивных и гипертрофических кардиомиопатиях. Существование более 20 локусов, ответственных за ДКМП, существенно затрудняет проведение молекулярной диагностики и требует тщательного анализа клинической картины в каждом случае заболевания.

В настоящее время большое внимание уделяется наследственным заболеваниям, не сопровождающимся выраженными структурными изменениями миокарда и проявляющимся преимущественно или исключительно электрофизиологическими нарушениями в кардиомиоците. Для этой группы состояний характерным является высокий риск внезапной смерти вследствие развития жизнеугрожающих нарушений ритма и/или проводимости. В основе этих заболеваний лежат мутации генов, кодирующих белки ионных каналов, экспрессирующихся в миокарде, а также их модуляторов. Это стало основанием для объединения этих заболеваний в группу «каналопатий». К первичным каналопатиям относят синдромы удлиненного интервала QT (LQTS), укороченного интервала QT (SQTS), синдромы Бругада и Лева–Ленегра, семейные формы синдрома Вольфа–Паркинсона–Уайта, идиопатическая и катехоламинергическая желудочковые тахикардии, семейные формы фибрилляции предсердий и синдрома слабости синусового узла, синдром детской внезапной смерти. Нормальные

амплитуда и продолжительность сердечного потенциала действия обеспечиваются тонко сбалансированным взаимодействием многих ионных каналов и регуляторов их активности, каждый из которых кодируется отдельным геном. Поэтому количество белков и кодирующих их генов, способных привести к нарушениям электрогенеза, потенциально оценивается несколькими десятками. Известны около 15, по-видимому, ключевых генов, мутации в которых приводят к развитию типичных клинических проявлений этих заболеваний. Разные мутации в пределах одного гена по-разному изменяют электрофизиологические свойства считываемого белка, что приводит к появлению нескольких аллельных форм заболевания. Аллельные серии заболеваний описаны для большинства генов, ответственных за первичные нарушения сердечного ритма (табл. 5).

Таблица 5

Примеры генов, ответственных за разные клинические формы

Ген	Заболевания, вызываемые мутациями в гене
KCNQ1	Синдром удлиненного интервала QT, тип 1 (LQT1), синдром укороченного интервала QT, тип 1 (SQT1), семейная фибрилляция предсердий
KCNH2	Синдром удлиненного интервала QT, тип 2 (LQT2); синдром укороченного интервала QT, тип 2 (SQT2); синдром удлиненного интервала QT, вызванного приемом лекарственных препаратов
SCN5A	Синдром удлиненного интервала QT, тип 3 (LQT3); синдром Бругада, синдром Лева–Ленегра, идиопатическая желудочковая тахикардия, синдром детской внезапной смерти, дилатационная кардиомиопатия с нарушением проводимости
RYR2	Катехоламинергическая и идиопатическая желудочковые тахикардии, аритмогенная правожелудочковая дисплазия, тип 2

С другой стороны, один и тот же электрофизиологический эффект может быть результатом мутаций в разных генах. Например, ключевой признак синдрома удлиненного интервала QT — увеличение продолжительности QTc ≥ 460 мс может явиться результатом мутации в любом из 7 генов, ответственных за это заболевание (табл. 6).

В небольшом количестве исследований описаны мутации в генах при рестриктивной кардиомиопатии (РКМП). Это в основном гены, кодирующие белки сократительных элементов кардиомиоцита, что характерно и для ГКМП и ДКМП. Так, согласно [78, 79], для РКМП характерны мутации в генах, связанных с обменом Ca²⁺, выявлены они у больных с плохим прогнозом

и выраженной диастолической дисфункцией. С другой стороны, различия между РКМП и ДКМП обусловлены тем, например, что у больных РКМП мутации в гене TNN13 обнаружены у гетерозигот, в то время при ДКМП они выявлены у гомозигот [53, 54].

Таблица 6

Гены, ответственные за синдром удлинённого интервала QT

Ген	Локализация	Ген	Белковый продукт
LQT1	11p15.5	KCNQ1	а-субъединица калиевого канала
LQT2	7q35-36	KCNH2	а-субъединица калиевого канала
LQT3	3p21-24	SCN5A	Натриевый канал
LQT4	4q25-27	AnkK	Анкирин В
LQT5	21q22.1-22	KCNE1	б-субъединица калиевого канала
LQT6	21q22.1-22	KCNE2	б-субъединица калиевого канала
LQT7	17q23.1-q24.2	KCNJ2	а-субъединица калиевого канала

Несмотря на то, что большинство описанных заболеваний встречаются в популяции редко, но суммарная частота наследственно обусловленных сердечно-сосудистых заболеваний достаточно высока. Поэтому изучение молекулярно-генетических основ сердечно-сосудистых заболеваний является одной из приоритетных задач современной медицины. Из опыта крупнейших лабораторий мира, даже при полном скрининге всех известных генов, приводящих к развитию наследственных нарушений ритма и проводимости, приблизительно в 30–40% не удается установить первичный генетический дефект. Это связано с тем, что картированы и идентифицированы еще не все гены, приводящие к нарушению электрогенеза кардиомиоцита. Процент выявляемости мутаций в группе пациентов с первичными кардиопатиями также не превышает 50%. Идентификация новых генов на материале больших семей может позволить выявить новые молекулярно-генетические варианты заболеваний. Эти данные значительно расширяют наши представления о молекулярных основах и патогенезе кардиомиопатий, нарушений сердечного ритма и проводимости, а также могут лечь в основу этиологического подхода к лечению.

В последние десятилетия молекулярно-генетические методы все шире входят в клиническую практику. Проводятся крупные многоцентровые исследования, создаются международные регистры больных с наследственными сердечно-сосудистыми заболеваниями, содержащие результаты клинических и генетических исследований, отдаленных результатов терапии. Комплексный анализ сопоставления генетических и клини-

ческих данных позволяет считать, что существует прямая связь между первичным генетическим дефектом, особенностями клинической картины и прогнозом практически для всех групп заболеваний. ДНК-диагностика направлена на регистрацию непосредственной причины заболевания в виде изменения нуклеотидной последовательности ДНК. Выявление мутации в конкретном гене напрямую свидетельствует о наличии заболевания, независимо от степени выраженности клинических симптомов, и даже при их отсутствии. По данным Priori et al., около 30% больных с синдромом удлинённого интервала QT имеют скрытое течение заболевания, при котором отсутствуют характерные изменения на ЭКГ, но больные имеют, тем не менее, высокий риск внезапной смерти во время первого в жизни синкопального эпизода. Поэтому пресимптоматическая диагностика в этой группе больных позволяет сформировать оптимальную тактику наблюдения для каждого пациента, с учетом генетических, анамнестических и электрокардиографических данных. В зависимости от пораженного гена, по-разному оценивается влияние пола и возраста на риск КВС. Так, например, у пациентов с мутациями в гене SCN5A (LQT3) наблюдается наибольший процент летальных исходов во время острых кардиогенных эпизодов. В недавнем исследовании Priori была проанализирована суммарная вероятность острых кардиогенных эпизодов (синкопе, остановка сердца, КВС) в зависимости от пораженного гена, пола и продолжительности QTc и предложена стратификация риска развития первого эпизода желудочковой тахикардии, основывающаяся на генетических данных. Генетические факторы, которые влияют на риск, являются более сложными, чем простое разделение больных LQTS на подгруппы LQT1, LQT2, LQT3 и т. д. Хотя пораженный ген и оказывает ключевое влияние на клинический фенотип, различные мутации в пределах одного и того же гена могут детерминировать различные по тяжести проявления заболевания. Описаны мутации, ассоциированные как с относительно благоприятным течением заболевания, так и с очень тяжелым прогнозом. Данные об отдельных мутациях, являющихся причиной заболевания, могут иметь важное прогностическое значение. В отсутствие адекватной терапии 10-летняя выживаемость после первого синкопального эпизода при синдроме удлинённого интервала QT составляет менее 50%. Современные подходы к оценке риска внезапной смерти у таких пациентов и выбору тактики лечения в значительной степени должны базироваться на информации о молекулярно-генетической природе заболевания.

Наиболее значимым практическим результатом всестороннего изучения клеточных, молекулярных и электрофизиологических основ синдрома удлинённого интервала QT явилась разработка терапевтических подходов, специфичных в отношении пораженного гена. То, что на уровне фенотипа реализуется как единый признак, в действительности может иметь различные

генетические и электрофизиологические основания. Генетическая гетерогенность заболеваний является как основой для разработки патогенетической геноспецифической терапии, так и фактором, затрудняющим эту терапию на уровне конкретного пациента. Единственным абсолютно достоверным методом установления молекулярно-генетического варианта заболевания является проведение ДНК-диагностики.

Для больных с мутациями в генах, кодирующих большие и малые субъединицы калиевых каналов (KCNQ1, KCNH2, KCNE1, KCNE2), наиболее эффективной является терапия бета-блокаторами. Однако если причиной синдрома являются мутации в гене SCN5A, приводящие к увеличению входящего натриевого тока (LQT3), то препараты этой группы могут являться пустковыми факторами для развития полиморфной желудочковой тахикардии. Нормализуют процессы реполяризации при этом типе заболевания антиаритмические препараты IV класса (мексилетин, лидокаин, флекаинид). Описан эффект снижения продолжительности интервала QT у пациентов с LQT2 при комбинированной терапии бета-блокаторами и длительном приеме препаратов, увеличивающих концентрацию K⁺ в плазме.

Большое значение имеет ДНК-диагностика для консультирования больных с первичными кардиопатиями. Описаны мутации, детерминирующие как относительно благоприятное, так и злокачественное течение кардиомиопатии. В работе McKenna (1993) было показано, что около половины больных с миссенс-мутацией R453C в гене MYHCB (ГКМП) погибли внезапно в возрасте до 40 лет. Мутации R403Q, R719W/Q при ГКМП также связаны с высоким риском внезапной смерти. В то же время, анализ клинических данных показывает, что мутации V606M, F513C, E542Q и 791insG ассоциированы с благоприятным прогнозом и близким к нормальному качеством жизни. Кроме того, прогностическое значение имеет локализация мутаций в гене. Значимым независимым предиктором низкой выживаемости является локализация мутаций в консервативных участках актин-связывающего сайта и стержневой части б-миозина. Мутации в гене TNNT2 приводят к высокому риску внезапной смерти при минимальной выраженности собственно гипертрофических процессов, что делает ДНК-диагностику в этой группе пациентов и их кровных родственников особенно актуальной. Пресимптоматическая диагностика заболевания в семьях,отягощенных по дилатационной кардиомиопатии, позволяет начинать лечение в ранние сроки. Если заболевание в конкретной семье ассоциировано с тяжелым течением и быстрым прогрессированием сердечной недостаточности, возможно рассмотрение вопроса о последующей трансплантации сердца и как можно более раннем поиске подходящего донора.

При ГКМП, вызванной мутациями в гене ламина (LMNA), наибольшую опасность для больных представ-

ляют нарушения ритма и проводимости. Поэтому в случае выявления мутаций в гене ламина целесообразно рассматривать больных как кандидатов для имплантации электрокардиостимулятора или кардиовертера-дефибриллятора. Однако прямая ДНК-диагностика кардиомиопатий достаточно сложна и не является рутинной процедурой. Это связано с большим числом заинтересованных локусов, значительным размером генов и отсутствием мажорных мутаций.

В семьях с большими родословными, включающими 6–10 пораженных и несколько здоровых кровных родственников, возможно установление хромосомного локуса, сцепленного с заболеванием, с последующим поиском мутаций в одном гене. Исследования, направленные на выявление и анализ корреляций генотип–фенотип, проводятся для всех наследственных форм кардиомиопатий. На сегодняшний день важной задачей является дальнейшее накопление и сопоставление клинических и молекулярно-генетических данных.

Таким образом, влияние генетических факторов на развитие и течение заболевания, выбор оптимальной тактики лечения, эффекты от проводимой терапии весьма многообразно. Дальнейшее развитие и совершенствование диагностических подходов и медицинской помощи больным невозможно без комплексного учета этих факторов.

Литература

1. Бражник В.А., Затеищиков Д.А., Сидоренко Б.А. Наследственные факторы и гипертрофия левого желудочка // Кардиология, 2003. — № 1. — С. 78–88.
2. Габрусенко С.А., Селезнев Д.М., Бочков В.Н. и др. Генетические аспекты гипертрофической кардиомиопатии // Практикующий врач. № 18 (2, 2000).
3. Джаиани Н.А. Детерминанты течения сердечной недостаточности: клинико-генетические сопоставления. Дис. ... к.м.н. — М., 2001. — 112 с.
4. Карпов Р.С., Пузырев К.В., Павлюкова Е.Н. и др. Молекулярно-генетический анализ гипертрофии миокарда левого желудочка // Кардиология, 2001. — № 6. — С. 25–30.
5. Киселев И.О. Анализ влияния ДНК-полиморфизмов генов PАС на показатели структурно-функционального состояния миокарда у больных ГКМП. Дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 2000. — 126 с.
6. Киселев И.О., Федоров В.В., Шляхто Е.В. Молекулярно-генетические механизмы развития гипертрофической кардиомиопатии // Артериальная гипертензия, 2000. — Том 6. — № 1. — С. 44–51.
7. Костарева А.А., Гудкова А.Я., Семернин Е.Н. и др. Молекулярно-генетические аспекты и особенности клинического течения некоторых форм гипертрофической кардиомиопатии // Вестник аритмологии, 2003. — № 32. — С. 57–61.
8. Пузырев В.П. Состояние и перспективы геномных исследований в генетической кардиологии // Вестник РАМН, 2000. — № 7. — С. 28–33.
9. Пузырев К.В. Клинико-генетические исследования факторов предрасположенности к эссенциальной гипертензии и идиопатической кардиомиопатии. Дис. ... канд. мед. наук. — Томск, 1999. — 159 с.

10. Рязанов А.С. Клинико-генетические аспекты развития гипертрофии левого желудочка // Российский кардиологический журнал, 2003. — № 2.
11. Степанов В.А., Пузырев К.В., Спиридонова М.Г. и др. Полиморфизм генов ангиотензин-превращающего фермента и эндотелиальной синтазы окиси азота у лиц с артериальной гипертензией, гипертрофией левого желудочка и гипертрофической кардиомиопатией // Генетика, 1998. — 34. — С. 1578–1581.
12. Терещенко С.Н., Демидова И.В., Кобалава Ж.Д. Структурно-функциональное состояние левого желудочка и эффективность ингибитора АПФ периндоприла у больных с постинфарктной сердечной недостаточностью в зависимости от полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента // Кардиология, 2000. — № 1. — С. 34–37.
13. Туракулов Р.И. Микросателлитные маркеры в изучении наследственных заболеваний и геномной дактилоскопии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1998. — 25 с.
14. Чистяков Д.А., Кобалава Ж.Д., Терещенко С.Н. и др. Полиморфизм гена сосудистого рецептора ангиотензина II и сердечно-сосудистые заболевания // Терапевтический архив, 2000. — № 4. — С. 27–30.
15. Ahmad F., Seidman J.G., Seidman C.E. The genetic basis for cardiac remodeling // Annu. Rev. Genomics Hum. Genet., 2006; 6: 185–216.
16. Bienengraeber M., Olson T.M., Selivanov V.A., Kathmann E.C., O’Cochlain F., Gao F. et al. ABCC9 mutations identified in human dilated cardiomyopathy disrupt catalytic KATP channel gating // NatGenet., 2004; 36: 382–387.
17. Burton D., Abdularazzak H., Knott A. Two mutations in troponin I that cause hypertrophic cardiomyopathy have contrasting effect on cardiac muscle contractility // Biochemical J., 2002. — Vol. 362. — 443–451.
18. Butler R. The DD-ACE genotype and cardiovascular disease // Pharmacogenomics, 2000 May; 1(2): 153–167.
19. Carey R.M., Wang Z.-Q., Siragy H.M. Role of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function // Hypertension, 2000; 35: 155–163.
20. Carrier L., Bonne G., Bahrend E. et al. Organization and sequence of human cardiac myosin binding protein C gene (MYBPC3) and identification of mutations predicted to produce truncated proteins in familial hypertrophic cardiomyopathy // Circ. Res., 1997; 80: 427–434.
21. Chen A.H., Zhang W.X., Li Z.L. et al. Association between aldosterone synthase gene polymorphism and hypertrophic cardiomyopathy // Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002 Aug.; 22(8): 704–706.
22. Cohen N., Muntoni F. Multiple pathogenetic mechanisms in X linked dilated cardiomyopathy // Heart, 2004; 90: 835–841.
23. Covolo L., Gelatti U., Metra M. et al. Angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and heart failure: a case-control study // Biomarkers, 2003 Sep-Oct; 8(5): 429–436.
24. De Gasparo M., Catt K.J., Inagami T. et al. International Union of Pharmacology, 23-th. The Angiotensin II Receptors // Pharmacol. Rev., 2000; 52:3: 415–472.
25. Deinum J., van Gool J.M., Kofflard M.J. et al. Angiotensin II type 2 receptors and cardiac hypertrophy in women with hypertrophic cardiomyopathy // Hypertension, 2001 Dec. 1; 38(6): 1278–1281.
26. Fatkin D., MacRae C., Sasaki T., Wolff M.R., Porcu M., Frenneaux M. et al. Missense mutations in the rod domain of the lamin A/C gene as causes of dilated cardiomyopathy and conduction-system disease // N. Engl. J. Med., 1999; 341: 1715–1724.
27. Fatkin D., Graham R.M. Molecular Mechanism of Inherited Cardiomyopathies // Physiology Review, 2002. — Vol. 82. — P. 945–980.
28. Fernandez-Llama P., Poch E., Oriola J. et al. Angiotensinogen gene M 235 T and T 174 M Polymorphism in Essential Hypertension // Am. J. Hypertens., 1998. — V. 11. — P. 439–444.
29. Finsterer J., Stöllberger C. The heart in human dystrophinopathies // Cardiology, 2003; 99: 1–19.
30. Franz W.-M., Muller O.J., Katus H.A. Cardiomyopathies: from genetics to the prospect of treatment // Lancet, 2001. — Vol. 358. — N 10. — P. 1627–1637.
31. Fung D.C. et al. An online locus-specific mutation database for familial hypertrophic cardiomyopathy // Hum. Mutat., 1999. — Vol. 14 (4). — P. 326–332.
32. Furrugh S., Malik M.D., Carl J. et al. Renin-angiotensin system: genes to bedside // Am. Heart J., 1997. — 134: 5: 514–527.
33. Goldbergova M., Spinarova L., Spinar J. et al. Association of two angiotensinogen gene polymorphisms, M235T and G(-6)A, with chronic heart failure // Int. J. Cardiol., 2003, Jun.; 89(2–3): 267–272.
34. Hengstenberg C., Holmer S.R., Mayer B. et al. Evaluation of the aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphism in patients with myocardial infarction // Hypertension, 2000. 35: 704–709.
35. Hindorff L.A., Heckbert S.R., Tracy R. et al. Angiotensin II type 1 receptor polymorphisms in the cardiovascular health study: relation to blood pressure, ethnicity, and cardiovascular events // Am. J. Hypertens., 2002, Dec.; 15(12): 1050–1056.
36. Hoffman B., Schmidt-Traub H., Perrot A. et al. First mutation in cardiac troponin C. L29Q in a patient with hypertrophic cardiomyopathy // Hum. Mutat., 17:524, 2001.
37. Ibichini F., Steffenino G., Dellavalle A. et al. Plasma activity and insertion/deletion polymorphism of angiotensin-I converting enzyme. A major risk factor and a marker of risk for coronary stent restenosis // Circulation, 1998. 97. 147–154.
38. Ishanov A., Okamoto H., Watanabe M. et al. An angiotensin II type I receptor gene polymorphism in patients with cardiac hypertrophy // Jpn Heart J., 1998. — 39: 87–96.
39. Ishanov A., Okamoto H., Yoneya K. et al. Angiotensinogen gene polymorphism in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy // Am. Heart J., 1997: 133: 184–189.
40. Kabaeva Z.T., Perrot A., Wolter B. et al. Systematic analysis of the regulatory and essential myosin light chain genes: genetic variants and mutations in hypertrophic cardiomyopathy // European Journal of Human Genetics, 2002. 10. 741–748.
41. Katsuya T., Horiuchi M., Minami S. et al. Genomic organization and polymorphism of human angiotensin II type 2 receptor: no evidence for its gene mutation in two families of human premature ovarian failure syndrome // Mol. Cell. Endocrinol., 1997; 127: 221–228.
42. Kimura A. Molecular etiology and pathogenesis of hereditary cardiomyopathy // Circulation journal, 2008; Suppl. A; 38–48.
43. Kupari M., Hautanen A., Lankinen L. et al. Association between human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphism and left ventricular size, mass and function // Circulation, 1998; 97: 569–575.
44. Lechin M., Quiones M.A., Omran A. et al. Angiotensin I converting enzyme genotypes and left ventricular hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy // Circulation, 1995. 92: 7: 1808–1812.
45. Lopez-Haldon J., Garcia-Lozano J.R., Martinez Martinez A. et al. The effect of polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes on the phenotypic expression of Spanish patients with hypertrophic cardiomyopathy // Med. Clin. (Barc), 1999, Jul. 10; 113(5): 161–163.
46. Marian A.J. Modifier genes for hypertrophic cardiomyopathy // Curr. Opin. Cardiol., 2002 May; 17(3): 242–252.

47. Marian A.J. Pathogenesis of diverse clinical and pathological phenotypes in hypertrophic cardiomyopathy // *Lancet*, 2000; 355: 58–60.
48. Marian A.J., Roberts R. The Molecular Genetic Basis for Hypertrophic Cardiomyopathy // *J. Molecular and Cellular Cardiology*, 2001. — Vol. 33. — P. 655–670.
49. Maron B.J. Hypertrophic cardiomyopathy // *JAMA*, 2002. 287. 1308–1320.
50. Maron B.J., Gardin J.M., Flack J.M. et al. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults: echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study // *Circulation*, 1995. 92. — P. 785–789.
51. Maron B.J., Olivetto I., Spirito P. et al. Epidemiology of hypertrophic cardiomyopathy-related death: revisited in a large non-referral-based patient population // *Circulation*, 2000. — 102. — P. 858–864.
52. Matsubara H. Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases // *Circ. Res.*, 1998; 83: 1182–1192.
53. Mogensen J., Kubo T., Duque M., Uribe W., Shaw A., Murphy R. et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations // *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 209–216.
54. Murphy R.T., Mogensen J., Shaw A., Kubo T., Hughes S., McKenna W.J. Novel mutation in cardiac troponin I in recessive idiopathic dilated cardiomyopathy // *Lancet*, 2004; 363: 371–372.
55. Olson T.M., Michels V.V., Thibodeau S.N., Tai Y.S., Keating M.T. Actin mutations in dilated cardiomyopathy, a heritable form of heart failure // *Science*, 1998; 280: 750–752.
56. Olson T.M., Doan T.P., Kishimoto N.Y. et al. Inherited and de novo mutations in the cardiac actin gene cause hypertrophic cardiomyopathy // *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2000, 32: 1687–1694.
57. Otlepp J.R., Vosberg H.P., Reith S. et al. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin-aldosterone system associated with expression of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy: a study of five polymorphic genes in a family with a disease causing mutation in the myosin binding protein C gene // *Heart*, 2002 Mar; 87(3): 270–275.
58. Osterop A.P., Kofflard M.J., Sandkuijl L.A. et al. AT receptor A/C1166 polymorphism contributes to cardiac hypertrophy in subjects with hypertrophic cardiomyopathy // *Hypertension*, 1998. 32: 825–830.
59. Ozono R., Matsumoto T., Shingu T. et al. Expression and localization of angiotensin subtype receptor proteins in the hypertensive rat heart // *Am. J. Physiol.*, 2000; 278: R781–R789.
60. Pinto J.R., Parvatiyar M.S., Jones M.A., Liang J., Potter J.D. A troponin T mutation that causes infantile restrictive cardiomyopathy increases Ca²⁺ sensitivity of force development and impairs the inhibitory properties of troponin // *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 2156–2166.
61. Poetter K., Jiang H., Hassanzaden S. et al. Mutations in either the essential or regulatory light chains of myosin are associated with a rare myopathy in human heart and skeletal muscle // *Nat. Genet.*, 1996, 13: 63–69.
62. Richard P., Charron P., Carrier L. Hypertrophic cardiomyopathy. Distribution of disease genes, spectrum of mutations and implications for a molecular diagnosis strategy // *Circulation*, 2003. — Vol. 107. — P. 2227–2232.
63. Saton M., Takahashi M., Sakamoto T. et al. Structural analysis of the titin gene in hypertrophic cardiomyopathy: identification of a novel disease gene // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999. 262: 411–417.
64. Schunkert H., Hengstenberg C., Holmer S.R. et al. Lack of association between a polymorphism of aldosterone synthase gene and left ventricular structure // *Circulation*, 1999; 99: 2255–2260.
65. Seidman C.E., Seidman J.G. Molecular genetic studies of familial hypertrophic cardiomyopathy // *Basic. Res. Cardiol.*, 1998, 93, Suppl. 3: 13–16.
66. Seidman J.G., Seidman C. The genetic basis for cardiomyopathy: From mutation identification to mechanistic paradigms // *Cell*, 2001; 104: 557–567.
67. Spirito P., Bellone P., Harris K.M. et al. Magnitude of left ventricular hypertrophy and risk of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy // *N. Engl. J. Med.*, 2000; 342: 1778–1785.
68. Staessen J.A., Wang J.G., Ginocchio G., Petrov V., Saavedra A. P., Soubrier F., Vlietinck R., Fagard R. The deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular-renal risk // *J. Hypertens.*, 1997; 15: 1579–1592.
69. Tiret L., Bonnardeaux A., Poirier O. et al. Synergistic effect on angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor gene polymorphism on risk of myocardial infarction // *Lancet*, 1994. 344. 910–913.
70. Thierfelder L., Watkins H., MacRae C. et al. Alpha-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: A disease of sarcomere // *Cell*, 1994. — Vol. 77. — P. 701–712.
71. Towbin J.A., Bowles N.E. Genetic abnormalities responsible for dilated cardiomyopathy // *Curr. Cardiol. Rep.*, 2000; 2: 475–480.
72. Towbin J.A., Bowles N.E. The failing heart // *Nature*, 2002; 415: 227–233.
73. Tsutumi Y., Matsubara H., Ohkubo N. et al. Angiotensin II type 2 receptor is upregulated in human heart with interstitial fibrosis, and cardiac fibroblasts are the major cell type for its expression // *Circ. Res.*, 1998; 83: 1035–1046.
74. Turner A.J., Hooper N.M. The angiotensin-converting enzyme gene family: genomics and pharmacology // *Trends Pharmacol. Sci.*, 2002. 23: 177–183.
75. Varnava A., Elliot P., Baboonian C. Histopathological features of Sudden Death in Cardiac troponin T disease // *Circulation*, 2001. — Vol. 104. — 1380–1384.
76. Wharton J., Morgan K., Rutherford R.A.D. et al. Differential distribution of AT₂ receptors in the normal and failing human heart // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1998; 284: 323–336.
77. Winegrad S. Cardiac myosin binding protein C // *Circulat. Res.*, 1999. 84; 1117–1126.
78. Yamada Y., Ichihara S., Fujimura T. et al. Lack of association polymorphism of the angiotensin converting enzyme and angiotensinogen genes with nonfamilial hypertrophic or dilated cardiomyopathy // *Am. J. Hepertens*, 1997; 10: 8: 921–928.
79. Yumoto F., Lu Q.W., Morimoto S., Tanaka H., Kono N., Nagata K. et al. Drastic Ca²⁺ sensitization of myofilament associated with a small structural change in troponin I in inherited restrictive cardiomyopathy // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 338: 1519–1526.

ВЛИЯЕТ ЛИ R577X ACTN3 ПОЛИМОРФИЗМ НА ВЫСОКИЕ СПОРТИВНЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ?

В.П. ПУШКАРЁВ, Е.В. ЛЕКОНЦЕВ, Л.М. КУЛИКОВ, Е.Д. ПУШКАРЁВ, Л.В. РАХМАНИНА,
В.Ю. ВИШНЕВ, Д.А. ДЯТЛОВ

НИИ олимпийского спорта,

ФГОУ ВПО «Уральский государственный университет физической культуры»

Резюме. Одним из полиморфизмов, представляющих интерес для спортивной генетики, является R577X ACTN3, который вызывает прекращение синтеза α -актинин-3 в быстрых мышечных волокнах, что приводит к нарушению стабильности сократительного аппарата быстрых мышечных волокон, а также регуляции дифференциации миофибрилл и сокращения. Показано влияние этого полиморфизма на спортивную успешность в видах спорта, связанных как со скоростно-силовыми качествами, так и с выносливостью. Сравнивались аллельные и генотипические частоты полиморфизма R577X ACTN3 между смешанной группой высококвалифицированных спортсменов ($n = 138$) и контролем ($n = 144$). Показано преобладание R-аллеля и генотипов с этим аллелем (RR и RX) среди спортсменов. Различия между частотами генотипа XX в обеих группах статистически значимы (20,8% в контроле против 10,9% в группе спортсменов, $p = 0,024$). Тестирование R577X ACTN3 полиморфизма может быть полезным для оценки генетической предрасположенности к спортивным нагрузкам и для спортивного отбора.

Ключевые слова: α -актинин-3, R577X ACTN3 полиморфизм, спортивная успешность.

IS THERE INFLUENCE OF THE R577X ACTN3 POLYMORPHISM ON HIGH ATHLETIC ACHIEVEMENTS?

V.P. PUSHKAREV, E.V. LEKONZEV, L.M. KULIKOV, E.D. PUSHKAREV, L.V. RACHMANINA,
V.JU. VISHNEV, D.A. DYATLOV

Ural state university of physical culture

Summary. The α -actinin-3 (ACTN3) gene encodes a Z-disc structural protein which is found only in fast-twitch myofibers. ACTN3 R577X polymorphism results in loss of α -actinin-3 and has been suggested to influence skeletal muscle function. This study tests 138 Russian national and world-class strength/speed and endurance athletes and 144 sedentary controls. ACTN3 XX genotype was under-represented in athletes compared to controls (10,9% vs 20,8%, $p = 0.024$). The loss of α -actinin-3 in fast-twitch myofibers resulted from ACTN3 XX genotype seems to be restriction factor for high athletic achievements in strength/speed and endurance sports.

Key words: α -actinin-3, R577X ACTN3 polymorphism, sport achievements.

Молекулярно-генетическая составляющая спортивной успешности является предметом интенсивных исследований последних десяти лет [3, 4]. О росте интереса к таким исследованиям свидетельствует значительное увеличение числа генов-кандидатов (до 239), представленных в последней версии генетической карты физической активности (The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006–2007 update), по сравнению с ее предыдущим выпуском, вышедшим в 2005 году [4].

С момента открытия в 1999 году группой австралийских исследователей под руководством К. North полиморфизма R577X гена ACTN3, который приводит к прекращению синтеза α -актинин-3 в быстрых мышечных волокнах [7, 9], проводятся интенсивные ассоциативные исследования этого полиморфизма с качественными и количественными параметрами скелетной мускулатуры. В скелетной мышце α -актинин-2 и -3 яв-

ляются главными структурными компонентами Z-линий саркомеров, где они выполняют роль якоря для актин-содержащих тонких волокон и стабилизируют сократительный аппарат мышечного волокна. Кроме того, α -актинины играют роль в организации тонких волокон и взаимодействии между цитоскелетом саркомера и мышечной мембраной, а также в регуляции дифференциации миофибрилл и/или сокращения [8, 10, 15]. Показано, что R577X ACTN3 полиморфизм важен в видах спорта, связанных как со скоростно-силовыми качествами, так и с выносливостью, а также в игровых (футбол) и сложно координаторных видах спорта (художественная гимнастика) [1, 2, 5, 6, 11–14, 16]. Научная группа под руководством А. Lucia включила R577X ACTN3 полиморфизм в полигенные профили для оценки предрасположенности как к скоростно-силовым качествам [12], так и к выносливости [11]. С другой стороны, связь данного полиморфизма со скоростно-силовыми показа-

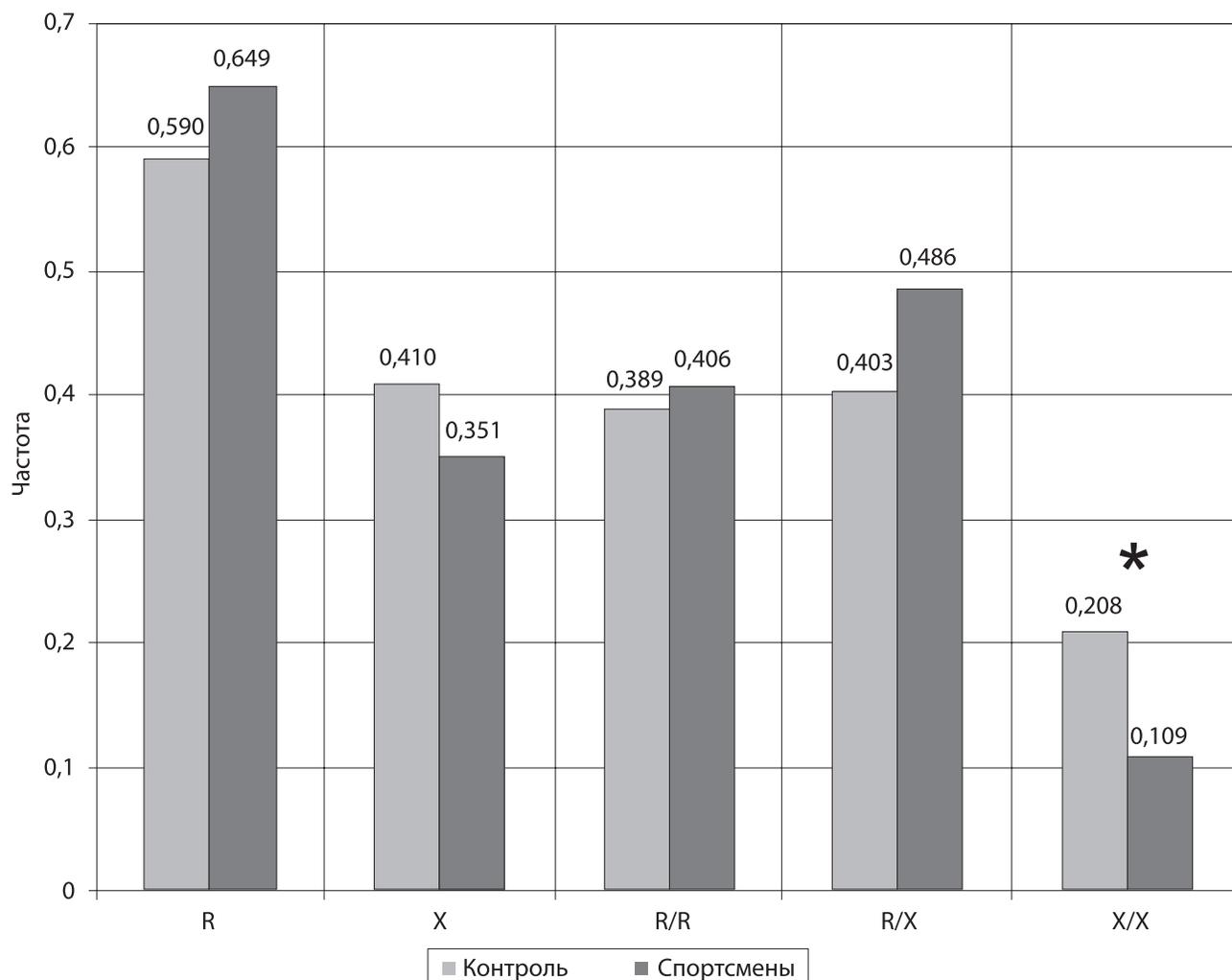


Рис. 1. Аллельные и генотипические частоты R577X полиморфизма АСТN3 гена в контрольной группе (n = 144) и группе спортсменов (n = 138). (* p = 0,024)

телями у тренированных людей, а также его влияние на состав мышечных волокон не всегда подтверждается [6, 8]. Целью данного исследования было оценить влияние полиморфизма R577X АСТN3 на высокие достижения в видах спорта, связанных как со скоростно-силовыми качествами, так и с выносливостью, с помощью сравнения распределения аллельных и генотипических частот смешанной группы высококвалифицированных спортсменов и контроля.

Материалы и методы

В генотипировании приняли участие 138 высококвалифицированных спортсменов, имеющих разряды: кандидат в мастера спорта – 33,3%, мастер спорта – 47,8%, мастер спорта международного класса – 14,5%, заслуженный мастер спорта – 4,4%. Возраст: 26,5 ± 0,9 лет. По видам спорта спортсмены были распределены следующим образом: единоборства – 26,1%, игровые виды спорта – 25,4, циклические виды спорта – 41,3,

другие – 7,2%. В качестве контрольной группы обследованы 144 здоровых, неродственных европеоидных жителей Челябинской области, не занимающихся спортом. Возраст: 23,5 ± 0,6. От всех было получено информированное согласие на участие в тестировании. Образцы буккального эпителия брали стерильными аппликаторами фирмы Whatman (США). Геномную ДНК экстрагировали с помощью Diatom™ DNA Prep 200 набора реагентов (лаборатория «Изоген», Россия). R577X АСТN3 полиморфизм (rs1815739) типировали классическим методом амплификации с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим ПДРФ-анализом [7]. Последовательности праймеров: прямой – 5'-СТGTTGCCTGTGGTAAGTGGG-3', обратный – 5'-TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3'. ПЦР проводили в амплификаторах iQ5 (Bio-Rad, США) и GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, США). Праймеры синтезировались фирмой «Евроген» (Россия). ПЦР-фрагменты обрабатывали рестриктазой DdeI

в соответствии с рекомендациями производителя (Fermentas, Литва). Продукты рестрикции разделяли с помощью 8% нативного полиакриламидного гель-электрофореза с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией на трансиллюминаторе фирмы UVP (США).

Равновесие Харди–Вайнберга (РХВ) для генотипических частот R577X ACTN3 полиморфизма в контрольной группе и группе высококвалифицированных спортсменов тестировали с помощью точного теста Фишера с использованием программы GDA1 v.1.0 (<http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>). Сравнение генотипических и аллельных частот R577X полиморфизма гена ACTN3 проводили с помощью пакета STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждение

Полученное распределение аллельных и генотипических частот R577X полиморфизма гена ACTN3 в контрольной группе и группе высококвалифицированных спортсменов представлено на рисунке 1. Статистически значимого отклонения генотипических частот от РХВ в обеих группах не наблюдалось ($p > 0,05$). Аллельные и генотипические частоты R577X ACTN3 полиморфизма в контрольной группе хорошо согласуются с частотами, полученными для российской и других европеоидных популяций [2, 5, 6, 11, 16]. При сравнении аллельных и генотипических частот между контрольной группой и группой спортсменов обращает на себя внимание преобладание R-аллеля и генотипов с этим аллелем (RR и RX) в последней группе. Различия между частотами генотипа XX в обеих группах статистически значимы (20,8% в контроле против 10,9% в группе спортсменов, $p = 0,024$). Корреляционный анализ между генотипом R577X ACTN3 полиморфизма и разрядом генотипированных спортсменов не выявил статистически значимой связи, которая была показана другими авторами [5]. Наиболее вероятным объяснением этому является то, что большинство спортсменов, участвовавших в данном исследовании, являются действующими и не достигли пика своего индивидуального мастерства.

Таким образом, результаты данного исследования подтверждают, что полное отсутствие белка α -актинин-3 в быстрых мышечных волокнах является одним из факторов, ограничивающих достижение высоких спортивных результатов в различных видах спорта, требующих как скоростно-силовых качеств, так и выносливости. Следовательно, тестирование R577X ACTN3 полиморфизма является важным фактором при оценке генетической предрасположенности спортсменов к выполнению больших физических нагрузок и служит надежным критерием при спортивном отборе.

Литература

1. Rogozkin V.A., Astratenkova I.V., Дружевская А.М., Федотовская О.Н. Гены-маркеры предрасположенности к скоростно-силовым видам спорта // Теория и практика физической культуры. — № 1. — 2005. — С. 2–4.
2. Ahmetov I.I., Druzhevskaya A.M., Astratenkova I.V. et al. The ACTN3 R577X polymorphism in Russian endurance athletes // Br. J. Sports Med. — 2008. — Published Online First: 21 August 2008.
3. Ahmetov I.I., Rogozkin V.A. Genes, athlete status and training — an overview // Med. Sport. Sci. Basel, Karger. — 2009. — V. 54. — P. 43–71.
4. Bray M.S., Hagberg J.M., Pérusse L. et al. The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2006–2007 update // Med. Sci. Sports Exerc. — 2009. — V. 41, N 1. — P. 35–73.
5. Druzhevskaya A.M., Ahmetov I.I., Astratenkova I.V., Rogozkin V.A. Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians // Eur. J. Appl. Physiol. — 2008. — V. 103, N 6. — P. 631–634.
6. Massidda M., Vona G., Caló C.M. Association between the ACTN3 R577X polymorphism and artistic gymnastic performance in Italy // Genet. Test. Mol. Biomarkers. — 2009. — V. 13, N 3. — P. 377–380.
7. McCauley T., Mastana S.S., Hossack J. et al. Human angiotensin-converting enzyme I/D and α -actinin-3 R577X genotypes and muscle functional and contractile properties // Exp. Physiol. — 2009. — V. 94, N 1. — P. 81–89.
8. Mills M., Yang N., Weinberger R.P. et al. Differential expression of the actin-binding proteins, α -actinin-3 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy // Hum. Mol. Genet. — 2001. — V. 10, N 13. — P. 1335–1346.
9. Norman B., Esbjörnsson M., Rundqvist H. et al. Strength, power, fiber types, and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes // J. Appl. Physiol. — 2009. — V. 106. — P. 959–965.
10. North K. Why is α -actinin-3 deficiency so common in the general population? The evolution of the athletic performance // Twin. Res. Hum. Genet. — 2008. — V. 11, N 4. — P. 384–394.
11. Roth S.M., Walsh S., Liu D., Metter E.J. et al. The ACTN3 R577X nonsense allele is under-represented in elite-level strength athletes // Eur. J. Hum. Genet. — 2008. — V. 16, N 3. — P. 391–394.
12. Ruiz J.R., Gyme-Gallego F., Santiago C. et al. Is there an optimum endurance polygenic profile? // J. Physiol. — 2009. — P. 1527–1534.
13. Ruiz J.R., Arteta D., Buxens A. et al. Can we identify a power-oriented polygenic profile? // J. Appl. Physiol. — 2010. — V. 108, N 3. — P. 561–566.
14. Santiago C., González-Freire M., Serratos L. et al. ACTN3 genotype in professional soccer players // Br. J. Sports Med. — 2008. — V. 42, N 1. — P. 71–73.
15. Vincent B., De Bock K., Ramaekers M. et al. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution // Physiol. Genomics. — 2007. — V. 32. — P. 58–63.
16. Yang N., MacArthur D.G., Gulbin J.P. et al. ACTN3 Genotype is associated with human elite athletic performance // Am. J. Hum. Genet. — 2003. — V. 71. — P. 627–631.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ ЛЮДЕЙ К РАДИАЦИОННЫМ И ХИМИЧЕСКИМ ЭФФЕКТАМ: АНАЛИЗ СОБСТВЕННЫХ И ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

В.И. ТЕЛЬНОВ

Южно-Уральский институт биофизики

Резюме. На основе собственных и литературных данных представлены результаты молекулярно-эпидемиологического анализа риска неблагоприятных последствий облучения и курения у профессиональных работников и населения. Рассматривается радиационный и химический риск у людей с чувствительными генотипами, в том числе после радио-химиотерапии, его особенности в зависимости от интенсивности действующего фактора. Особое внимание обращено на характер взаимодействия генетических и средовых факторов. Показано, что особенностью совместного действия генетических факторов, с одной стороны, и радиационных или (и) химических факторов, с другой стороны, является их взаимодействие, как правило, превышающее мультипликативное.

Ключевые слова: детерминированные (неопухолевые) и стохастические (опухолевые) эффекты, радиационное и химическое воздействие, генетический полиморфизм, генетические маркеры, взаимодействие генетических и средовых факторов, относительный риск.

GENETIC PREDISPOSITION TO RADIATION AND CHEMICAL EFFECTS: ANALYSIS OF SCIENTIFIC RESEARCH RESULTS AND PUBLICATIONS

V.I. TELNOV

South-Ural Institute of biophysics

Summary. Basing on scientific research results and publications analysis the results of molecular epidemiological analysis of the risk of unfavorable outcomes of ionizing radiation and smoking in professionals and in population are discussed. The radiation and chemical risk in individuals with sensitive genotypes is analyzed, as well as its peculiarities depending on the intensity of the pathological factor. Special attention is paid to interaction of genetic factors and extrinsic factors. It was shown that the peculiarity of co-existing action of radiation/chemical agent and genetic factors is mutual interaction of these factors, usually leading to more marked manifestations than action of any single factors.

Key words: deterministic (non-tumor) and stochastic (tumor) effects, radiation and chemical impact, genetic polymorphism, genetic markers, interaction of genetic and environmental factors, relative risk.

Известно, что при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды не у всех индивидов, подвергшихся такому воздействию, развиваются нарушения или заболевания. Это обстоятельство в общем плане является отражением неодинаковых индивидуальных особенностей индивидов. Значительный вклад в индивидуальные особенности организма вносят генетические факторы, определяющие генетическую предрасположенность к развитию неблагоприятных последствий воздействия факторов внешней среды [3, 4].

Особое внимание в этом отношении привлекают наследственные факторы, имеющие стабильные характеристики. К их числу, прежде всего, относятся генетические полиморфные системы, которые остаются неизменными на протяжении всей жизни. Как известно, около 30% генов в геноме человека являются полиморфными, то есть представлены двумя и более аллелями [1]. Многочисленные исследования свидетельствуют о важной роли генетической предрасположенности в развитии широкого спектра патологии и неблагоприятных эффектов под влиянием факторов различной природы [2, 29].

Данное направление исследований в широком смысле относится к экологической генетике человека. Проблема генетической гетерогенности населения и её использование для оценки радиационного и химического риска в последнее время стала предметом изучения ряда исследований [14]. Однако обобщающие данные по этой проблеме у человека весьма ограничены. Целью настоящей работы явилось обобщение собственных результатов и мета-анализ литературных данных. Мета-анализ широко используется во многих областях современной медицины, так как предусматривает оценку литературных данных с единых методологических позиций [17].

Для проведения работы были использованы данные молекулярно-генетического обследования — определения ряда генетических маркеров — генотипов гаптоглобина, группоспецифического компонента и групп крови АВО у 985 работников ПО «Маяк», а также результаты обследования лиц, подвергшихся радиационному воздействию в результате радиационных инцидентов, в том числе аварии на Чернобыльской АЭС, опубликованные в литературе в последнее время. Кроме того, на основе

Характеристика генетических полиморфных систем

ABO	Группы крови ABO
ATM	Гены репарации ДНК
C3	C3-компонент комплемента
CCND1	Ген-регулятор клеточного цикла
CDKN2A	Ген-регулятор клеточного цикла
CYP1A1	Цитохром р4501A1
DSB гены	Гены, репарирующие двойные разрывы ДНК
E-kadherin	Ген, регулирующий клеточный цикл
Gc	Группоспецифический компонент
GSTP1	Ген детоксикации ксенобиотиков
GSTT1	Ген детоксикации ксенобиотиков
HLA	Система тканевой совместимости человека — Human Leukocyte Antigen
HLA-A	Антигены гистосовместимости сублокуса HLA-A
HLA-Bw	Антигены гистосовместимости сублокуса HLA-B
HLA-DR	Антигены гистосовместимости сублокуса HLA-DR
Hr	Гаптоглобин
Ki-ras	Ген, регулирующий клеточный цикл
NF2	Ген, связанный с развитием нейрофиброматоза
NQO1	Ген детоксикации ксенобиотиков
RAD51	Ген, участвующий в репарации ДНК
TfC	Трансферрин C
TP53	Ген-регулятор клеточного цикла
XPD	Ген репарации нуклеотидов ДНК
XRCC 1-5	Гены репарации ДНК

литературных данных были оценены риски стохастических эффектов при радиохимиотерапии и курении. Характеристика исследованных генетических полиморфных систем представлена в таблице 1.

Для количественной оценки степени выраженности радиационных и химических эффектов у людей с разными генотипами рассчитывали относительный риск (ОР) [5]. Также оценивали взаимодействие генетических и неблагоприятных факторов в развитии эффектов [20]. При этом выделяли два основных вида взаимодействия: аддитивное и мультипликативное, то есть суммирование и произведение относительных рисков факторов соответственно.

Детерминированные (неопухолевые) эффекты. Достоверно повышенный риск детерминированных эффектов облучения — острой и хронической лучевой болезни, лучевого дерматоза, раннего церебрального атеросклероза, хронического гастрита, хронического гепатита и цирроза печени, увеличения доли лиц с генотипом гаптоглобина 2-2 среди потомков родителей с прекоцептивной суммарной дозой внешнего гамма-облучения более 2,0 Гр — установлен для носителей радиочувствительных генотипов. Полученные данные свидетельствуют о том (табл. 2), что у облученных людей с радио-

чувствительными генотипами относительный риск изученных радиационных эффектов колеблется в пределах от 1,5 до 6,7 (среднее значение составило 3,3). Следует отметить, что в случаях повышенного риска раннего церебрального атеросклероза и хронического гастрита у носителей генотипов Hr 2-1 и 2-2 частота данных генетических маркеров в популяции достигает 86,6%, т.е. по существу соответствует уровню популяции. В целом полученные результаты свидетельствуют о достаточно высоком риске радиационных эффектов у людей с радиочувствительными генотипами, что, в конечном счете, проявляется на популяционном уровне.

Анализ роли исследованных генотипов в развитии детерминированных радиационных эффектов показал, что в рамках отдельной генетической системы можно выделить лишь относительно наиболее радиочувствительные генотипы, поскольку каждый из них в разной степени может обуславливать генетическую предрасположенность к различным радиационным эффектам.

Результаты оценки взаимодействия факторов радиационной и генетической природы свидетельствуют о том, что ведущим видом их взаимодействия является мультипликативное. Существенное значение в реализации генетической предрасположенности к радиацион-

Относительный риск детерминированных радиационных эффектов у облученных людей с радиочувствительными генотипами

Эффекты	Дозы внешнего гамма-облучения (Гр) или инкорпорация плутония-239 (кБк)	Генетические системы (I) и радиочувствительные генотипы (II)		ОР*
		I	II	
Хроническая лучевая болезнь	0,7–4,0 Гр	Нр:	Нр 2-2	2,0
Ранний церебральный атеросклероз	> 4,0 Гр	Нр:	Нр 2-1, Нр 2-2 В(III), АВ(IV)	2,7
		АВО:		4,2
Хронический гастрит	> 4,0 Гр	Нр:	Нр 2-1, Нр 2-2 0(I), А(II)	2,4
		АВО:		2,7
Хронический гепатит или (и) цирроз печени	> 3,7 кБк	Нр:	Нр 1-1, Нр 2-2	2,9
Лучевой дерматоз [9]	1 Гр	TfC:	C2-1, C2-2 FS	4,1
		C3:		2,6
Острая лучевая болезнь [6]	> 1 Гр острого облучения	HLA:	A10, A28 Bw: 16,35, 38 DR 3	2,8
				4,1
		Нр:	Нр 2-2	3,7
В среднем по всем генетическим системам:				3,4

* Здесь и далее полужирным шрифтом выделены достоверно повышенные относительные риски.

Относительный риск хронической лучевой болезни у людей с генотипом гаптоглобина 2-2 в зависимости от дозы облучения

Генотипы Нр	Суммарные дозы внешнего гамма-облучения, Гр		
	0,7–1,0	1,01–4,0	> 4,0
Нр 2-2 против Нр 1-1 и Нр 2-1	2,7	1,9	1,0

ным эффектам у людей имеет и то обстоятельство, что последняя наиболее выражена при действии **минимальных эффективных** доз облучения. Основанием для такого вывода являются полученные данные о наибольших значениях относительного риска хронической лучевой болезни для генетической системы Нр (радиочувствительный генотип Нр 2-2) при относительно меньших дозах облучения (таблица 3).

Стохастические (опухолевые) эффекты. Достоверно повышенный риск стохастических эффектов облучения — злокачественных новообразований — установлен у носителей радиочувствительных генотипов для ряда генетических полиморфных систем. Полученные данные свидетельствуют о том (табл. 4), что у облученных людей с радиочувствительными генотипами ОР стохастических эффектов колеблется в пределах от 1,25 до 3,5 (среднее значение составило 1,6). В целом полученные результаты свидетельствуют о достаточно высоком риске стохастических эффектов у людей с радиочувствительными генотипами, что, в конечном счете, как и в случае детерминированных эффектов, проявляется на популяционном уровне.

Важное значение генетическая предрасположенность имеет и в случае развития стохастических эффектов у людей после радиохимиотерапии по медицинским показаниям. Как видно из таблицы 5, среди людей с радиочувствительными генотипами, получивших радиохимиотерапию по поводу злокачественных новообразований, в дальнейшем наблюдается повышенный риск лейкоза, рецидивов опухолевых заболеваний и повышенной радиочувствительности.

Результаты оценки взаимодействия факторов радиационной и генетической природы при развитии стохастических эффектов свидетельствуют о том, что ведущим видом их взаимодействия, также как и в случае детерминированных эффектов, является мультипликативное.

Таким образом, результаты оценки совместного действия генетических и радиационных факторов, как в случаях детерминированных, так и в случаях стохастических эффектов, свидетельствуют о том, что в подавляющем большинстве случаев генетические факторы, то есть радиочувствительные генотипы, при отсутствии радиационного воздействия или, более того, при отно-

Относительный риск стохастических эффектов у облученных людей с чувствительными генотипами

Стохастические эффекты	Характеристика облучения	Генетические системы: радиочувствительные генотипы против (vs) радиорезистентных	ОР
1. Международное европейское исследование рака легкого [18]	Рентгенография грудной клетки (1–40 процедур)	CCND1 (G870A): AA vs GA, GG	1,2
		Тр53 интрон 3: A2A2 vs A1A1, A1A2	2,1
		CDKN2A (A148T): AA	1,2*
2. Рак легкого [11]	Радон > 121 Бк, мЗ	GSTM1, (0) vs (+)	3,5
3. Менингиома [28]	Лучевая терапия: 1–6 Гр на область головы	NF2 (Rs731647): TT vs AT, AA	1,8*
		Ki-ras (Rs9966): CT vs CC, TT	1,5*
		E-kadherin (Rs2010724): AG vs AA, GG	1,4*
4. Рак молочной железы [23]	> 5 маммографий	DSB genes: 2–4 варианта vs 0–1 вариант	1,25*
5. Рак молочной железы [12]	Рентгенологи, вспомогательный персонал	XRCC1 (codon 399): Arg/Arg vs Arg/Gln, Gln/Gln	1,4*
6. Меланома [15]	Интенсивное УФО-облучение	XPD (Lys757Gln): Lys/Lys vs Lys/Gln, Gln/Gln	1,8
		XPD (Asp312Asn): Asp/Asp vs Asp/Asn, Asn/Asn	1,5*
		В среднем	1,6

* p < 0,1.

сительно меньших дозах облучения (ОР_Г), не проявляют своего неблагоприятного действия. При этом относительный риск радиационного воздействия (ОР_Р) или относительно большей дозы облучения по сравнению с меньшей дозой был достоверно повышен по сравнению с отсутствием облучения или меньшей дозой облучения.

Тот факт, что относительный риск совместного действия генетического и радиационного факторов (ОР_{ГР}) во всех случаях был достоверно повышенным, очевидно, указывает на то, что генетическая предрасположенность к радиационным эффектам в значительной степени определяется ведущим значением в их развитии радиационного воздействия. Следовательно, генетическая предрасположенность людей к неблагоприятным последствиям радиационного воздействия имеет определенные относительные ограничения, но, тем не менее, оказывает существенное влияние на их развитие.

Гены, курение и рак легкого. Выше при анализе хронической лучевой болезни отмечалось, что генотипические различия относительных рисков данной профес-

сиональной патологии были максимальны при относительно меньшем радиационном воздействии (см. табл. 3). В связи с этим был проведен анализ относительного риска рака легкого у людей с чувствительными генотипами относительно резистентных генотипов при разной интенсивности курения (табл. 6).

Как известно, курение является ведущей причиной развития рака легкого у современных людей. При этом вклад курения в развитие рака легкого является основным даже у облученных людей. Результаты анализа подтверждают, что при меньшей интенсивности действующего фактора, в частности курения, наблюдается наибольший относительный риск рака легкого у людей с чувствительными генотипами относительно резистентных. При этом, в целом, относительный риск рака легкого повышается с увеличением интенсивности курения.

Таким образом, генотипические различия людей в реакциях на воздействие неблагоприятных факторов не имеют абсолютного значения. Вследствие этого, данные механизмы максимальны при малых эффективных

Относительный риск стохастических эффектов у людей с чувствительными генотипами после предшествующей радиохимиотерапии (РХТ)

Генетические системы: радиочувствительный генотип против (vs) радиорезистентных	ОР спонтанного лейкоза	ОР РХТ-индуцированного лейкоза
XRCC1 (codon 399): Arg/Arg vs Arg/Gln, Gln/Gln [30]	1,4	2,5
RAD51: g/c, c/c vs g/g [30]	1,7	2,6
GSTT1: 0-вариант vs (+)-варианта [7]	1,5	1,7
GSTP1: Ile/Val, Val/Val vs Ile/Ile [7]	1,0	1,6
NQO1: Ser/Ser vs Pro/Pro, Pro/Ser [25]	1,5	2,7
Все:	1,4	2,2
ОР рецидива рака желудка		
XPD: Lys/Lys vs Lys/Gln, Gln/Gln [27]		6,0
ОР радиочувствительности		
ATM variants G5557A: AA vs AG, GG [8]		5,5

Относительный риск рака легкого у людей с чувствительными генотипами относительно резистентных при разной интенсивности курения

Генетические системы	Чувствительные генотипы против (vs) резистентных генотипов	Интенсивность курения		Литература
		Меньше	Больше	
		Относительный риск		
1. p4501A1	C vs A и B	7,6	1,2	[24]
2. GST1	(0) vs (+)	2,5	1,3	-«-
3. CYP1A1	Val/Val vs других	7,4	1,2	-«-
4. ADPRT	Ala/Ala vs других	1,3	2,0	[34]
5. ADPRT	AB,BB vs AA	7,1	1,7	[37]
6. XRCC1 (codon 399)	Gln/Gln vs других	1,5	0,7	[35]
7. GSTM1	0 // +	1,8	1,4	[33]
8. CYP1A1	Val/Val vs других	7,2	2,2	[32]
9. APE1 (Asp148Glu)	Glu/Glu vs других	2,7	1,2	[19]
10. XRCC1 (codon 399)	Gln/Gln vs других	1,9	1,8	-«-
11. CYP1A1 m1	w1/m1/+m1/m1 vs w1/w1	1,6	1,7	[31]
12. CYP2E1	c1/c2+c2/c2 vs c1/c1	4,1	3,7	-«-
13. p53	Arg/Pro+Pro/Pro vs Arg/Ar	1,4	1,2	[13]
14. GSTM1	(0) vs (+)	2,3	1,1	-«-
15. GSTP1	Ile/Val, Val/Val vs Ile/Ile	1,9	1,4	[26]
16. XPC-PAT	+/+ vs -/-, -/+	2,4	1,0	[22]
17. NQO1	TT vs TC, CC	2,0	0,8	[16]
18. mmp-1	2G/2G vs 1G/1G, 1G/2G	1,6	2,1	[36]
19. p73 (G4C14-to-A4T14)	GC/GC, AT/AT vs AT/GC	1,6	1,3	[21]
Все:		3,1	1,5	

воздействиях, уменьшаются при относительно больших и не имеют существенного значения при значительных.

Заключение. Результаты оценки генетической предрасположенности к эффектам облучения на основе оценки относительного риска у людей свидетельствуют о достаточно высоком риске радиационных эффектов у лиц с радиочувствительными генотипами, что в конечном счете проявляется на популяционном уровне. Анализ роли генетических маркеров в развитии радиационных эффектов показал, что в пределах той или иной генетической системы можно выделить отдельные относительно наиболее радиочувствительные маркеры, поскольку каждый из них в разной степени может обуславливать генетическую предрасположенность к различным радиационным эффектам. Особенностью совместного действия генетических и радиационных факторов является их взаимодействие, превышающее мультипликативный эффект. Существенное значение в реализации генетической предрасположенности к радиационным эффектам у людей имеет и то обстоятельство, что последняя наиболее выражена при действии

минимальных эффективных доз облучения. Это заключение справедливо и для действия нерадиационных факторов, в частности курения. Очевидно, в общем плане можно думать о том, что генетические механизмы, определяющие различия людей в реакциях на воздействие неблагоприятных факторов, не имеют абсолютно значимого значения. Вследствие этого данные механизмы максималны при малых эффективных воздействиях, уменьшаются при относительно больших и не имеют существенного значения при значительных.

Таким образом, генетико-эпидемиологический подход к оценке риска неблагоприятных последствий радиационного и химического воздействия позволяет выявлять генетические маркеры предрасположенности людей к повышенному риску, оценивать совместный вклад генетической компоненты и неблагоприятных воздействий в реализацию радиационных и химических эффектов, проводить сравнение отдельных генетических маркеров для развития этих эффектов у людей, а также оценивать степень выраженности отдельных эффектов при данных условиях облучения с учетом генетической предрасположенности.

Список литературы

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях: Учебное пособие. 3-е изд. — М.: ИКЦ «Академкнига», 2003. — 431 с.
2. Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика. — М.: Медицина, 1984. — 206 с.
3. Спицын В.А., Новорадовский А.Г. Перспективы развития экологической генетики человека // Антропология медицины / Под ред. Т.И. Алексеевой. — М.: Изд.-во МГУ, 1989. — С. 37–52.
4. Спицын В.А., Макаров С.В., Пай Г.В., Бычкова Л.С. // Медицинская генетика. — 2006. — Т. 4. — № 10. — С. 446–453.
5. Флейс Дж. Статистические методы для изучения таблиц долей и пропорций. — М.: Финансы и статистика, 1989. — 319 с.
6. Чумак А.А., Базыка Д.А., Беляева Н.В. и др. // Международный журнал радиационной медицины, 2000. — Т. 1. — № 5. — С. 65–82.
7. Allan J.M., Wild Ch.P., Rollinson S. et al. // PNAS, 2001. — V. 98. — N 20. — H. 11592–11597.
8. Angele S., Romestaing P., Moullan N. et al. // Cancer research, 2003. — V. 60. — P. 8717–8725.
9. Beckman L., Beckman G., Cedergren B. et al. // Hum. Hered., 1985. — V. 35. — N 1. — P. 89–94.
10. Beckman L., Nordens I. // Hum. Hered., 1988. — V. 38. — N 1. — P. 56–58.
11. Bonner M.R., Bennett W.P., Xiong W. et al. // Int. J. Cancer, 2006. — V. 119. — P. 1462–1467.
12. Duell E.J., Millikan R.C., Pittman J.S. et al. // Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev., 2001. — V. 10. — N 3. — P. 217–222.
13. Fan R., Wu M.-T., Miller D. et al. // Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev., 2000. — V. 9. — P. 1037–1042.
14. Genetic susceptibility to cancer ICRP Publication 79 // Annals of the ICRP, 1998. — V. 28. — Issues 1–2. — P. 1–157.
15. Han J., Colditz G.A., Liu J.S., Hunter D.J. // Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev., 2005. — V. 14. — N 6. — P. 1539–1544.
16. Hu L.L., Wain J.C., Miller D.P. et al. // Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev., 2001. — V. 10. — P. 303–309.
17. Hu Z., Wei Q., Wang X., Shen H. // Lung Cancer, 2004. — V. 46. — N 1. — P. 1–10.
18. Hung R.J., Boffetta P., Canzian F. et al. // Cancer Res., 2006. — V. 66. — N 16. — P. 8280–8286.
19. Ito H., Matsuo K., Hamajima N. et al. // Carcinogenesis, 2004. — V. 25. — N 8. — P. 1395–1401.
20. Khoury M.J., Flanders W.D. // Am. J. Epidemiol., 1996. — V. 144. — N 3. — P. 207–213.
21. Li G., Wang Li-E., Chamberlain R.M. et al. // Cancer Research, 2001. — V. 61. — P. 7825–7829.
22. Marin M.S., Lopez-Cima M.F., Garcia-Castro L. et al. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 2004. — V. 13. — N 11. — P. 1788–1793.
23. Millikan R.C., Player J.S., de Cotret A.R. et al. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 2005. — V. 14. — N 10. — P. 2326–2334.
24. Nakachi K., Imai K., Hayashi Sh., Kawajiri K. // Cancer Research, 1993. — V. 53. — P. 2994–2999.
25. Naoe T., Takeyama K., Yokozawa T. et al. // Clin. Cancer Research, 2000. — V. 6. — P. 4091–4095.
26. Perera F.P., Mooney La V.F., Stampfer M. et al. // Carcinogenesis, 2002. — V. 23. — N 10. — P. 1641–1646.
27. RN Zarate R., Arias F., Banderes E. et al. // World J. Gastroenterol., 2006. — V. 12. — N 37. — P. 6032–6036.
28. Sadetzki S., Flint-Richter P., Starinsky S. et al. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 2005. — V. 14. — N 4. — P. 969–976.
29. Schwain B.K., Talukder G., Sharma A. // Med. Biol., 1980. — V. 58. — N 5. — P. 246–263.
30. Seedhouse C., Bainton R., Lewis M. et al. // Clin. Cancer Research, 2004. — V. 10. — P. 2675–2680.
31. Song N., Tan W., Xing D., Lin D. // Carcinogenesis, 2001. — V. 22. — N 1. — P. 11–16.
32. Sugimura H., Wakay K., Genka K. et al. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 1998. — V. 7. — P. 413–417.
33. To-Figuera J., Gene M., Gomez-Catalan J. et al. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 1996. — V. 5. — N 5. — P. 337–342.
34. Zhaug X., Miao X., Liang G. et al. // Cancer Research, 2005. — V. 65. — N 3. — P. 722–726.
35. Zhou W., Liu G., Miller D.P. et al. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 2003. — V. 12. — P. 359–365.
36. Zhu Y., Spitz M.R., Lei L. et al. // Cancer Research, 2004. — V. 64. — P. 6863–6866.
37. Wu X., Shi H., Jiang H. et al. // Carcinogenesis, 1998. — V. 19. — N 1. — P. 93–98.

ИННОВАЦИОННЫЕ МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОРГАНИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРИИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е.Г. ТОЦКАЯ, Т.И. ПОСПЕЛОВА

АНО «Региональный центр высоких медицинских технологий»

Резюме. В статье отражены актуальные вопросы комплексной диагностики онкологических, онкогематологических заболеваний с использованием возможностей современных молекулярно-биологических, генетических методов и привлечением инновационных медико-организационных технологий.

Ключевые слова: комплексная диагностика, онкология, медико-организационные инновации.

INNOVATION MEDICAL TECHNOLOGIES IN ORGANIZATION OF LABORATORY OF MORPHOLOGIC AND MOLECULAR BIOLOGIC DIAGNOSTICS OF MALIGNANCIES

E.G. TOZKAYA, T.I. POSPELOVA

Autonomous non-commercial organization “Regional Center of High Medical Technologies”

Summary. The article reflects up-to-date issues of complex diagnosis of oncological and oncogematological diseases using opportunities of modern molecular biologic and genetic technologies, with application of innovational organizational technologies.

Key words: complex diagnosis, oncological diseases, innovational organizational technologies.

Рост онкологической заболеваемости во всем мире и в РФ обусловил необходимость поиска внутриклеточных мишеней для лечения рака, появление новых молекулярно-биологических технологий воздействия на злокачественные опухоли, динамичное развитие фармацевтического рынка таргетных противоопухолевых препаратов (по данным Европейского общества гематологов ЕНА, Копенгаген, 2008). Основанием для их назначения является определение наличия доступной молекулярно-генетической мишени. Точная диагностика новообразования на молекулярном и генетическом уровне — условие успеха таргетной противоопухолевой терапии [2, 5].

Молекулярные диагностические технологии — важнейший путь инновационного развития онкологии и онкогематологии. Они являются наиболее наукоемкими и востребованными в медицине, к их внедрению проявляют интерес крупные фармацевтические компании, производители лекарственных средств таргетного действия [6, 7]. Целью поддержки ведущими фармацевтическими компаниями качественных диагностических технологий является раннее выявление максимального числа пациентов с показаниями к назначению препаратов. Организация крупных высокотехнологичных лабораторий, построенных на принципах междисциплинарных взаимодействий, обслуживающих сеть лечебных учреждений, а также обеспечение многоуровневого референса, являются залогом качественной диагностики.

Подобные проекты относятся к общемировым тенденциям [1].

Расчет потребности в медицинских услугах по высокотехнологичной морфологической и молекулярно-биологической диагностике в городах Сибирского федерального округа (25 млн жителей), основанный на данных первичной заболеваемости (250–300 больных на 100 тыс. населения в год — опухоли, 1,0–1,5 тыс. человек на 100 тыс. населения в год — предопухолевые состояния, 4–5,5 тыс. на 100 тыс. населения в год — реактивные изменения), показал, что в данных услугах нуждаются порядка 1,5–2 млн человек ежегодно. По данным статистики за год в ЛПУ г. Новосибирска проводят около 200 тысяч операционных и пункционных биопсий. Доминируют низкотехнологичные методы исследования этого материала, при этом в 10–25% случаев остается неизвестным или сомнительным вариант опухолевого процесса. В настоящее время в регионе нет ни одной лаборатории, владеющей всем комплексом технологий морфологической и молекулярной диагностики опухолей. Основной причиной такой ситуации является многолетний остаточный принцип финансирования и недостаток квалифицированных кадров в диагностическом звене. Отсутствие комплексного этапного подхода к диагностике онкологических, гематологических, онкогематологических заболеваний, персональной ответственности за качество и достоверность результатов обследований, взаимосвязи и взаимодействия кли-

нического и диагностического этапов в ведении данной группы пациентов (разрозненность специалистов различных уровней и направлений в решении проблем пациентов по диагностике и контролю качества лечения значимой патологии) — актуальные медико-социальные проблемы сегодняшнего дня [1, 3, 4].

Вышеозначенные предпосылки явились стимулом к мобилизации усилий по созданию на медицинском рынке Сибирского федерального округа структуры, выполняющей морфологические, молекулярно-биологические диагностические и научные исследования, оказывающей консультативно-методические услуги.

В качестве способа решения проблемы была предложена реализация проекта создания региональной лаборатории морфологической и молекулярно-биологической диагностики опухолевых заболеваний и патологии крови с использованием инновационных медико-организационных подходов. Основным принципом организации лаборатории стало объединение методов морфологического, генетического и молекулярно-биологического исследований в единую технологическую линейку в рамках единой лаборатории с комиссионным принципом подготовки заключения о диагнозе. Модель организации предусматривает использование технологий от базовых через специальные к эксклюзивным и высокотехнологичным. Для решения задач клиники интегрируются ведущие специалисты различных профилей, реализуя междисциплинарный подход.

В 2009 году сформировался необходимый комплекс условий для организации в г. Новосибирске высокотехнологичной региональной референс-лаборатории морфологической и молекулярно-биологической диагностики опухолей, предопухолевых заболеваний и патологии крови.

На предпроектном этапе, предшествующем открытию лаборатории, обследовано более 3,5 тыс. человек (опыт производства и реализации услуг по иммуноморфологической диагностике с 2000 года), создан коллектив эксклюзивных специалистов, сформирована сеть ЛПУ-партнеров в городе, Новосибирской области и Сибирском федеральном округе, налажены устойчивые связи с корпоративными клиентами (фармацевтические компании — производители препаратов таргетного действия), получено дорогостоящее оборудование и реактивы. Была сформирована концепция развития и найдена модель лаборатории с учетом опыта ведущих зарубежных клиник, в частности «Зеркальная» лаборатория-аналог — лаборатория диагностики опухолей клиники Барселонского университета. Центр обеспечен методической поддержкой ведущих гематологических и онкологических центров Москвы, Санкт-Петербурга, кафедр Новосибирского и Барнаульского медицинских университетов, главных специалистов Департаментов здравоохранения городского и областного уровней, финансовой поддержкой государственных структур, государственных внебюджетных фондов.

Анализ состояния рынка медицинских услуг в СФО позволяет с высокой долей уверенности прогнозировать высокую востребованность диагностических услуг по высокотехнологичной морфологической и молекулярно-биологической диагностике и окупаемость проекта с коммерческой точки зрения. Динамика развития современных лечебных подходов в клинической практике и научных исследований в области таргетной терапии злокачественных новообразований гарантирует устойчивый рост спроса на данные услуги в перспективе.

Важным аспектом в представленной инновационной модели высокотехнологичной диагностической медицинской помощи является возможность включения образовательной и научной составляющей при поэтапной реализации проекта, создание на базе лабораторий центров профессионального обучения и стажировки медицинских кадров, разработка инновационных научных идей.

Предложенная модель предлагает новый способ комплексного решения задач, характерных для учреждений различного профиля и уровня (лечебных, научных, образовательных) в рамках одной структуры. Формируется качественно новый подход к организации работы сотрудников — через создание эффективно работающих коллективов врачей и исследователей, формирование точек «инновационного роста» в здравоохранении и медицинской науке (наличие устойчивых мотивационных модулей сотрудников, успешная деятельность которых должна сформировать научно-практические школы с принципиально новой методологией). Маневренность и устойчивость на рынке обеспечивается многоканальностью финансирования: средства государственного бюджета, государственных внебюджетных фондов, частных инвесторов.

Создание инновационного высокотехнологичного учреждения здравоохранения, устойчиво функционирующего на рынке медицинских услуг, позволит комплексно, в короткие сроки, качественно решать проблемы диагностики серьезной патологии (гематологические, онкогематологические, онкологические заболевания) при соблюдении принципов социальной справедливости (усредненная цена исследований для различного объема и степени сложности применяемых медицинских технологий), биоэтических и правовых норм на пространстве взаимодействия пациента с системой оказания медицинской помощи (доступность высокотехнологичных методов диагностики для широких масс населения, реализация права выбора поставщика медицинской услуги), предоставит возможность участия государственных структур в решении проблем социально незащищенных слоев населения через системы ОМС и ДЛО. Реализация проекта обеспечит решение актуальных для российского здравоохранения задач внедрения и реализации принципов доказательной медицины в практику, будет способствовать внедрению принципов менеджмента качества в здравоохранении, обеспечит продви-

жение инновационных медицинских и организационных технологий в отечественном здравоохранении, что соответствует «Концепции развития здравоохранения и медицинской науки РФ до 2020 года».

Использованная литература

1. Андреева И.Л., Абрамова И.Ю. К вопросу организации центров современных медицинских технологий в субъектах федерации // Вестник новых медицинских технологий. — 2008. — № 4. — С. 217–219.

2. Антонов В.Г. Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунорезистент-

ности / В.Г. Антонов, В.К. Козлов // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 2. — С. 8–19.

3. Концепция развития здравоохранения и медицинской науки РФ до 2020 года.

4. Кочемасов В.В., Саутина В.О. Организация и координация научных исследований на современном этапе // Трансфузиология. — 2007. — Т. 8. — № 1–2. — С. 26.

5. Fujii T., Yokoyama G., Takahashi H. et al. // Breast Cancer. — 2008. — Vol. 15, № 1. — P. 73–78.

6. Rizzo et al. // Blood. — 2008a. — Vol. 111. — P. 25–41.

7. Rizzo et al. // J. Clin. Oncol. — 2008b. — Vol. 26. — P. 132–149.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФАКТОРЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ СУПРУЖЕСКОЙ ПАРЫ И.Н. ФЕТИСОВА

ФГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Резюме. Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей полиморфизма генов главного комплекса гистосовместимости HLA II класса (*DRB1*, *DQA1*, *DQB1*); фолатного обмена (гены 5,10-метилентетрагидрофолат-редуктазы *MTHFR* и метионин-синтазы-редуктазы *MTRR*) и системы детоксикации (гены семейства глутатион-S-трансфераз *M1*, *T1* и *P1*) в семьях с нормальной репродуктивной функцией, в супружеских парах с первичным бесплодием и первичной привычной потерей беременности ранних сроков. Проведенное исследование позволило определить маркеры предрасположенности к первичному бесплодию и первичной привычной потере беременности ранних сроков в генах системы HLA II класса, фолатного цикла и семейства глутатион-S-трансфераз. Установлена ассоциация между наличием в генотипе женщины низкофункциональных аллелей в генах *MTHFR* и *MTRR*, аллелей *DQA1 0401*, *DQB1 0401*, гаплотипа *DQA1-DQB1 0401-0401* и развитием первичной привычной потери беременности ранних сроков. Показано, что присутствие в генотипе мужчины низкофункциональных аллелей в генах семейства глутатион-S-трансфераз (*M1*, *T1*, *P1*) является фактором риска снижения фертильности и развития первичного бесплодия в супружеской паре.

Ключевые слова: первичное бесплодие, привычная потеря беременности, наследственная предрасположенность, гены системы детоксикации, гены фолатного обмена, главный комплекс гистосовместимости, полиморфизм.

HEREDITARY FACTORS OF VARIOUS REPRODUCTIVE DISORDERS

I.N. FETISOVA

Federal State Institution "Ivanovo V.N. Gorodkov Scientific Research Institute
of Maternity and Childhood, Federal Agency for Health Care and Social Development"

Summary. The aim of this study was investigation of polymorphisms in HLA II class genes (*DRB1*, *DQA1*, *DQB1*), genes of folate metabolism (*MTHFR*, *MTR*, *MTRR*) and detoxication genes (*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*) in couples with normal reproduction, primary infertility and recurrent pregnancy loss. We revealed genetic markers of predisposition for different types of reproductive disorders. Low-functional alleles in *MTHFR* and *MTRR*, *DQA1 0401*, *DQB1 0401* and haplotype *DQA1-DQB1 0401-0401* in women's genotype were associated with early pregnancy loss. Presence of low-functional alleles in GSTs in man's genotype was considered as risk factors for subfertility and primary infertility in couple.

Key words: primary infertility, recurrent pregnancy loss, hereditary predisposition, genes of detoxication, genes of folate metabolism, major histocompatibility complex.

Исследование роли генетических факторов при различных формах нарушения репродуктивной функции (НРФ) в супружеской паре является одним из наиболее перспективных направлений современной генетики и приоритетной областью здравоохранения. В настоящее время бесплодие и невынашивание беременности рассматривают как мультифакториальные заболевания, являющиеся результатом совместного действия множества генетических и средовых факторов, относительная роль которых различна в каждом конкретном случае [3, 15]. Развитие современных методов исследования позволило существенно расширить представление о наследственном генезе нарушения фертильности [4, 5, 7, 11, 16, 17, 30]. Генетический компонент этиологии и патогенеза нарушения репродукции включает не только эффект генных и хромосомных мутаций,

связанных с изменением непосредственно наследственного материала, но и генетические факторы предрасположенности, которые при взаимодействии со средовыми обуславливают развитие целого ряда состояний, в частности, эндокринопатии, тромбофилии, иммунопатологию, пороки развития половой сферы, генитальный инфантилизм и др. Таким образом, генетический механизм возникновения мультифакториальных заболеваний, в частности, различных форм нарушения репродукции, является наиболее сложным, так как в основе его лежат различные комбинации аллельных вариантов многих генов, получившие название генных сетей [3]. Определение генной сети мультифакториального заболевания, идентификация в ней центральных генов и генов-модификаторов, анализ ассоциации их полиморфизмов с определенным заболеванием, разработка на

этой основе комплекса профилактических мероприятий для пациента являются важными задачами современной медицинской науки.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей полиморфизма генов главного комплекса гистосовместимости HLA II класса (*DRB1*, *DQA1*, *DQB1*); фолатного обмена (гены 5,10-метилентетрагидрофолат-редуктазы *MTHFR* и метионин-синтазы-редуктазы *MTRR*) и системы детоксикации (гены семейства глутатион-S-трансфераз *M1*, *T1* и *P1*) в семьях с нормальной репродуктивной функцией, в супружеских парах с первичным бесплодием (St I) и первичной привычной потерей беременности ранних сроков (ППБ).

Основную группу составили 235 супружеских пар с нарушенной репродукцией: 155 семей с первичным бесплодием (при исключении первичной аменореи и трубного бесплодия у женщины) и 80 семей с первичной привычной потерей беременности ранних сроков, под которой подразумевалось самопроизвольное прерывание двух и более беременностей до 12 недель при отсутствии в анамнезе указаний на роды, медицинские аборт, внематочную беременность. Контрольную группу составили 57 супружеских пар, имеющих одного и более здорового ребенка при указании на нормально протекавшие у женщины беременность и роды. У всех обследованных были исключены численные и структурные аномалии кариотипа.

У женщин из семей с первичным бесплодием не было отмечено достоверных отличий от здоровой выборки в характере распределения аллелей и генотипов в генах семейства глутатион-S-трансфераз. Однако у пациенток с первичным бесплодием достоверно чаще, чем у здоровых женщин, наблюдались следующие сочетания: генотипа *GSTT1* 0/0 и отсутствия делеции в гене *GSTM1* (11,0 и 1,8% соответственно, $p = 0,04$, OR = 4,6 (1,1–20,0)), генотипов *GSTT1* 0/0 и *GSTP1* A/B (15,0 и 3,8% соответственно, $p = 0,047$, OR = 3,7 (1,0–13,0)), а также генотипа *GSTT1* 0/0, *GSTP1* A/– и отсутствия делеции в гене *GSTM1* (8,8 и 0,0% соответственно, $p = 0,042$, OR = 10,7 (1,3–89,3)). В генах фолатного цикла у женщин с первичным бесплодием по сравнению с контролем отмечалось некоторое увеличение частоты встречаемости аллеля *MTHFR* 677T, однако разница не была статистически значимой (28,1 и 18,3% соответственно, $p = 0,056$). У пациенток с St I по сравнению со здоровыми женщинами было выявлено достоверное увеличение частоты одновременного носительства низкофункциональных аллелей 677T и 66G в генах *MTHFR* и *MTRR* (43,3 и 26,0% соответственно, $p = 0,038$, OR = 2,1 (1,0–4,3)). Анализ особенностей генов HLA II класса не выявил статистически значимых отличий от контрольной группы.

У мужчин в парах с первичным бесплодием по сравнению с контролем было отмечено достоверное увеличение частоты «нулевого» варианта в гене *GSTM1* (54,1 и 32,1% соответственно, $p = 0,01$, OR = 2,5 (1,2–4,9)), а также сочетания генотипов *GSTM1* 0/0 и *GSTP1* B/–

(27,8 и 7,4% соответственно, $p = 0,005$, OR = 4,4 (1,6–12,0)). Анализ полиморфизма генов фолатного цикла и генов HLA II класса у мужчин из бесплодных браков не выявил отличий от группы репродуктивно здоровых мужчин.

У женщин с первичной привычной потерей беременности ранних сроков по сравнению с контролем было отмечено достоверное увеличение частоты сочетания генотипов *GSTM1* 0/0 и *GSTP1* C/– (8,5 и 0,0% соответственно, $p = 0,047$, OR = 10,9 (1,2–95,8)). Анализ полиморфизма генов фолатного цикла и генов HLA II класса у женщин с первичной ППБ ранних сроков показал значительные отличия от контрольной группы. Так, у пациенток с ППБ по сравнению со здоровыми женщинами имело место статистически значимое увеличение частоты встречаемости низкофункционального аллеля 677T в гене *MTHFR* (34,5 и 18,3% соответственно, $p = 0,007$, OR = 2,3 (1,3–4,3)), генотипов 677C/T + 677T/T в гене *MTHFR* (58,6 и 34,6% соответственно, $p = 0,012$, OR = 2,6 (1,2–5,6)), а также одновременного носительства аллелей *MTHFR* 677T и *MTRR* 66G (46,6 и 26,0% соответственно, $p = 0,027$, OR = 2,4 (1,1–5,3)). Достоверно чаще по сравнению с контролем были отмечены аллели *DQA1* 0401 (7,3 и 1,0% соответственно, $p = 0,045$, OR = 5,9 (1,3–27,2)) и *DQB1* 0401 (7,3 и 1,0% соответственно, $p = 0,045$, OR = 5,9 (1,3–27,2)). При привычной потере беременности у женщин по сравнению с группой здоровых женщин достоверно чаще выявлялся гаплотип *DQA1-DQB1* 0401-0401 (7,3 и 1,0% соответственно, $p = 0,045$, OR = 5,9 (1,3–27,2)).

У мужчин из семей с ППБ анализ полиморфизма генов семейства глутатион-S-трансфераз, фолатного цикла и системы HLA II класса выявил крайне немногочисленные отличия от контрольной группы. Так, достоверное увеличение частоты встречаемости было отмечено только относительно генотипа B/C в гене *GSTP1* (8,9 и 0,0% соответственно, $p = 0,038$, OR = 12,0 (1,4–104,5)). Особенности полиморфизма генов фолатного цикла и системы HLA II класса установлено не было.

В последние годы в литературе появились сообщения о негативной роли повышенного числа совпадений по локусам системы HLA у супругов в реализации репродуктивной функции в паре. По данным ряда авторов, увеличение количества совпадений обуславливает повышенный риск самопроизвольного прерывания беременности [4, 14]. Система генов главного комплекса гистосовместимости (у человека это лейкоцитарные антигены — Human Leukocyte Antigens — HLA) осуществляет генетический контроль за развитием специфического иммунного ответа и участвует в поддержании иммунного гомеостаза организма [1]. Полигенность и полиморфизм генов комплекса HLA обуславливает широкое разнообразие индивидуумов по антигенам МНС. Уникальность белков комплекса гистосовместимости в определенной мере играет роль при формировании различной степени чувствительности организма

к этиологическим факторам многих видов патологии. Широко дискутируется проблема аллоиммунных отношений при беременности с учетом совместимости супругов и, соответственно, матери и плода по антигенам системы HLA [8, 10].

В настоящем исследовании был проведен анализ количества и качества совпадений аллелей в локусах *DRB1*, *DQA1* и *DQB1* в супружеских парах с первичным бесплодием ($n = 39$), первичной привычной потерей беременности ранних сроков ($n = 41$) и в репродуктивно здоровых семьях ($n = 52$) в популяции Ивановской области. В исследуемых группах семей с St I и ППБ достоверных отличий от контрольной группы по числу пар, где супруги имели идентичные аллели в одном, двух или трех локусах, выявлено не было. Так, совпадение по одному аллелю у супругов с St I, ППБ и в контроле имело место соответственно в 23,1, 31,7 и 30,8% семей; по двум — в 23,1, 17,4 и 15,4% семей; по трем — в 28,2, 24,4 и 28,8% семей. При анализе попарного совпадения указанных локусов в исследуемых группах также отсутствовали статистически значимые отличия от здоровой выборки. Совпадение супругов по локусу *DRB1* было выявлено в 13 парах с St I (33,3%) и 20 парах здоровой выборки (38,5%); анализ аллельных вариантов этих совпадений показал, что аллель *DRB1 07* имеют оба супруга 30,8% семей с бесплодием и только 5,0% пар контроля ($p = 0,066$). В группе с ППБ отличий от контроля по количеству пар, имеющих совпадение в локусе *DRB1* (39,0 и 38,5% соответственно), а также в аллельных вариантах этих совпадений не выявлено. Совпадение супругов по локусу *DQA1* было определено в 27 парах с St I (60,0%), 22 парах с ППБ (53,7%) и 33 парах контроля (63,5%). При этом среди бесплодных семей в большинстве случаев (40,7%) оба супруга имели аллель *DQA1 0102*, в то время как в репродуктивно здоровой выборке идентичность по данному аллелю определялась лишь у 18,2% пар ($p = 0,054$). В семьях с ППБ значимые отличия от контроля по аллельным вариантам совпадений в локусе *DQA1* выявлены не были. Количество пар, в которых супруги совпадали по локусу *DQB1*, во всех группах было сходным (54,5, 46,3, 46,2% при St I, ППБ и в контроле соответственно). Не выявлено также отличий по видам совпадающих аллелей в данном локусе у супругов разных групп. Таким образом, в настоящем исследовании показано, что совпадение супругов по аллелям HLA II класса не является фактором риска нарушения репродуктивной функции в супружеской паре.

Полученные нами данные свидетельствуют о возможной ассоциации между выявленными особенностями полиморфизма генов системы детоксикации, фолатного цикла, комплекса HLA II класса и нарушением репродукции в супружеской паре. Согласно результатам настоящего исследования у супругов с нарушенной репродуктивной функцией наблюдается увеличение частоты встречаемости низкофункциональных аллелей

в генах семейства глутатион-S-трансфераз, которое максимально выражено у мужчин в бесплодных браках. Как известно, ферменты семейства глутатион-S-трансфераз участвуют во втором этапе процесса детоксикации ксенобиотиков [3]. Дефект ферментативных систем, участвующих в инактивации токсических метаболитов, вероятно, негативно сказывается на процессах гаметогенеза, что приобретает особое значение в условиях современного экологического неблагополучия. Вместе с тем, нельзя исключить нарушение процесса плацентации вследствие снижения детоксикационной функции плаценты при наличии у женщины мутантных аллелей в генах метаболизма.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что присутствие низкофункциональных аллелей в генах фолатного цикла, возможно, является фактором риска самопроизвольного прерывания беременности. Причем можно предположить наиболее неблагоприятное влияние на репродукцию именно женского организма для полиморфизма 677T в гене *MTHFR*. Согласно нашим данным, у женщин с первичным бесплодием наблюдается лишь некоторое увеличение частоты аллеля *MTHFR 677T*, в то время как у пациенток с ППБ по сравнению с контролем разница в частотах аллеля *MTHFR 677T* является статистически значимой. Как известно, 5,10-метилентетрагидрофолат-редуктаза является ключевым ферментом в процессе синтеза метионина из гомоцистеина [6]. Гомо- и гетерозиготное носительство аллеля 677T обуславливает снижение активности энзима и, соответственно, приводит к развитию гипергомоцистеинемии. Повышение уровня содержания гомоцистеина является фактором риска развития тромбофилических осложнений, вероятность которых еще более повышается в период беременности вследствие перестройки свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем организма [2, 12, 13, 28]. Тромбофилический и атерогенный эффекты гипергомоцистеинемии проявляются в нарушении плацентации и прерывании беременности [4, 20, 22, 23]. Возможно, в ряде случаев данный патогенетический механизм имеет место при нарушении имплантации и очень ранней гибели плодного яйца, которая остается недиагностированной и проходит под маской бесплодия. Однако можно предположить, что среди массы факторов, обуславливающих женское бесплодие, наследственные тромбофилии хотя и играют определенную роль, но уступают по значимости другим факторам; в то время как среди причин прерывания беременности они имеют более актуальное значение.

Для выяснения роли полиморфизма генов фолатного цикла в развитии гипергомоцистеинемии нами было проведено определение базового уровня общего гомоцистеина (ГЦ) в плазме крови у 29 женщин с ППБ вне состояния беременности. Выявлена тенденция увеличения показателя среднего уровня содержания ГЦ в плазме крови у пациенток с ППБ в зависимости от «дозы»

аллеля 677Т в гене *MTHFR*. Отсутствие статистической достоверности, возможно, обусловлено небольшими размерами выборки. Тем не менее, можно отметить, что самый высокий уровень гомоцистеина в сыворотке крови (45,47 и 29,08 мкмоль/л при норме до 15,00 мкмоль/л) наблюдался у женщин с генотипом *MTHFR* 677 Т/Т, причем в одном случае он сочетался с генотипом 1298А/А в гене *MTHFR* и 66А/А в гене *MTRR*, в другом — с генотипом 1298А/А в гене *MTHFR* и 66А/С в гене *MTRR*. Вероятно, умеренная гипергомоцистеинемия связана именно с гомозиготным вариантом полиморфизма гена *MTHFR* С677Т. Можно предположить, что аллель 677Т в гене *MTHFR* играет большую роль при синдроме потери плода, чем аллели *MTHFR* 1298С и *MTRR* 66С, именно вследствие того, что влияет на уровень содержания ГЦ в плазме крови и обуславливает развитие тромбофилических осложнений. Результаты настоящего исследования согласуются с мнением ряда авторов. Так, по данным Е.Н. Калашниковой и С.Н. Кокаровцевой (2005), у женщин с привычным невынашиванием беременности выявляется прямая корреляция значений гомоцистеина с «дозой» аллеля 677Т в гене *MTHFR*, хотя авторы не выявили достоверных отличий в частотах гомо- и гетерозиготных генотипов в гене *MTHFR* у здоровых женщин и пациенток с привычным невынашиванием беременности.

Вместе с тем, негативного влияния на мужскую фертильность, низкофункциональные аллели в генах фолатного цикла, вероятно, не оказывают. В доступной нам литературе мы встретили лишь два исследования с противоположными выводами, посвященные анализу полиморфных вариантов гена 5,10-метилентетрагидрофолат-редуктазы у мужчин с олиго- и азооспермией [26, 27]. Вероятно, наличие мутантных аллелей у отца имеет значение лишь при формировании генотипа плода. По данным ряда авторов, присутствие у плода неблагоприятных аллелей в генах фолатного цикла вследствие изменения профиля метилирования ДНК может оказывать негативное влияние на процесс деления и дифференцировки клеток развивающегося организма [18, 21, 24, 29]. Подтверждением этой гипотезы служит факт достоверного увеличения частоты носительства низкофункциональных аллелей в генах *MTHFR* и *MTRR* обоими супругами в парах с ППБ, что было продемонстрировано в нашем исследовании. Так, в группе семей с ППБ у 12% обследованных пар оба супруга имели сочетание *MTHFR* 677С/- + *MTRR* 66С/С при отсутствии таких семей в контрольной группе ($p = 0,028$, $OR = 13,0$ (1,6–108,0)); комбинация *MTHFR* 677С/Т + *MTRR* 66С/- в группах с ППБ и в контроле была выявлена соответственно в 14,0 и 2,3% случаев ($p = 0,063$). Недостаточная активность ферментов фолатного обмена может быть причиной снижения метилирования не только в соматических клетках эмбриона, но и в половых клетках. Изменение профиля метилирования центромерных районов хромосом в процессе гаметогенеза, возможно, способствует

нарушению расхождения гомологов в мейозе, формированию несбалансированных гамет и возникновению анеуплоидии у плода [19, 25]. Результатом хромосомного дисбаланса у плода является или самопроизвольное прерывание беременности, иногда на самых ранних стадиях эмбриогенеза, что протекает под маской бесплодия, или формирование пороков развития.

Таким образом, проведенное исследование позволило определить маркеры предрасположенности к первичному бесплодию и первичной привычной потере беременности ранних сроков в генах системы HLA II класса, фолатного цикла и семейства глутатион-S-трансфераз. Установлена ассоциация между наличием в генотипе женщины низкофункциональных аллелей в генах *MTHFR* и *MTRR*, аллелей *DQA1* 0401, *DQB1* 0401, гаплотипа *DQA1-DQB1* 0401-0401 и развитием первичной привычной потери беременности ранних сроков. Показано, что присутствие в генотипе мужчины низкофункциональных аллелей в генах семейства глутатион-S-трансфераз (*M1*, *T1*, *P1*) является фактором риска снижения фертильности и развития первичного бесплодия в супружеской паре.

Список литературы

1. Акопян А.В. Иммунологические и иммуногенетические аспекты периодической болезни / А.В. Акопян, Л.П. Алексеев, Р.М. Хаитов // Иммунология. — 1998. — № 1. — С. 4–6.
2. Баймурадова С.М. АФС и генетические формы тромбофилии у беременных с гестозами / С.М. Баймурадова, В.О. Бицадзе, Т.Е. Матвеева, О.С. Аляутдина, Л.И. Патрушев, А.Д. Макария // Акушерство и гинекология. — 2004. — № 2. — С. 21–27.
3. Баранов В.С. Геном человека и гены «предрасположенности» (Введение в предиктивную медицину) / В.С. Баранов, Е.В. Баранова, Т.Э. Иващенко, М.В. Асеев. — СПб.: Интермедика, 2000. — 272 с.
4. Бескоровайная Т.С. Влияние некоторых генетических факторов на нарушение репродукции у человека: Дис. ... канд. мед. наук / Т.С. Бескоровайная. — М., 2005. — 89 с.
5. Беспалова О.Н. Генетические факторы предрасположенности к привычному невынашиванию беременности ранних сроков / О.Н. Беспалова, О.Н. Аржанова, Т.Э. Иващенко и др. // Журн. акушерства и женских болезней. — 2001. — № 2. — С. 8–13.
6. Зайчик А.Ш. Основы патохимии: Учебник для студентов медицинских вузов / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. — СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2001. — 688 с.
7. Иващенко Т.Э. Анализ полиморфных аллелей генов, кодирующих ферменты 1-й и 2-й фазы детоксикации, у больных эндометриозом / Т.Э. Иващенко, Н.Ю. Швед, Н.Л. Крамарева и др. // Генетика. — 2003. — Т. 39, № 4. — С. 525–529.
8. Иммунологическая загадка беременности / Под ред. Н.Ю. Сотниковой. — Иваново: МИК, 2005. — 276 с.
9. Калашникова Е.А. Ассоциация наследственных факторов тромбофилии с невынашиванием беременности у женщин в русской популяции / Е.А. Калашникова, С.Н. Кокаровцева // Медицинская генетика. — 2005. — № 8. — С. 386–391.
10. Коненков В.И. Медицинская и экологическая иммуногенетика / В.И. Коненков. — Новосибирск, 1999. — 250 с.
11. Кузнецова Т.В. Комплексный подход к цитогенетике эмбрионального развития человека: Дис. ... д-ра мед. наук / Т.В. Кузнецова. — СПб., 2000.

12. Макацария А.Д. Тромбофилические состояния в акушерской практике / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе. — М.: Russo, 2001.
13. Мухин Н.А. Гипергомоцистеинемия как фактор риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы / Н.А. Мухин, С.В. Моисеев, В.В. Фомин // Клиническая медицина. — 2001. — № 6. — С. 7–14.
14. Серова Л.Д. Иммунологический HLA-статус у женщин с привычным невынашиванием и бесплодием неясного генеза: Пособие для врачей / Л.Д. Серова и др. — М., 1997.
15. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности / В.М. Сидельникова — М.: Триада-Х, 2002. — 304 с.
16. Carp H. Prevalence of genetic markers for thrombophilia in recurrent pregnancy loss / H. Carp, O. Salomon, D. Seidman, R. Dardik et al. // Hum. Reprod. — 2002. — Vol. 17(6). — P. 1633–1637.
17. Coulam C. Update on recurrent pregnancy loss / C. Coulam // Am. J. Reprod. Immunol. — 2004. — Vol. 51. — P. 459–460.
18. Fell D. Disruption of thymidylate synthesis and glycine-serine interconversion by L-methionine and L-homocystine in Raji cells / D. Fell, J. Selhub // Biochim. Biophys. Acta. — 1990. — Vol. 1033. — P. 80–84.
19. Hobbs C.A. Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism as Maternal Risk Factors for Down Syndrome / C.A. Hobbs, S.L. Sherman, P. Yi et al. // Am. J. Hum. Genet. — 2000. — Vol. 67. — P. 623–630.
20. Hohlagschwandtner M. Combined thrombophilic polymorphisms in women with idiopathic recurrent miscarriage / M. Hohlagschwandtner, G. Unfried, G. Heinze et al. // Fertil. Steril. — 2003. — Vol. 79 (5). — P. 1141–1148.
21. Isotalo P.A. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations / P.A. Isotalo, G.A. Wells, J.G. Donnelly // Am. J. Hum. Genet. — 2000. — Vol. 67 — P. 986–990.
22. Kumar K.S. Plasma homocysteine levels correlated to interactions between folate status and methylene tetrahydrofolate reductase gene mutation in women with unexplained recurrent pregnancy loss / K.S. Kumar, V. Govindaiah, S.E. Naushad et al. // J. Obstet. Gynaecol. — 2003. — Vol. 23. — P. 55–58.
23. Lissak A. Polymorphism for mutation of cytosine to thymine at location 677 in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with recurrent early fetal loss / A. Lissak, A. Sharon, O. Fruchter et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. — 1999. — Vol. 181. — P. 126–130.
24. Motulsky A.G. Nutritional ecogenetics: homocysteine-related arteriosclerotic vascular disease, neural tube defects, and folic acid. (Editorial) / A.G. Motulsky // Am. J. Hum. Genet. — 1996. — Vol. 58. — P. 17–20.
25. O'Leary V.B. MTRR and MTHFR polymorphism: link to Down syndrome? / V.B. O'Leary, A. Parle-McDermott, A.M. Molloy et al. // Am. J. Med. Genet. — 2002. — Vol. 107. — P. 151–155.
26. Singh K. Mutation C677T in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with male infertility in an Indian population / K. Singh, S.K. Singh, R. Sah et al. // Int. J. Androl. — 2005. — Vol. 28, N 2. — P. 115–119.
27. Stuppia L. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and male infertility in Italy / L. Stuppia, V. Gatta, O. Scarsiolla et al. // Endocrinol. Invest. — 2003. — Vol. 26, N 7. — P. 620–622.
28. Undas A. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C / A. Undas, E.B. Williams, S. Butenas et al. // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276. — P. 4389–4397.
29. Zetterberg H. No association between the MTHFR A1298C and transcobalamin C776G genetic polymorphisms and hyperhomocysteinemia in thrombotic disease / H. Zetterberg, A. Coppola, A. D'Angelo et al. // Thromb. Res. — 2002. — Vol. 108. — P. 127–131.
30. Zusterzeel P.L.M. Polymorphisms in biotransformation enzymes and the risk for recurrent early pregnancy loss / P.L.M. Zusterzeel, W.L.D.M. Nelen, H.M.J. Roelofs et al. // Mol. Hum. Reprod. — 2000. — Vol. 6, N 5. — P. 474–478.

СОСТОЯНИЕ ГЕМОСТАЗА, МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОВТОРНЫХ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ТРОМБОТИЧЕСКОГО ХАРАКТЕРА У СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ БОЛЬНЫХ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Н.Ю. ШИМОХИНА¹, М.М. ПЕТРОВА¹, А.А. САВЧЕНКО²

¹ ГОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздравсоцразвития РФ»

² НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН

Резюме. В остром и раннем восстановительном периодах ишемического инсульта проведено исследование гемостаза и определение уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ тромбоцитов 90 больным гипертонической болезнью в сочетании с ишемической болезнью сердца. Предложен способ прогнозирования развития повторных цереброваскулярных осложнений тромботического характера (острое нарушение мозгового кровообращения, транзиторная ишемическая атака, острый инфаркт миокарда, тромбоз сосудов).

Ключевые слова: цереброваскулярные осложнения, гемостаз, метаболизм тромбоцитов.

THE HEMOSTASIS, PLATELET METABOLISM AND PROGNOSTICATION OF REPEATED CEREBROVASCULAR THROMBOTIC COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR DISEASE IN THE ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC STROKE

N.YU. SHIMOHINA¹, M.M. PETROVA¹, A.A. SAVCHENKO²

¹ State Educational Institution of Higher Professional Education "Krasnoyarsk State prof. V.F. Voino-Yasenetski Medical University, Ministry of Health Care and Social Development"

² State Scientific Medical Research Institute for Northern Problems SD RAMS

Summary. The investigation of a hemostasis system and activity of NAD- and NADP-dependent platelet dehydrogenases was performed in 90 patients with hypertension and coronary heart disease in the acute and early rehabilitation period of ischemic stroke. The method of prognosis of repeated thrombotic complications development (the acute stroke, transitory ischemic attack, acute myocardial infarction, vessel thrombosis) is proposed.

Key words: cerebrovascular complications, hemostasis, platelet metabolism.

Введение

Церебральные сосудистые катастрофы являются частым и тяжелым осложнением артериальной гипертонии и ишемической болезни сердца (ИБС): ежегодно в России наблюдается 400 тыс. новых случаев заболевания инсультом [5]. Среди всех острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) подавляющее большинство составляют ишемические инсульты (развиваются в 4–5 раз чаще, чем геморрагические) [3, 4]. Одними из основных патогенетических механизмов осложненного течения гипертонической болезни (ГБ), атеросклероза и ИБС являются эндотелиальная дисфункция, протромботическое состояние крови, гемостатическая активация вплоть до развития тромбоза, что, в конечном итоге, может приводить к возникновению ишемического инсульта (ИИ) [6]. Изменение функционального состояния тромбоцитов, биоэнергетических и пластических процессов, происходящих в этих клетках, имеет непосредственное отношение к системе

гемостаза. К числу показателей, наиболее объективно отражающих основные параметры внутриклеточного метаболизма, можно отнести дегидрогеназы [2, 8].

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение особенностей гемостаза и метаболизма тромбоцитов у больных ГБ в сочетании с ИБС в остром и раннем восстановительном периодах ИИ, а также возможностей прогнозирования развития повторных цереброваскулярных осложнений у этих пациентов в остром периоде ИИ.

Материалы и методы

В остром и раннем восстановительном периодах ИИ обследовано 90 пациентов, страдающих ГБ и ИБС (средний возраст $58 \pm 7,02$ лет, 53 мужчин и 37 женщины). Все пациенты имели сопутствующую сердечно-сосудистую патологию: гипертоническую болезнь (100% пациентов) в сочетании со стабильной стенокардией напряжения I, II и III функционального класса (87,8% пациентов).

Показатели коагуляционного гемостаза у больных с церебральными осложнениями ГБ в сочетании с ИБС в различные периоды ИИ (Ме; С₂₅–С₇₅)

Показатели	Контроль, n = 35	Больные ишемическим инсультом		
		1-е сутки, n = 90	14-е сутки, n = 90	3 месяца, n = 89
Фибриноген, г/л	2,81 2,49–3,16	3,54 3,09–3,79 p ₁ < 0,001	3,67 3,12–4,11 p ₁ < 0,001	3,41 2,71–3,89 p _{1,3} < 0,05
Д-димер, нг/мл	220,00 220,00–230,00	350,00 220,00–500,00 p ₁ < 0,001	300,00 220,00–610,00 p ₁ < 0,001	400,00 400,00–620,00 p ₁ < 0,001
РФМК, мг %	9,00 7,50–12,00	14,25 11,00–17,00 p ₁ < 0,001	14,00 11,00–19,00 p ₁ < 0,001	12,00 10,00–15,00 p _{1,2,3} < 0,001
Антитромбин III, %	98,0 93,0–102,0	92,0 86,0–99,0	95,5 88,0–102,0	97,0 86,0–102,0 p ₂ < 0,05
МНО	1,01 0,97–1,05	1,07 1,02–1,12 p ₁ < 0,001	1,02 1,01–1,09 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,001	1,00 0,96–1,05 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,05
АЧТВ, сек	35,70 33,40–37,30	34,15 32,40–37,50	35,90 33,20–37,80	35,30 33,40–36,80

Примечание: p₁ — достоверное различие с контрольными показателями;
p₂ — достоверное различие с показателями пациентов в 1-е сутки ИИ;
p₃ — достоверное различие с показателями пациентов на 14-е сутки ИИ.

22 (24,4%) больных имели постинфарктный кардиосклероз, 12 (13,3%) — постоянную форму фибрилляции предсердий, 15 (16,7%) — пароксизмальную форму мерцательной аритмии. Инсульт в анамнезе имелся у 32 больных (35,6%), транзиторную ишемическую атаку (ТИА) перенесли 11 (12,2%) человек. До госпитализации пациенты не принимали дезагреганты. В стационаре 85 человек (94,4%) получали ацетилсалициловую кислоту (АСК) в дозе 125 мг/сутки. Исследование системы гемостаза и метаболической активности тромбоцитов проводилось в первые 24 часа после развития ИИ и через 14 суток в стационаре. Эти же пациенты (89 человек) обследованы через 3 месяца. В качестве контроля обследовано 35 человек (15 мужчин и 20 женщин), средний возраст 54 ± 5,4 года без кардиальной и церебральной патологии.

Исследовались следующие показатели плазменного гемостаза: содержание фибриногена, международное нормализованное отношение (МНО), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), уровень Д-димера, растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) по ортофенантролиновому тесту, определялся уровень физиологического антикоагулянта анти-тромбина III (АТ III) [1].

Изучались показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза: подсчет числа тромбоцитов, спонтанная агрегация тромбоцитов (САТ) и индуцированная, с при-

менением в качестве индукторов аденозиндифосфата (АДФ) в дозах 0,1 мкМ и 5 мкМ и адреналина в дозе 10 мкг/мл на агрегометре «LA230-2 БИОЛА». Определялась концентрация фактора Виллебранда (фВ) в плазме крови [1].

Биолюминесцентным методом определялись уровни активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в тромбоцитах на биолюминометре «БЛМ-8803» (СКТБ «Наука», г. Красноярск). Определялась активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (НАДФ-МДГ), НАД- и НАДН-зависимой лактатдегидрогеназы (НАД-ЛДГ и НАДН-ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимой малатдегидрогеназы (НАД-МДГ и НАДН-МДГ), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФ-ГДГ и НАДФН-ГДГ), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАД-ГДГ и НАДН-ГДГ), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАД-ИЦДГ и НАДФ-ИЦДГ) и глутатионредуктазы (ГР). Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах (Е) на 1 мг белка (1 Е = 1 мкмоль/мин) [2].

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Ме) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (С₂₅ и С₇₅). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали

Показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза больных с церебральными осложнениями ГБ в сочетании с ИБС ИИ (Ме; С₂₅-С₇₅)

Показатели	Контроль, n = 35	Больные ишемическим инсультом		
		1-е сутки, n = 90	14-е сутки, n = 90	3 месяца, n = 89
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	198,00 187,00–240,00	226,00 191,00–269,50	230,50 204,00–264,00 p ₁ < 0,05	226,00 205,00–239,00 p ₁ < 0,05
САТ, усл. ед.	1,20 1,04–1,58	1,35 1,14–1,58 p ₁ < 0,05	1,34 1,11–1,93	1,44 1,22–1,90 p ₁ < 0,001 p _{2,3} < 0,05
АТ с АДФ 5 мкМ, %	43,7 21,8–55,9	29,4 21,6–44,2 p ₁ < 0,05	26,2 17,8–34,7 p ₁ < 0,001	33,1 20,2–44,2 p ₁ < 0,05
АТ с АДФ 0,1 мкМ, усл. ед.	1,54 1,20–2,02	1,65 1,27–2,03	1,62 1,41–2,18	1,70 1,37–2,50 p _{1,3} < 0,05 p ₂ < 0,001
АТ с адреналином 10 мкг/мл, %	46,0 16,7–50,6	25,8 15,7–37,6 p ₁ < 0,05	16,4 11,2–22,6 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05	20,5 9,2–28,7 p ₁ < 0,05
Фактор Виллебранда, %	110,0 98,0–127,0	140,0 120,0–158,0 p ₁ < 0,001	145,5 124,0–169,0 p ₁ < 0,001	135,0 124,0–145,0 p ₁ < 0,001

Примечание: то же, что и для таблицы 1.

по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Различия между исследуемыми показателями гемостаза, а также между уровнями НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ на различных этапах обследования определяли по U критерию Вилкоксона. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

Результаты и обсуждение

В результате исследования плазменного гемостаза у больных с осложненным течением ГБ и ИБС в остром периоде ИИ мы обнаружили стойкую гиперфибриногемиию. Через 3 месяца уровень фибриногена оставался повышенным, однако наблюдается снижение этого показателя относительно острого периода инсульта. На выраженную активацию внутрисосудистого свертывания с последующим фибринолизом у пациентов как в остром, так и в раннем восстановительном периодах ИИ указывает наличие высоких уровней РФМК, Д-димера, ТВ и ПТИ (табл. 1). При оценке показателей сосудисто-тромбоцитарного гемостаза обращает на себя внимание повышение САТ в первые сутки ОНМК и у пациентов через 3 месяца. В раннем восстановительном периоде инсульта агрегация тромбоцитов в ответ на АДФ в низкой концентрации — 0,1 мкМ превышала не

только значения контроля, но и показатели больных в остром периоде ИИ. При использовании низких концентраций агонистов агрегации определяется тот минимальный их порог, на который реагируют исследуемые тромбоциты. Чем ниже этот порог, тем значительнее наклонность тромбоцитов к тромбообразованию [1]. На фоне приема АСК агрегация тромбоцитов, индуцированная адреналином в дозе 10 мкг/мл и АДФ 5 мкМ в остром и раннем восстановительном периодах ИИ была ниже контрольных значений. На всех этапах гемостазиологического обследования установлено значительное повышение уровня фактора Виллебранда (табл. 2).

Тромбоциты играют ключевую роль в системе гемостаза, их функциональная активность во многом зависит от состояния метаболической системы клеток. Исследование оксидоредуктаз тромбоцитов позволяет охарактеризовать состояние основных биоэнергетических и пластических процессов в клетках. Нами установлено, что в 1-е сутки ИИ повышается активность Г6ФДГ (табл. 3). Г6ФДГ является ключевым и инициализирующим ферментом пентозофосфатного цикла, от активности которого зависит ряд пластических процессов [2, 7]. Функционирование дыхательной цепи связано с уровнем водородного градиента митохондрий. Основной системой, определяющей водородный градиент,

Таблица 3

Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) тромбоцитов у больных с церебральными осложнениями ГБ в сочетании с ИБС (Ме; С₂₅-С₇₅)

Показатели	Контроль, n = 35	Больные ишемическим инсультом		
		1-е сутки, n = 90	14-е сутки, n = 90	3 месяца, n = 89
Г6ФДГ	43,70 19,20–978,80	326,90 81,95–1339,90 p ₁ < 0,05	248,00 30,58–1020,83 p ₁ < 0,05	325,65 58,97–2224,83 p ₁ < 0,05
НАДФ-МДГ	5,94 2,23–17,42	3,52 0,00–44,29	3,15 0,00–46,77	1,25 0,14–8,24
НАДФ-ГДГ	3,01 0,15–10,10	0,00 0,00–4,16 p ₁ < 0,05	2,14 0,00–6,52	0,31 0,00–6,56
НАДФ-ИЦДГ	85,82 37,05–160,23	10,49 0,00–68,09 p ₁ < 0,01	17,61 2,79–63,65 p ₁ < 0,01	44,79 7,36–120,00 p ₃ < 0,05
ГР	13,25 0,30–35,18	8,72 2,57–45,00	5,90 1,70–15,51	9,79 5,91–14,11
НАДФН-ГДГ	116,16 33,37–293,96	22,49 14,32–163,93 p ₁ < 0,05	16,82 7,12–26,30 p ₁ < 0,001	47,65 27,11–91,52

Примечание: p₁ – достоверное различие с контролем;
p₂ – достоверное различие с показателями пациентов в 1-е сутки ИИ;
p₃ – достоверное различие с показателями пациентов на 14-е сутки ИИ.

Таблица 4

Активность НАД-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) тромбоцитов у больных с церебральными осложнениями ГБ в сочетании с ИБС (Ме; С₂₅-С₇₅)

Показатели	Контроль, n = 35	Больные ишемическим инсультом		
		1-е сутки, n = 90	14-е сутки, n = 90	3 месяца, n = 89
ГЗФДГ	30,08 4,89–86,00	4,35 0,00–52,05	8,66 3,34–29,24	0,00 0,00–25,31 p ₁ < 0,05
ЛДГ	1412,06 764,81–2874,91	653,53 157,51–1732,88	1211,75 485,37–5056,40	717,61 23,21–2120,06 p ₃ < 0,05
МДГ	489,90 0,00–1448,54	338,89 142,11–399,91	149,52 85,02–293,41 p _{1,2} < 0,01	244,21 0,00–535,04
НАД-ГДГ	234,61 16,10–907,60	291,06 159,14–697,22	86,15 0,00–295,07	298,63 99,90–608,74 p ₃ < 0,05
НАД-ИЦДГ	44,70 0,00–145,79	30,51 0,00–114,46	61,16 0,00–120,27	25,70 0,00–120,06
НАДН-ЛДГ	119,49 19,68–454,3	25,79 9,11–69,57 p ₁ < 0,05	18,56 7,55–50,03 p ₁ < 0,01	40,02 27,20–94,77 p ₃ < 0,01
НАДН-МДГ	432,48 165,72–965,33	240,63 44,04–358,92 p ₁ < 0,05	62,85 39,90–140,21 p ₁ < 0,001; p ₂ < 0,01	196,61 100,12–476,53
НАДН-ГДГ	122,61 0,00–374,12	105,18 13,16–221,6	47,47 17,44–107,6	89,56 38,97–184,7

Примечание: то же, что и для таблицы 3.

является малат-аспартатный шунт, ключевым ферментом которого является МДГ. Установлено, что в 1-е сутки развития ИИ активность НАДН-зависимой реакции МДГ значительно снижена, что может ингибировать аэробное дыхание (табл. 3). Кроме того, нами обнаружено, что у пациентов в 1-е сутки ИИ понижаются уровни активности НАДФ-ГДГ, НАД-ФИЦДГ, НАДФН-ГДГ и НАДН-ЛДГ, отражающие взаимодействие цикла Кребса с реакциями аминокислотного обмена и интенсивность терминальных реакций гликолиза.

Через 14 дней в тромбоцитах сохраняется высокий уровень Г6ФДГ, при снижении активности НАДФ-ИЦДГ, анаэробной реакции ЛДГ и НАДН-зависимой реакции МДГ (табл. 3). Однако на этом этапе дополнительно выявляется снижение активности МДГ. Следовательно, нарушение митохондриальных процессов в тромбоцитах, которое в 1-е сутки обследования заключалось в ингибировании малат-аспартатного шунта и вспомогательных дегидрогеназных реакций, на данном этапе развилось в снижение активности одной из НАД-зависимых дегидрогеназных реакций цикла трикарбоновых кислот.

В раннем восстановительном периоде ИИ в тромбоцитах сохраняется высокая активность Г6ФДГ (табл. 3). Активность остальных НАДФ-зависимых дегидрогеназ соответствует контрольному диапазону. При исследовании активности НАД-зависимых дегидрогеназ установлена нормализация их уровней (табл. 3). Исключением является пониженный уровень активности ГЗФДГ — фермента, осуществляющего перенос продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза.

При исследовании уровней НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ тромбоцитов у больных ГБ и ИБС в зависимости от развития в течение года после ИИ cerebrovascular осложнений (ОНМК, ТИА, острый инфаркт миокарда, тромбоз сосудов) нами установлено, что уровни активности НАДФ- и НАДФН-зависимых дегидрогеназ тромбоцитов в 1-е сутки инсульта взаимосвязаны с возникновением тромботических осложнений. На основе анализа активности указанных ферментов предлагается прогностический критерий развития повторных cerebrovascular осложнений (ЦВО) у больных ГБ в сочетании с ИБС после перенесенного ИИ, который определяется как коэффициент соотношения реакций восстановления НАДФ+ и окисления НАДФН (Г6ФДГ + НАДФМДГ / ГР + НАДФН-ГДГ).

При величине коэффициента $<1,00$ прогнозируют развитие осложнений, при величине $\geq 1,00$ — отсутствие ЦВО. Чувствительность метода составила 0,97, специфичность — 0,98.

Заключение

Таким образом, у больных с церебральными осложнениями ГБ и ИБС в различные периоды ИИ отмечаются изменения в плазменном и сосудисто-тромбоцитарном гемостазе, проявляющиеся гиперкоагуляцией и активацией внутрисосудистого свертывания с последующим фибринолизом. В различные периоды ИИ обнаружено значительное повышение уровня фВ — маркера эндотелиального повреждения. При исследовании метаболизма тромбоцитов у больных с церебральными осложнениями ГБ и ИБС обнаружено нарушение митохондриальных процессов, заключающееся в нарушении аэробного и анаэробного дыхания, а также азотистого метаболизма в клетках. Предложенный нами коэффициент реакций восстановления НАДФ+ и окисления НАДФН возможно использовать для прогнозирования повторных ЦВО у больных ГБ в сочетании с ИБС в остром периоде ИИ с целью более эффективной профилактики тромботических катастроф.

Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — 3-е изд. — М.: НЬЮДИАМЕД, 2008. — 292 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: учеб. — 3-е изд., стереотип. — М.: Медицина, 2007. — 704 с.
3. Виленский Б.С., Яхно Н.Н. Современное состояние проблемы инсульта // Вестник Российской АМН. — 2006. — № 9/10. — С. 18–24.
4. Гусев Е.И. Современный взгляд на проблему инсульта // Инсульт. Приложение к журн. Невропатол. и психиатр. — 2003. — № 9. — С. 3–5.
5. Суслина З.А., Пирадова М.А. Инсульт: диагностика, лечение, профилактика. — М.: МЕДпресс-информ, 2008. — 288 с.
6. Суслина З.А., Танащян М.М., Ионова В.Г. Ишемический инсульт: кровь, сосудистая стенка, антитромботическая терапия. — М.: Мед. книга. — 2005. — 248 с.
7. Bolacos J.P., Delgado-Esteban M., Herrero-Mendez A., Fernandez-Fernandez S., Almeida A. Regulation of glycolysis and pentose-phosphate pathway by nitric oxide: impact on neuronal survival // Biochim. Biophys. Acta. — 2008. — Vol. 1777, № 7–8. — P. 789–793.
8. Michelson A.D. Platelets, Second Edition. — Burlington: Academic Press, 2006. — 1376 p.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА, У БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПРИ НАЛИЧИИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

В.М. ШМЕЛЕВА, С.И. КАПУСТИН, Н.А. КЛЕНКОВА, М.Н. БЛИНОВ, Л.П. ПАПАЯН
ФГУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии» ФМБА России

Резюме. Обследовано 238 больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей и 260 человек контрольной группы. Уровень гомоцистеина (ГЦ) определяли методом жидкостной хроматографии под высоким давлением. Молекулярно-генетические исследования проводились методом ПЦР. Определяли аллельный полиморфизм 16 генов: факторов I, II, V, XII свертывания крови, тканевого активатора плазминогена — t-PA, ингибитора активатора плазминогена типа I — PAI-1, гликопротеинов Ia, Iba, IIIa, тромбоцитарного рецептора АДФ-P2Y12, метилентетрагидрофолатредуктазы — МТГФР, аполипопротеина E-ApoE, эндотелиальной синтазы оксида азота — eNOS, ангиотензиногена — AGT, ангиотензин-превращающего фермента — ACE, рецептора ангиотензина II первого типа — ATGR1. Частота встречаемости отдельных генотипов значительно отличалась у больных с нормальным и повышенным уровнем ГЦ. Носительство аллеля 1691A гена фактора V (мутации FV Leiden) в гетерозиготном состоянии в два раза чаще отмечено у больных с ГЦ по сравнению с контролем и с пациентами с нормальным уровнем ГЦ (10% против 5%, $p < 0,05$). Среди пациентов с ГЦ в 6 раз чаще выявлялись носители гомозиготного генотипа 46TT гена фактора XII (6% против 0%, $p = 0,2$). При ГЦ выявлено двукратное снижение частоты носительства генотипа D/D гена ACE в сравнении с больными без ГЦ (14% против 29%, $p < 0,005$). У больных с ГЦ по сравнению с пациентами без ГЦ отмечалась более высокая частота носительства генотипа C/C в гене eNOS (17% против 6%, $p = 0,05$). Выявлена тенденция к более высокой частоте встречаемости генотипа ApoE E4/E4 (2,5% против 0%, $p = 0,2$). Статистически значимые различия выявлены по распределению полиморфизмов тромбоцитарных рецепторов. У больных с ГЦ носительство T аллеля гена GpIba отмечалось в 4 раза чаще, чем при нормальном уровне ГЦ (21% против 5,2%, $p < 0,05$). Носительство TT генотипа гена GpIa при ГЦ выявлено в 17% случаев против 7,6% в отсутствие ГЦ ($p < 0,05$). У больных с ГЦ частота гетерозигот P2Y12 H1/H2 была в 2 раза выше ($p < 0,05$), а гомозигот — более чем в 3 раза выше по сравнению с больными без ГЦ.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей, полиморфизм генов.

ALLELES DISTRIBUTION IN GENES ENCODING HEMOSTASIS COMPONENTS IN PATIENTS WITH LOWER EXTREMITIES ATHEROSCLEROSIS AND HYPERHOMOCYSTEINEMIA

V.M. SHMELEVA, S.I. KAPUSTIN, N.A. KLENKOVA, M.N. BLINOV, L.P. PAPAYAN
Federal state institution "Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology"
Federal Microbiological Agency of Russia

Summary. 238 patients with obliterating atherosclerosis of lower extremities and 260 healthy individuals were included in trial. The level of homocystein was measured by liquid chromatography under high pressure. Molecular genetic investigations were performed by PCR method. The allele polymorphism of 16 genes was evaluated: I, II, V, XII coagulation factors, tissue plasminogen activator (t-PA), I type plasminogen activator inhibitor PAI-1, glycoproteins Ia, Iba, IIIa, platelet ADP receptor P2Y12, methylentetrahydrofolatereductase MTGFP, apolipoprotein E-ApoE, endothelial NO synthase — eNOS, angiotensinogen AGT, angiotensinconverting enzyme ACE, angiotensin II receptor of Ist type ATGR1. Incidence of single genotypes differed significantly in patients with normal and elevated homocystein. Carriage of 1691A allele of factor V gene (FV Leiden mutation) in heterozygote state was more than 2 times higher in patients with hyperhomocysteinemia than in controls and in patients with normal homocystein levels (10% vs 5%, $p < 0,05$). In patients with hyperhomocysteinemia 6 times higher homozygote carriers of 46TT type of factor XII gene (6% vs 0%, $p = 0,2$). In hyperhomocysteinemia 2 fold decrease of genotype D/D carriage of ACE gene than in patients without hyperhomocysteinemia was revealed (14% vs 29%, $p < 0,005$). In patients with hyperhomocysteinemia higher rate of C/C carriage in eNOS was revealed (17% if compared to 6% without hyperhomocysteinemia, $p = 0,05$). Trend to higher rate of incidence of ApoE E4/E4 genotype (2,5% and 0%, $p = 0,2$) was revealed. Statistically significant difference of polymorphisms distribution in platelets receptors was revealed. In patients with hyperhomocysteinemia carriage of T allele of GpIba gene was 4 times higher than in patients with normal level of homocystein (21 vs 5,2%, $p < 0,05$). TT genotype of GpIa gene in hyperhomocysteinemia was revealed in 17% cases if compared to 7,6% without hyperhomocysteinemia ($p < 0,05$). In patients with hyperhomocysteinemia rate of P2Y12 H1/H2 heterozygotes was 2 times higher ($p < 0,05$), and homozygotes — more than 3 times higher than in patients without hyperhomocysteinemia.

Key words: hyperhomocysteinemia, obliterative atherosclerosis of lower extremities, genotypes polymorphism.

Введение. Общеизвестно, что тромбоз является мультифакторным процессом, в патогенезе которого участвуют как наследственные, так и приобретенные факторы риска. Среди потенциальных индукторов атеротромбоза фигурируют полиморфизмы генов, ассоциированные с нарушением липидного обмена, эндотелиальной дисфункцией, предрасполагающие к формированию артериальной гипертензии, кодирующие компоненты тромбоцитарного и плазменного звеньев гемостаза [5, 10].

Ген *GpIba* кодирует α -субъединицу гликопротеина *Ib*, в комплексе с *GpV* и *GpIX* образующего тромбоцитарный рецептор *GpIb/IX/V*, основным лигандом которого является фактор Виллебранда. Указанный рецептор играет важнейшую роль в адгезии при высоком напряжении сдвига. В условиях низкого напряжения сдвига адгезию тромбоцитов опосредует взаимодействие рецептора *GpIa/IIa* с коллагеном [8]. Высказывается предположение о роли данных полиморфизмов в увеличении риска развития тромботических проявлений [13]. Идентифицировано пять полиморфизмов ДНК в гене *P2Y12*. Предположительно протромботическим является гаплотип *H2* гена *P2Y12* [5]. Полиморфизм *PAI/A2* в гене *GpIIIa* ассоциирован с повышенной агрегационной способностью тромбоцитов [13]. Полиморфизм *G/A-455* в гене фактора *I* способствует повышению уровня фибриногена, а полиморфизм *4G/5G-675* в гене ингибитора активатора плазминогена 1 (*PAI-1*) частично определяет уровень *PAI-1* в плазме и может фенотипически проявляться угнетением фибринолитической активности крови. Однако данные о влиянии полиморфизма указанных генов на риск развития тромбозов крайне противоречивы. Большинство крупных исследований, в том числе *ESTIM*, *US Physician Health Study*, *SMILE*, не выявили прямой зависимости между носительством рассматриваемых генетических детерминант и развитием тромботических осложнений [10]. Известно, что на фенотипическое проявление наследственных предпосылок тромбообразования существенное влияние оказывают факторы окружающей среды и взаимодействие с метаболическими показателями организма индивидуума. Принимая во внимание данные о таких патологических эффектах избытка гомоцистеина (ГЦ) как угнетение фибринолиза, активация тромбоцитарного звена гемостаза, усиление продукции провоспалительных цитокинов [6], можно предположить участие гипергомоцистеинемии (ГГЦ) в реализации протромботического потенциала отдельных генетических детерминант. Учитывая, что основной точкой приложения токсических эффектов ГЦ является эндотелий сосудов [2], особый интерес представляет распределение у больных с ГГЦ аллельных вариантов генов аполипопротеина *E* (*ApoE*), эндотелиальной синтазы оксида азота (*eNOS*), ангиотензиногена (*AGT*), ангиотензин-превращающего фермента (*ACE*), рецептора ангиотензина II первого типа (*ATGR1*). По литературным данным полиморфиз-

мы перечисленных выше генов в той или иной мере ассоциированы с эндотелиальной дисфункцией [13]. Вопросы взаимодействия повышенного уровня ГЦ с наследственными факторами риска артериальных тромбозов на данный момент изучены недостаточно.

Целью настоящего исследования было изучение особенностей распределения аллельного полиморфизма генов, кодирующих компоненты системы гемостаза, у больных с атеросклеротическим поражением периферических сосудов при наличии гипергомоцистеинемии.

Материалы и методы. Обследовано 238 больных (198 мужчин и 40 женщин) облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОАНК) в возрасте от 43 до 76 лет. Средний возраст обследованных больных составил $58,6 \pm 9,0$ лет (пациентов мужского пола — $58,4 \pm 8,9$ года, женского пола — $61,6 \pm 6,7$ года). Контрольную группу составили 260 человек, сопоставимых по полу и возрасту, не имеющих в анамнезе сердечно-сосудистых заболеваний. Материалом для исследования являлась венозная кровь. Концентрацию ГЦ в плазме измеряли методом жидкостной хроматографии под высоким давлением с флуоресцентной детекцией [3]. Уровень ГЦ в плазме выше $13,5$ мкмоль/л (90% процентиль в контрольной группе) расценивали как гипергомоцистеинемии. Молекулярно-генетическое тестирование выполнялось методом ПЦР. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ *Statistica 6.0* и *Stat Pad Prism* (версия 2).

Результаты и обсуждение. Частота встречаемости ГГЦ и средний уровень ГЦ у больных ОАНК статистически значительно превысили соответствующие показатели в контрольной группе (табл. 1). Генотипирование факторов *I*, *II*, *V*, *XII* свертывания крови, фермента *MTHFR*, *ApoE*, *eNOS*, *AGT*, *ACE*, *ATGR1*, *t-PA*, *PAI-1*, а также гликопротеинов *Ia*, *Iba*, *IIIa* и тромбоцитарного рецептора *P2Y12* показало, что больные ОАНК в 100% случаев являлись носителями одного и более потенциально протромботического полиморфизма. Частота встречаемости аллелей, усиливающих гемостатический потенциал, у больных ОАНК в целом практически не отличалась от таковой в контроле. В то же время при сравнении распределения полиморфных вариантов у больных с нормальным и повышенным уровнем ГЦ выявлены определенные закономерности.

Таблица 1

Результаты диагностики уровня гомоцистеина в исследуемых группах

Показатель	Обследуемые группы	
	Контроль	ОАНК
Уровень ГЦ, мкмоль/л, $M \pm SD$	$9,8 \pm 2,7$	$17,1 \pm 12,4^*$
ГГЦ, %	8,6	55*

* — достоверное различие между группами, $p < 0,001$.

Частота встречаемости (%) полиморфизма генов, кодирующих компоненты тромбоцитарных рецепторов

Полиморфизм	Генотип	Контроль	Пациенты	
			с ГГЦ	без ГГЦ
GpIa 807 C/T	C/C	39,9	44	52,4
	C/T	43	39	40
	T/T	17,1	17**	7,6* **
GpIbα 434 C/T	C/C	83,6	81	94,8
	C/T	16	17**	5,2**
	T/T	0,4	2	0
GpIIa 1565 T/C	T/T	67,1	76	71
	C/T	32	22,8	27
	C/C	0,9	1,2	2
P2Y12 H1/H2	H1/H1	72,6	61	83,4
	H1/H2	24	35,6**	16,6**
	H2/H2	3,4	3,4	0

Примечание. Здесь и далее:

* — достоверное различие с контрольной группой, $p \leq 0,05$;

** — достоверное различие между группами с нормальным и повышенным уровнем ГГЦ, $p \leq 0,05$.

Так, достаточно четкие и однонаправленные тенденции можно проследить в распределении полиморфизмов GpIbα 434C/T, P2Y12 H1/H2 и GpIa807 C/T, кодирующих компоненты тромбоцитарных рецепторов (табл. 2). В подгруппе больных с повышенным уровнем ГГЦ гомозиготное носительство T аллеля гена GpIbα отмечалось в 2 раза, а гетерозиготное — более чем в 3 раза чаще, чем при нормальном уровне ГГЦ. Носительство TT генотипа гена GpIa при ГГЦ выявлено в 2,2 раза чаще. В группе больных с ГГЦ доля гетерозигот P2Y12 H1/H2 в 2 раза превышала таковую у лиц с нормальным уровнем ГГЦ, а гомозигот — более чем в 3 раза. Обнаружение указанных ассоциаций может свидетельствовать о патогенетической значимости в развитии атеротромбоза одновременного носительства генетических дефектов, способных влиять на функциональную активность тромбоцитарного звена гемостаза, и ГГЦ.

Полиморфизм 807C/T в гене GpIa ассоциирован с увеличением количества экспрессированных на мембране тромбоцитов молекул рецептора GpIa/IIa, основным лигандом которого является коллаген — компонент субэндотелиального матрикса. Взаимодействие GpIa/IIa с коллагеном в месте повреждения сосудистой стенки инициирует первичную адгезию тромбоцитов в условиях как низких, так и высоких скоростей сдвига кровяного потока [8]. Гипергомоцистеинемия является доказанной предпосылкой повреждения сосудистого эндотелия [6].

Сочетание ГГЦ и носительства аллеля GpIa 807T и/или GpIbα 434T может усиливать адгезию тромбоцитов с их последующей активацией, высвобождением содержимого гранул, обратимой и необратимой агрегацией. Аллель H2 гена P2Y12, возможно, также потенцирует риск атеротромбоза при наличии ГГЦ. Роль рецептора P2Y12 в процессе активации тромбоцитов, их необратимой агрегации и стабилизации образовавшегося тромба доказана как экспериментальными данными, так и эффективным применением блокаторов P2Y12. Помимо снижения внутриклеточного содержания цикло-аденозин-монофосфата (цАМФ), передача сигнала через P2Y12 приводит к активации рецептора GpIIb/IIIa на тромбоцитарной мембране [4].

Определенную неравномерность распределения можно отметить и для некоторых полиморфизмов в генах, кодирующих коагуляционные факторы гемостаза и фибринолиз (табл. 3). Носительство аллеля 1691A гена фактора V в гетерозиготном состоянии в два раза чаще отмечено у больных с ГГЦ по сравнению с контролем и с пациентами с нормальным уровнем ГГЦ. Наличие статистической значимости полученных данных свидетельствует о синергичном влиянии ГГЦ и мутации FV Leiden не только на развитие венозного тромбоза, но и на индукцию атеротромботического процесса. Среди пациентов с ГГЦ в 6 раз чаще выявлялись носители гомозиготного генотипа 46TT гена фактора XII (6% против 0%,

Частота встречаемости (%) полиморфизма генов, кодирующих компоненты плазменного звена гемостаза

Полиморфизм	Генотип	Контроль	Пациенты	
			с ГГЦ	без ГГЦ
Фактор I -455 G/A	G/G	55,7	68	53
	G/A	36,4	21	39
	A/A	7,9	11	8
Фактор II 20210 G/A	G/G	97,8	98	97
	G/A	2,2	2	3
	A/A	0	0	0
Фактор V 1691 G/A	G/G	95,6	90	95
	G/A	4,4	10* **	5**
	A/A	0	0	0
Фактор XII 46 C/T	C/C	45,8	53,4	66
	C/T	47,7	40,0	34
	T/T	6,5	6,6	0
PAI-1 -675 4G/5G	5G/5G	17,6	18	17
	4G/5G	46,9	36,5	39
	4G/4G	35,5	45,5	44
TRA 311 I/D	D/D	23,4	24	29
	I/D	47,4	48	47
	I/I	29,2	28	24

p = 0,2). Поскольку фактор XII является активатором плазминогена [9], снижение его уровня в плазме у гомозиготных носителей аллеля FXII 46T может сопровождаться снижением фибринолитической активности крови. Значимая роль FXII в развитии атеротромбоза может быть следствием недостаточной эффективности t-РА-зависимого фибринолиза в отношении тромбов, богатых тромбоцитами.

Достаточно неожиданные результаты дало типирование генов ренин-ангиотензиновой системы (табл. 4). У больных с ОАНК в целом, а при ГГЦ – в большей степени, прослеживается тенденция к снижению частоты носительства C/C генотипа гена ATGR. При ГГЦ выявлено двукратное снижение частоты носительства генотипа D/D гена ACE в сравнении с контролем и больными без ГГЦ. Возможно, наблюдаемый феномен связан с неблагоприятной прогностической ролью одновременного носительства этого полиморфизма и ГГЦ у пациентов с ОАНК.

Интересно, что среди пациентов с ГГЦ доля носителей TT генотипа гена MTHFR была практически идентична таковой в здоровой популяции и среди больных с нормальным уровнем ГЦ, а доля гетерозиготных носителей T аллеля была достоверно выше. Такой результат предполагает превалирование приобретенных форм ГГЦ у больных с ОАНК.

Тенденция к повышению частоты встречаемости аллеля ApoE E4 у пациентов с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей укладывается в существующие представления о патогенезе атеросклероза. Полиморфизм в гене ApoE рассматривается

в настоящее время как один из важнейших генетических факторов, определяющих особенности липидного спектра у индивида и влияющих на риск развития атеросклероза и тромбоза [11]. Изоформа ApoE E4 является более чувствительной к окислению в сравнении с ApoE E3 и ApoE E2, т.к. не содержит свободных сульфгидрильных групп, а окислительный потенциал избыточных количеств ГЦ хорошо доказан [7]. Кроме того, ускоренное формирование атеросклеротических повреждений при сочетании наследственных нарушений липидного обмена и метаболизма ГЦ показано на генетических моделях [6]. Следовательно, ассоциация между ГГЦ и носительством изоформы ApoE E4, выявленная у больных ОАНК, достаточно закономерна.

У больных с ГГЦ по сравнению с пациентами без ГГЦ отмечалась более высокая частота носительства генотипа C/C в гене eNOS (17% против 6%, p = 0,05). Снижение активности eNOS у носителей варианта – 786C может препятствовать защите сосудистой стенки от избытка ГЦ посредством формирования нитрозотиолов, а также действовать синергично с ГГЦ в развитии оксидантного стресса. Эндотелиальная синтаза оксида азота при определенных условиях участвует в продукции супероксида O₂⁻ [14]. Одной из причин данного феномена, известного как «разобщение реакции eNOS», является дефицит тетрагидробиоптерина. Окисление активной формы тетрагидробиоптерина (BH₄) до дигидробиоптерина (BH₂) и других метаболитов семейства птеринов приводит к сдвигу функциональной активности eNOS в сторону продукции O₂⁻ [1].

Частота встречаемости (%) полиморфизма генов, кодирующих компоненты ренин-ангиотензиновой системы и функцию эндотелия

Полиморфизм	Генотип	Контроль	Пациенты	
			с ГГЦ	без ГГЦ
МТГФР 677 С/Т	С/С	50,4	36,7	56,4
	С/Т	39,5	53**	34**
	Т/Т	10,1	10,3	9,6
eNOS -786 Т/С	Т/Т	38,6	43	45
	С/Т	47	40	49
	С/С	14,4	17**	6**
AGT 704 Т/С	Т/Т	27,6	23	26
	С/Т	46,1	43	38
	С/С	26,3	33	32
ACE 287 I/D	I/I	25	40	28
	I/D	48,7	46	43
	D/D	26,3	14**	29**
ATGR 1166 А/С	А/А	56,1	58,8	58
	А/С	36,9	40	40
	С/С	7	1,2	2
ApoE	E2E2	0,4	1,0	0
	E2E3	18	14	10
	E2E4	0,9	1,2	0
	E3E3	61	56,5	67
	E3E4	17,5	26	23
	E4E4	2,2	2,5	0

Таким образом, носительство аллелей, усиливающих гемостатический потенциал, чаще отмечалось у больных с ГГЦ, чем у больных с нормальным уровнем ГЦ, что свидетельствует о влиянии избытка ГЦ на фенотипическое проявление проатерогенного и протромбогенного потенциала изученных генетических детерминант. Сочетание генетических вариантов, ассоциированных с риском развития эндотелиальной дисфункции и усиления адгезивно-агрегационных реакций кровяных пластинок с опосредованными ГГЦ механизмами повреждения сосудистой стенки (оксидантный стресс, активация металлопротеиназ и ростовых факторов, усиление процессов клеточной миграции и пролиферации), может усиливать предрасположенность к развитию облитерирующего атеросклероза.

Выводы. Сочетание ГГЦ с генетическими факторами, предрасполагающими к развитию эндотелиальной дисфункции и активации тромбоцитарного звена гемостаза, способствует развитию атеротромбоза. Установление индивидуального профиля риска, подразумевающего не только выявление у пациента наследственных и приобретенных протромботических факторов, но и оценку их взаимодействия, способствует повышению эффективности профилактики тромбообразования.

Список литературы

1. Chalupsky K., Cai H. Endothelial dihydrofolate reductase: critical for nitric oxide bioavailability and role in angiotensin II uncoupling of endothelial nitric oxide synthase // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2005. — Vol. 102. — P. 9056–9061.

2. Chambers J.C., Ueland P.M., Obeid O.A. et al. Improved vascular endothelial function after oral B vitamins: an effect mediated through reduced concentrations of free plasma homocysteine // *Circulation*. — 2000. — Vol. 102. — P. 2479–2483.
3. Fiskerstrand Y., Refsum H., Kvalheim G., Ueland P. Homocysteine and other thiols in plasma and urine: automated determination and sample stability // *Clinical Chemistry*. — 1993. — Vol. 39. — P. 263–271.
4. Fontana P., Dupont A., Gandrille S. et al. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y₁₂ gene sequence variations in healthy subjects // *Circulation*. — 2003. — Vol. 108. — P. 989–995.
5. Kottke-Marchant K. Genetic polymorphisms associated with venous and arterial thrombosis // *Arch. Pathol. Lab. Med.* — 2002. — Vol. 126. — P. 295–304.
6. Lentz S.R. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis // *J. Thromb. Haemost.* — 2005. — Vol. 3. — P. 1646–1654.
7. Loscalzo J. The oxidant stress of Hyperhomocysteinemia // *J. Clin. Invest.* — 1996. — Vol. 98. — P. 5–7.
8. Nurden A.T. Polymorphisms of Human Platelet Membrane Glycoproteins: Structure and Clinical Significance // *Thromb. Haemost.*, 1995. — Vol. 74 — P. 345–351.
9. Schousboe I., Feddersen K., Rojkaer R. Factor XIIa is a kinetically favorable plasminogen activator // *Thromb. Haemost.* — 1999. — Vol. 82. — P. 1041–1046.
10. Simmonds R.E., Hermida J., Rezende S.M., Lane D.A. Hemostatic genetic risk factors in arterial thrombosis // *Thromb. Haemost.* — 2001. — Vol. 86. — P. 374–385.
11. Smith J.D., Miyata M., Poulin S.E. et al. The relationship between apolipoprotein E and serum oxidation-related variables is apolipoprotein E phenotype dependent // *Int. J. Clin. Lab. Res.* — 1998. — Vol. 28. — P. 116–121.
12. Smith N., Bis J., Biagiotti S. et al. Variation in 24 hemostatic genes and associations with non-fatal myocardial infarction and ischemic stroke // *J. Thromb. Haemost.* — 2008. — Vol. 6. — P. 45–53.
13. Voetsch B., Loscalzo J. Genetic determinants of arterial thrombosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2004. — Vol. 24. — P. 216–229.
14. Xia Y., Dawson V. L., Dawson T. et al. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1996. — Vol. 93. — P. 6770–6774.

ОБРАЗОВАНИЕ И ИНТЕГРАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТОВ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ

MEDICAL GENETICS EDUCATION AND TRAINING FOR MEDICAL STUDENTS, GENETIC COUNSELING STUDENTS AND CLINICAL GENETICS RESIDENTS

Virginia C. Thurston, Ph.D
Indiana University School of Medicine Indianapolis, IN

Although genetics is becoming more integrated into all areas of medicine, the number of physicians choosing to practice the specialty of medical genetics is declining. There are fewer than 3,300 genetics professionals in the United States who are certified by the American Board of Medical Genetics and/or the American Board of Genetic Counseling¹, and they are unable to meet even the current demand for genetic services. Therefore, primary care providers will be increasingly relied on for genetic counseling and risk assessment. All of this serves to underscore the growing relevance of medical genetics in primary care, and yet the limited genetics knowledge of most primary care providers is well documented². This lack of proficiency is attributable both to a rapid advancement in genetics knowledge and to limitations in genetics education in medical school curricula³. Three areas of health care should be targeted for expanded training in medical genetics and recruitment into the field of medical genetics: medical student education, clinical genetics residency, and genetic counseling. All future physicians should be exposed to the skills, knowledge, and attitudes necessary to competently address situations involving medical genetics that arise in their practice regardless of their area of expertise. Medical students and

residents should be actively recruited to clinical genetics residency programs. College biology and psychology students should be introduced to the field of genetic counseling and encouraged to explore all of the opportunities available therein. This discussion will review current training requirements and suggestions for expansion of medical genetics in medical school, clinical genetics residency programs, and genetic counseling programs. Medical genetics will continue to exert a growing influence on the practice of medicine and future health care providers will need better training if they are to provide optimal health care for their patients.

¹ Korf B.R., Feldman G., Wiesner G.L. Report of Banbury Summit meeting on training of physicians in medical genetics, October 20–22, 2004 // *Genet. Med.*, 2005; 7: 433–438.

² Emery J., Watson E., Rose P., Andermann A. A systematic review of the literature exploring the role of primary care in genetic services // *Fam. Pract.*, 1999; 16: 426–445.

³ Childs B. Genetics in medical education // *Am. J. Hum. Genet.*, 1993; 52: 225–227.

METHODS FOR INTEGRATING MEDICAL GENOMICS INTO A MEDICAL SCHOOL CURRICULUM

Virginia C. Thurston, Ph.D
Indiana University School of Medicine Indianapolis, IN

Genetics is becoming increasingly relevant to primary care physicians as the genetics of common disorders are better understood. Genetic risk assessment and testing are now standard for some forms of cancer and genetic testing is available for a number of neurological and cardiovascular disorders. Pharmacogenetic testing is becoming routine in the treatment of some types of leukemia and will undoubtedly become widely used in routine medical decisions. The availability of such genetic information will have a significant impact on the general public. In the face of these exciting and daunting changes, how can we as medical educators best prepare our medical students for a career in modern medicine? Evolution of curriculum must be accomplished

by introducing new material into the context of an already challenging and packed curriculum while not reducing the value of other vital curricular components. The AAMC proposed that basic and clinical science educators incorporate genomics education into their curricula and outlined core competencies for the general physician. This proposal delineates the challenges of modifying various types of curricula to introduce new course content, of creating learning opportunities and assessments, and — of central importance — multidisciplinary involvement in the process. This session will present curricular and extra curricular strategies used in selected US medical schools to educate medical students on the basic science concepts and clinical chal-

allenges of using genetic/genomic and epigenetic information. Questions to be considered in integrating medical genomics into a medical school curriculum include the following:

- i. How do we as educators decide what new information to include in our medical school courses, and what to no longer include?
- ii. How can we best prepare medical students to: 1) use and interpret genetic test results correctly, 2) clarify misconceptions among patients and their colleagues,

3) address policy issues concerning genetic/genomic information?

- iii. What themes/disciplines are best for integrating 'genomics'?
- iv. What strategies are best for illustrating genomics applications in the clerkships?
- v. How do we implement a four year 'genomics' curriculum?

МОДУЛЬНЫЙ ПРИНЦИП ПРЕПОДАВАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ КАК МЕТОД ОПТИМИЗАЦИИ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

А.Ю. Асанов, Т.И. Субботина

**ГОУ ВПО «Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова» Минздрава, г. Москва,
e-mail: asanov@mmascience.ru**

Значительное внимание к преподаванию генетики в первую очередь связано с необходимостью осмысления и решения проблем, возникающих в практической деятельности врачей любых специальностей.

Однако для полного понимания и восприятия современных концепций генетики человека и медицинской генетики, эффективного использования медико-генетических новаций в диагностике, лечении и профилактике заболеваний в настоящее время требуется оптимизация образовательного процесса (ООП). ООП предполагает как улучшение качества управления образовательным процессом, так и повышение качества образования.

Одним из способов повышения качества высшего медицинского образования является внедрение модульного построения учебных планов и их реализация. Каждый модуль представляет собой унифицированный по структуре фрагмент учебной программы, включающий логически завершенную единицу учебного материала. Модульный принцип представляет собой и программу действий, и методическое руководство по соответствующему фрагменту образовательной программы. Реализация модульного принципа позволяет успешно использовать компетентностный подход в преподавании предмета, который способствует формированию у студента базовых и профессиональных компетенций.

ОБРАЗОВАНИЕ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ В КУБАНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

В.И. Голубцов, А.Т. Зайцева, К.Ю. Лазарев

**Кубанский государственный медицинский университет,
e-mail: lazarev_ku@mail.ru**

Преподавание генетики в медицинских вузах страны, начавшееся в 60-е годы прошлого столетия, определило необходимость подготовки соответствующих педагогических кадров. Эта задача решалась обучением преподавателей при прохождении факультетов повышения квалификации в центральных вузах (Москва, Ленинград, Новосибирск). В течение нескольких лет практически все преподаватели кафедры биологии нашего вуза были теоретически подготовлены для преподавания общей генетики на первом курсе и медицинской генетики на старших курсах. Значительную роль в теоретической подготовке и специализации по медицинской генетике для преподавателей нашего вуза в разные годы оказали ученые ленинградских научных и учебных заведений.

На совершенствование преподавания медицинской генетики оказала влияние научно-исследовательская

работа сотрудников кафедры, которая в течение всего периода выполнялась по проблемам медицинской генетики (цитогенетика, популяционная генетика, молекулярная генетика).

В настоящее время медицинская генетика преподается на кафедре биологии с курсом медицинской генетики КГМУ студентам четвертого курса лечебного, педиатрического и медико-профилактического факультетов. Нами разработаны методические указания для выполнения внеаудиторной и аудиторной работы студентов; проводится элективный курс по актуальным вопросам медицинской генетики; изданы методические пособия для студентов и врачей. Дальнейшее генетическое образование продолжается в клинической интернатуре и ординатуре, где врачи обучаются медицинской генетике с учетом специфики своей специальности.

На кафедре открыта очная и заочная аспирантура, клиническая ординатура по специальности «Генетика», где идет подготовка специалистов для практического здравоохранения и пополнения резерва преподавательского состава вуза. Защищено 10 кандидатских и три докторских диссертаций.

Внедрение новых технологий в генетику и развитие предиктивной медицины вызвало необходимость введе-

ния в учебный процесс для студентов и слушателей постградуальных форм обучения современных методов молекулярно-генетического анализа. Это способствует интеграции знаний врачей разных специальностей в области медицинской генетики и молекулярной медицины.

ОПЫТ СОЗДАНИЯ ЭЛЕКТРОННОГО УЧЕБНОГО ПОСОБИЯ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ И ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МЕДИЦИНЕ

Н.А. Малиновская¹, А.Б. Салмина¹, С.В. Михуткина¹, А.А. Болдырев²

¹ ГОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск; e-mail reg.kgmu@gmail.com

² МБЦ МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва

Курс «Молекулярная и трансляционная медицина» представляет собой совмещение и обобщение теоретических знаний по множеству теоретических дисциплин с практическими результатами, полученными при применении современных клеточно-биологических методов исследований, новых методов диагностики и лечения. Малое количество часов, выделяемых в учебных планах на представленный курс, и слабая оснащенность вузов электронными и печатными [1] версиями учебников и учебных пособий существенно усложняют подготовку студентов к занятиям по молекулярной и трансляционной медицине.

В 2009 году нами создано электронное html-пособие «Молекулярная и трансляционная медицина» для преподавания одноименного курса на русском и английском языках, включающее теоретические вопросы биологии, биохимии, физиологии, патобиохимии и патофизиологии, новые направления терапии и диагностики, теоретические основы современных высокоинформативных лечебно-диагностических методов (ОФЭТ, ПЭТ и т.д.), результаты исследований по основным направлениям,

изучаемым в подразделениях КрасГМУ, в рамках регионального компонента и знания, полученные на масштабных инновационных общероссийских мероприятиях. Пособие снабжено анимационными моделями для объяснения сложных процессов, видеofilмами и flash-анимациями для закрепления у студентов полученных знаний, гиперссылками, вопросами для самоподготовки к теме, тренировочными тестовыми вопросами и ситуационными задачами с возможностью самопроверки, что существенно улучшает восприятие сложной для студентов информации, понимание и запоминание ими основ молекулярной медицины. Кроме коротких циклов, возможно использование данного пособия для преподавания углубленных курсов по молекулярной и трансляционной медицине на русском и английском языках, спецпрактикума по методам молекулярной лабораторной диагностики и самоподготовки студентов.

Список литературы

1. Введение в молекулярную медицину / Под ред. М.А. Пальцева. — М.: Медицина, 2004. — 496 с.

ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ — ЕСТЬ ПРОБЛЕМА?!

М.О. Мхеидзе

МАПО, Санкт-Петербург, Россия, momedeia@yandex.ru

Светлой памяти Светланы Климентьевны Ключевой

Проблема. Возрождение преподавания медицинской генетики (МГ) в вузах России насчитывает 20–25 лет. Оно не было обеспечено квалифицированными медицинскими кадрами по известным причинам. Преподаватели с медицинским образованием и большим стажем работы осваивали МГ путем самообразования и были лишены системы обучения. Большой тормоз для преподавания МГ — мизерное число стационарных коек для больных с наследственной патологией. Очевидна увеличивающаяся

пропасть между достижениями современной биологической и медицинской науки и доступностью их использования практическими врачами и пациентами. Опыт работы на кафедре МГ МАПО, контакты с врачами различных специальностей, анализ собственного обучения в ЛПМИ приводят к заключению о необходимости модернизации преподавания МГ в вузах.

Возможное решение. Первые 2 курса обучения в вузе: 1) преподавание основ генетики человека на кафедре

биологии; 2) преподавание основ цитогенетики, молекулярной генетики, протеомики, ознакомление с современными методами цитогенетического анализа, биохимической и молекулярно-генетической диагностики наследственных болезней и их практическое освоение на кафедрах физики, гистологии, биохимии. Последующие годы обучения: 3) генеалогический метод и семиотика наследственных и врожденных болезней — преподавание на пропедевтических кафедрах; 4) постоянный тренинг в составлении родословной пациента, в описании его фенотипа, ознакомление с наследственными и врожденными заболеваниями — на всех клиниче-

ских кафедрах. Погружение в генетику человека на протяжении всех лет обучения сформирует генетическое мышление у врача любой специальности, что станет залогом эффективности работы медико-генетической службы. Преподавание МГ, отвечающее мировым стандартам, требует привлечения специалистов научно-исследовательских институтов и наличия клиник с высоким уровнем обследования пациентов. Новые формы преподавания МГ потребуют, возможно, изменения структуры вузов: объединение в единый комплекс научно-исследовательских, образовательных и клинических подразделений.

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ВОССТАНОВЛЕНИЮ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ СЕМЬИ

В.В. Никишин¹, С.И. Лизунова¹, Г.Ф. Пакуло¹, Н.А. Шемель¹, Е.П. Канева²

¹ ФГУЗ КБ № 84 ФМБА России, г. Москва

² ФМБА России, г. Москва

В основу предложенного нами комплексного подхода к восстановлению репродуктивного здоровья (РЗ) легли основные этапы реформирования и организации работы как акушерско-гинекологической, так и медико-генетической служб по снижению репродуктивных потерь, такие как медико-генетическое консультирование, мониторинг ВПР, пренатальная диагностика, восстановление репродуктивной функции и сексуального здоровья.

За 28 лет (1982–2009) работы Центрального отделения медицинской генетики с консультацией «Брак и

семья» ФМБА России в 34 тысячах семей родилось более 3500 здоровых детей, в их числе четверня, 7 троен и более 100 двоен. Более 80% семей последовали совету врача-генетика, репродуктивные потери уменьшились с 20% до 6%.

Комплексный подход к восстановлению репродуктивного здоровья семьи создает условия для ликвидации разрыва между гинекологией и андрологией, генетикой, сексологией, психотерапией и высокими технологиями в малоинвазивных методах диагностики и лечения.

ПРОБЛЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ АДЕКВАТНОЙ ТЕРМИНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ ГЕНЕТИКЕ

М.М. Шавловский

НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

На современном этапе развития науки в связи с необходимостью привлечения широкого круга специалистов для решения задач конкретных наук все меньше внимания уделяется правильному использованию терминов. Это связано с отсутствием у части работников, как правило, базового образования, специфичного для каждой отрасли. Возможно также, что это связано с аналитическими особенностями английского языка, который используется в качестве международного. Генетика не составляет исключения. Основная генетическая терминология разрабатывалась в первой половине XX века, в период становления формальной или классической генетики. Конечно, часть терминов устарела, значение некоторых приходится переосмысливать, но основные термины, на наш взгляд, извращать нецелесообразно. Особенно если новые словосочетания противоречат логике и языковым нормам.

В докладе рассмотрены такие основные понятия, как «ген» в его современном представлении, «аллель», а также часто употребляемые словосочетания с этими терминами. В частности, обсуждаются вопросы применимости термина «аллель» для нуклеотидных вариантов генетического материала. Особое внимание уделяется «полиморфизму» в разном понимании этого слова. На примере современных печатных работ показаны случаи неправильного применения терминов «популяция», «генотип», «фенотип», «экспрессия». Особое внимание будет уделено словосочетаниям «полиморфный аллель», «сочетание генотипов и фенотипов», «аллельный вариант», «мутационное изменение» и т. д. В дискуссионном аспекте будет рассмотрено направление, известное как эпигенетика.

ДИАГНОСТИКА, ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

NEW SYNDROMES IDENTIFIED THROUGH A GENOTYPE-FIRST APPROACH

Lisa G. Shaffer, Jill Rosenfeld, Blake C. Ballif
Signature Genomic Laboratories, Spokane, WA, USA

Clinical geneticists have traditionally used a phenotype-first approach in the identification of new syndromes. In such an approach, the individuals all exhibit common clinical features of the newly described syndrome. The underlying etiology sometimes took years to discover. The use of contemporary molecular cytogenetic techniques in diagnostics, such as microarray-based comparative genomic hybridization (array CGH), has enabled the identification of previously unrecognized genetic disorders and elucidated the etiologies of known syndromes. Since March 2004, Signature Genomic Laboratories has performed array-based CGH testing in over 43,000 individuals and has identified over 10,000 alterations. With the use of our proprietary database accessed through our software, Genoglyphix,

multiple individuals with over-lapping deletions has allowed for a genotype-first approach to the identification of new microdeletion syndromes and the delineation of causative genes. From these overlapping deletions, the smallest region of overlap (SRO) is delineated and candidate genes are identified. The use of the database for identifying multiple individuals, including very small deletions of only one or two genes, helps implicate specific genes as causative for certain phenotypic features of these new syndromes. The design of the array and availability of clinical information on these individuals is critical for delineation of the cytogenetic basis for certain phenotypes and for the identification of novel syndromes.

ПРИМЕНЕНИЕ БОТУЛОТОКСИНА В ЛЕЧЕНИИ РИГИДНОСТИ И ГИПЕРКИНЕТИЧЕСКОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ ГЕПАТОЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ДИСТРОФИЕЙ

В.В. Голдобин

**Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, e-mail: vgoldobin@inbox.ru**

Гепатоцеребральная дистрофия (ГЦД) — заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования. Клиническая картина болезни определяется нарушением обмена меди с накоплением ее в печени и базальных ядрах полушарий головного мозга. Неврологическими проявлениями ГЦД являются мышечная ригидность и полиморфные гиперкинезы. В доступной нам литературе не встретилось случаев применения ботулотоксина типа А (ВТХ) у больных ГЦД для коррекции подобных симптомов.

Цель исследования — изучение эффективности применения ботулотоксина типа А у пациентов с ригидно-дрожательной формой ГЦД для уменьшения выраженности ригидности, дистонических гиперкинезов, восстановления простейших навыков самообслуживания, улучшения качества жизни.

Под нашим наблюдением находилось 2 пациента с длительностью манифестного течения ГЦД более 5 лет.

Клиническая картина была представлена мышечной ригидностью и преимущественно дистоническими гиперкинезами. Оба пациента получали патогенетическую медь-элиминирующую терапию, дофаминергические, миорелаксантные, нейротрофические препараты.

В связи с недостаточной эффективностью проводимой терапии выполнялись инъекции ВТХ в мышцы верхних и нижних конечностей, диафрагмы рта, латеральные крыловидные мышцы, что привело к уменьшению выраженности ригидности, регрессу гиперкинетических синдромов.

Таким образом, добавление инъекций ВТХ к базовой патогенетической терапии оказалось эффективным для уменьшения выраженности ригидности и гиперкинетического синдрома у пациентов с ГЦД.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ И ПРОФИЛАКТИКА ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ У ДЕТЕЙ

Н.С. Демикова, А.С. Лапина

ФГУ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Росмедтехнологий, г. Москва,
e-mail: ndemikova@pedklin.ru

В настоящее время во многих странах мира, в том числе и в России, среди причин младенческой и детской смертности, заболеваемости и инвалидности первые места занимают врожденные пороки развития (ВПР). Дети с пороками развития нуждаются в длительном и сложном лечении и реабилитации, и даже после этого примерно 25% больных остаются инвалидами. В связи с этим очевидно, что основные усилия должны быть направлены на снижение уровня ВПР. Эффективность и целенаправленность профилактических программ во многом зависит от знания эпидемиологии ВПР. Основным источником эпидемиологических данных по врожденным дефектам является мониторинг ВПР. В регионах РФ мониторинг пороков развития проводится с 1999 года. За этот период времени в регионах сформированы базы данных по ВПР, определены базовые частоты отдельных форм ВПР, что позволяет прогнозировать ожидаемое число пороков на последующий период. Анализ объединенной базы данных выявил межрегио-

нальные колебания уровня ВПР. При анализе динамики частот отдельных форм ВПР по годам показано, что для большинства пороков развития колебания частот носят случайный характер. Однако выявлена тенденция к снижению частоты дефектов нервной трубки среди новорожденных детей. Это связано с массовым скринингом беременных и все более широким применением пренатальной диагностики этой группы пороков с последующей элиминацией пораженных плодов. Очевидно, что длительное наблюдение за частотами пороков позволит не только определить поведение их во времени, но и оценить влияние профилактических мероприятий, проводимых как на уровне регионов, так и страны в целом. Таким образом, регулярный мониторинг ВПР на сегодняшний день является единственным реальным средством контроля врожденных аномалий на популяционном уровне и поэтому является необходимым звеном в системе профилактики ВПР.

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ НАРУШЕНИЙ ЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА С ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Т.И. Кадурина¹, А.Н. Аббакумова²

¹ Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург
e-mail: tikadurina@mail.ru

² Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

Изучен элементный статус у детей с дисплазией соединительной ткани (ДСТ) и оценено его влияние на характер течения данной патологии. Обследовано 92 ребенка (мальчиков — 54; девочек — 38) в возрасте от 4 до 18 лет с ДСТ, проживающих в Санкт-Петербурге. Содержание химических элементов в волосах определялось атомно-абсорбционным методом (спектрометр Karl Zeiss AAS-30) по стандартной методике.

У значительного числа детей с ДСТ установлено снижение содержания в волосах таких макроэлементов, как К (83,5%), Са (64,5%) и Mg (47,8%). Снижение уровня магния в волосах девочек было более выраженным, чем у мальчиков, и наблюдалось во всех возрастных группах. Практически у всех обследованных выявлено снижение Si (100%) и Se (95,6%), а у многих — Cr (64,4%), Cu (58,7%), Mn (53,8%), Fe (46,7%) и Zn (38,5%). Достаточно часто встречалось повышение содержания в воло-

сах Pb (68,2%), Co (50,6%), Cd (49,4%) и Ni (48,3%). Установлено, что гиперрастяжимость кожи достоверно чаще наблюдается в группе детей с дефицитом Si, Se, Fe и повышением уровня Al; геморрагический синдром — при дефиците Mg и S; снижение массы тела — при уменьшении содержания Cr; марфаноидный фенотип — при повышении Al и As. Отмечено снижение уровня K, Mg, Si, Mn, Se у пациентов с пролапсом митрального клапана; Si и Mg — при синдроме гипермобильности суставов, а повышение Mg, Ca, Si, Mn и Se — при дегенеративных изменениях позвоночника.

Таким образом, проведенные исследования выявили у детей с ДСТ достоверное снижение концентрации большинства макро- и микроэлементами специфических элементов, повышение уровня ряда токсических микроэлементов и взаимосвязь элементного дисбаланса с особенностями клинического течения ДСТ у детей.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ С ХАРАКТЕРОМ ТЕЧЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Т.И. Кадурина¹, Л.Н. Аббакумова²

¹ Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

Цель исследования: изучить взаимосвязь ряда метаболических нарушений с характером течения наследственных нарушений соединительной ткани (ННСТ) у детей.

Обследовано 547 больных в возрасте от 4 до 18 лет с ННСТ разного генеза. Проанализированы показатели синтеза (остеокальцин, общий PINP) и катаболизма коллагена (почечная экскреция оксипролина — ОП и пирилинкса — D; содержание в крови дезоксиридинолина, β -Cross Laps тест), уровень гликозаминогликанов (ГАГ) в моче; содержание микроэлементов в волосах и сыворотке крови; свободных аминокислот и общего карнитина в сыворотке крови.

У большинства детей выявлено повышение экскреции в суточной моче ОП и ГАГ и снижение содержания свободных заменимых и незаменимых аминокислот в сыворотке крови и моче. Установлена взаимосвязь между одновременным повышением ОП и ГАГ в суточной

моче более 150% должной величины и тяжестью клинического состояния пациентов ($p < 0,02$). Выявлена корреляция между снижением уровня свободного пролина, лейцина+изолейцина, повышением свободного оксипролина в сыворотке крови и тяжестью клинической картины ($p < 0,03$), а также между снижением содержания свободного лизина и возрастом пациентов ($p < 0,05$). У большинства обследованных диагностирован разной степени выраженности дефицит таких макро- и микроэлементов, как Mg, Ca, P, Si, Fe, Zn, S, Cr, S, и повышение средней концентрации токсичных микроэлементов — As, Ni, Pb и Sr в волосах. У 80% обследованных диагностировано снижение уровня общего карнитина в сыворотке крови.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о наличии выраженных метаболических нарушений у детей с ДСТ и доказывают целесообразность их коррекции.

ВКЛАД НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ В ФОРМИРОВАНИЕ МНОЖЕСТВЕННЫХ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

К.Ю. Лазарев¹, В.И. Голубцов¹, Е.Е. Панкова², С.А. Матулевич², А.Т. Зайцева¹

¹ Кубанский государственный медицинский университет

² Кубанская межрегиональная медико-генетическая консультация ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского, e-mail: lazarev_ku@mail.ru

Врожденные пороки развития (ВПР), в том числе множественные (МВПР), занимают одно из первых мест в структуре заболеваемости детского населения. Региональные различия частот ВПР в определенной мере объяснимы организацией и проведением территориальной их регистрации. Вместе с тем нельзя исключить роль мутационного процесса в популяциях, а также наследования патологических генов родителей. Систематический мониторинг ВПР позволяет оценивать и сопоставлять динамику частоты и нозологического спектра этой патологии как во времени, так и в пространстве. Наследственные факторы играют ведущую роль в этиологии МВПР.

Материалом для настоящего исследования послужила база данных мониторинга ВПР Кубанской межрегиональной медико-генетической консультации. За 1998–2008 гг. зарегистрировано 18,77% новорожденных с ВПР. Из них 44,78% с ВПР, подлежащих обязательной

регистрации. МВПР зарегистрированы у 3,99% новорожденных. В структуре МВПР 40,96% случаев регистрации приходится на хромосомные синдромы и 24,73% — на моногенную патологию. Неклассифицированные комплексы МВПР составили 34,31%. МВПР, обусловленные хромосомными перестройками, составили 2,80%. Геномные мутации, приведшие к формированию МВПР, определены в 97,20% случаях, из которых анеуплоидии аутосом — 93,80% и гетероплоидии половых хромосом — 6,20%. Отдельную группу представляют МВПР моногенной этиологии: с аутосомно-доминантным наследованием (АД) — 57,08%, аутосомно-рецессивным (АР) — 27,84%, X-сцепленным (X_{cc}) — 4,87%, с неуточненным типом наследования (НТН) — 10,21%. Данная категория МВПР включала 151 нозологическую форму моногенных этиологий с различным типом наследования: АД — 71 синдром, АР — 51, X_{cc} — 13, а также 18 нозологий с НТН.

Таким образом, доминирующим этиологическим фактором МВПР среди новорожденных Краснодарского края является наследственная компонента (хромосомные, моногенные синдромы и неклассифицирован-

ные комплексы), что сопоставимо с аналогичными исследованиями в других регионах Российской Федерации и ближнего зарубежья.

НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОГЕНЕЗА МУКОВИСЦИДОЗА

А.А. Пухальский, Г.В. Шмарина, Н.И. Капранов, В.А. Алешкин*

Медико-генетический научный центр РАМН, Москва, osugariver@yahoo.com

* Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

Хотя муковисцидоз (МВ) является моногенным аутосомно-рецессивным заболеванием, обусловленным мутациями в гене *CFTR*, попытки связать тяжесть его течения с отдельными типами мутаций не дали удовлетворительных результатов. По-видимому, существуют другие, в том числе и генетические, механизмы, определяющие индивидуальные особенности течения МВ. В связи с этим можно выделить несколько уровней, на которых целесообразно проводить изучение патогенеза МВ. *Клеточный уровень.* Известно, что синтез дефектного *CFTR* ведет к накоплению его в клетке и, как следствие, к стрессу эндоплазматического ретикулума, торможению белковых синтезов и апоптозу. С этой точки зрения МВ можно рассматривать как частный случай болезни накопления. *На уровне адаптационных систем организма человека,* к которым в первую очередь относятся иммунная и нейроэндокринная системы, наилучшим образом изучена связь аллельного полиморфизма генов семейства *TNF* с такими осложнениями МВ, как

атопии, включая бронхиальную астму, остеопороз и раннее истощение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Можно думать, что частые эпизоды стресса, которым подвергаются больные МВ, могут приводить к изменению модели метилирования глюкокортикоидных рецепторов. Таким образом, на течение МВ могут также влиять *эпигенетические факторы*, связанные с особенностями жизни больного. Еще одним уровнем исследования может быть изучение взаимоотношений макроорганизма и патогенной флоры, заселяющей дыхательные пути больного МВ. Известно, что некоторые штаммы синегнойных бактерий образуют алгинатную пленку. Это создает ситуацию, напоминающую динамическое равновесие между слизистой оболочкой и микробиотой в толстом кишечнике. Изучение механизмов такого равновесия и условий его нарушения может дать ключ к пониманию причин внезапной декомпенсации и смерти некоторых, на первый взгляд, благополучных больных.

СИНДРОМ АБДЕРГАЛЬДЕНА–ЛИНЬЯКА–КАУФМАНА

Т.Н. Стрелкова, М.В. Рогова, А.П. Карпова, С.Л. Зиновьева

ГУЗ «РАКБ МЗ УР», г. Ижевск, e-mail: dethir@igma.udm.ru

Синдром Абдергальдена–Линьяка–Кауфмана — наследственное (аутосомно-рецессивное) заболевание, обусловленное первичными нарушениями обмена цистина с отложением кристаллов в органах и тканях, в т. ч. в почках, в клетках проксимального канальца с развитием синдрома Фанкони. Клинические случаи цистиноза: мальчик — 5 мес., мать и отец мальчика здоровы, брак не родственник. При поступлении в нефрологию лейкоцитурия, оксалатурия, Нв — 89 г/л, тубулопатия с нефрокальцинозом по УЗИ. Через 2 мес. ухудшение состояния, анурия, азотемия-мочевина — 34,5 ммоль/л, креатинин — 239,5 мкмоль/л, выраженный ацидоз. Начат ПАПД. В 11 мес. поступает с полиорганной недостаточностью. Проводился гемодиализ. На фоне нарастания ССН наступила смерть. *Диагноз:* Цистиноз с отложением кристаллов в интерстиции и канальцах почек, коллоиде фолликулов щитовидной железы, миокарде, стенке

сосудов. ТХПН. ЗПТ в виде ПАПД, ГД. Девочка — 3,5 мес. (сестра) поступает в нефрологию: мочевины — 3,7 ммоль/л; креатинин — 36 ммоль/л. В 1 мес. увеличение размеров щитовидной железы, диффузные изменения почек, лейкоцитурия. В 3 мес. мочевины — 8,7 ммоль/л; креатинин — 74 ммоль/л, через 2 недели: мочевины — 29,2 моль/л, креатинин — 368,8 ммоль/л, аппетит отсутствует, частое срыгивание, отеки, анурия. Начата ЗПТ в виде ПАПД. В 10 мес. поступает с массивными отеками, АГ (до 130/90). От полиорганной недостаточности наступила смерть. *Диагноз:* Цистиноз с отложением кристаллов в почках, миокарде, легких. ТХПН. ЗПТ в виде ПАПД. Данные случаи показывают отсутствие клинических проявлений на ранних стадиях развития болезни, трудность прижизненной диагностики заболевания, быстрое развитие терминальной ХПН.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ СИНДРОМА БАРТТЕРА

Т.Н. Стрелкова, Т.Н. Поздновская, М.В. Мухачева, А.П. Карпова
ГУЗ «РАКБ МЗ УР», г. Ижевск, e-mail: dethir@igma.udm.ru

Первичный синдром Барттера — аутосомно-рецессивно наследуемая тубулопатия. В основе болезни лежит нарушение системы транспорта калия, натрия, хлора.

Мы располагаем клиническим наблюдением больного с синдромом Барттера, находящегося под нашим контролем с 5-мес. возраста. Мальчик от 5 беременности, третьих родов, протекавшей с угрозой прерывания на сроке 20 недель, многоводия в третьем триместре беременности. Роды путем кесарева сечения. Состояние при рождении удовлетворительное. Масса при рождении 3230 г, длина тела — 55 см.

Был обследован в РДКБ г. Ижевска в 5 месяцев. При поступлении в стационар состояние больного тяжелое. Жалобы на тошноту, рвоту, жидкий стул до 5–6 раз в сутки, вялость, повышенная сонливость, снижение аппетита и потеря в весе до 500 г за неделю. Физическое развитие дисгармоничное с выраженным дефицитом

массы тела. Выраженная гиперестезия. Кожные покровы бледные, подкожно-жировая клетчатка развита слабо, тургор снижен. Дыхание в легких жесткое, тахипное до 42 в мин. Тоны сердца приглушены, ритмичные, частота сердечных сокращений 136 в мин.

В крови выявлен лейкоцитоз, тромбоцитоз, гипокалиемии (1,59 ммоль/л), гипонатриемии (106,2 ммоль/л), гипокальциемии (1,44 ммоль/л) с метаболическим алакалозом (рН — 7,93). Суточная экскреция с мочой электролитов в пределах нормы.

Учитывая клинико-лабораторные изменения, ребенку был выставлен диагноз: Синдром Барттера.

Диагноз был подтвержден в Московском НИИ педиатрии и детской хирургии МЗ РФ. На фоне терапии верошпирона, индометацина и препаратов калия состояние больного удовлетворительное. Ребенок находится на диспансерном учете у педиатра и нефролога.

ВЫЯВЛЕНИЕ МУТАЦИИ R408W СРЕДИ БОЛЬНЫХ ФКУ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

С.Е. Хальчицкий, М.О. Мхеидзе, И.Ф. Никифорова, И.А. Иванов, Н.П. Стадник, Е.С. Шабанова
Областная детская клиническая больница, Санкт-Петербург, e-mail: s_khalchitski@mail.ru

Фенилкетонурия (ФКУ) — наследственная аминокислотопатия, ферментопатия, характеризующаяся генетической гетерогенностью и полиморфизмом. Классическая ФКУ (MIM261600), наиболее частый вариант заболевания, обусловлена мутациями в гене PAH (12q24.1), детерминирующем синтез фенилаланин-4-гидроксилазы (ФАГ, КФ1.14.16.1). ФАГ контролирует скорость лимитирующую реакцию гидроксилирования Фен с образованием Тир в присутствии кофактора тетрагидробиоптерина. Структура PAH гена включает 90 000 пн и 13 экзонов. Мутация R408W является мажорной как для населения многих европейских государств, так и для населения Москвы и Санкт-Петербурга. Благодаря неонатальному скринингу силами Медико-генетического центра СПб и Лаборатории цитогенетических и молекулярно-генетических исследований ОДКБ сформирована группа пробандов с ФКУ в Ленинградской области. Для выявления мутации R408W ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови и пятен крови на фильтрах, полученных от больных ФКУ и членов их семей, используя набор реагентов фирмы «ДНК-Техно-

логия» (Россия) по протоколу фирмы — производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на программируемом термоциклере Mastercycler фирмы «Eppendorf» (Германия) с использованием ДНК-полимеразы Tergmus aquaticus фирмы «Сибэнзим» (Россия). Обследовано 27 пробандов (возраст от года до 23 лет, 12 пробандов мужского пола, 15 женского пола), в том числе в двух семьях две пары разнополых sibсов. Выявлено 9 человек, гомозиготных по мутации R408W, 15 человек — компаунды со вторым не идентифицированным аллелем, у трех пробандов аллель R408W отсутствовал. Таким образом, в обследованной группе больных ФКУ частота аллеля R408W равна 61,1%. При медико-генетическом консультировании двух семей осуществлено выявление R408W мутации у фенотипически здоровых sibсов и родителей пробандов: 1) у пробанда (генотип R408W/R408W) генотип родной сестры не содержал данную мутацию; 2) у пробанда (генотип R408W/?) в генотипе родного брата выявлен данный аллель, в генотипе сводного брата данная мутация не обнаружена.

ВОПРОСЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ ЛИЗОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАКОПЛЕНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

А.Р. Шорина¹, Н.П. Федорук², А.Б. Масленников¹

¹ ГБУЗ «Государственный Новосибирский областной клинический диагностический центр»

² МУЗ НМДКБ СП № 3

Лизосомные болезни накопления (ЛБН) относятся к числу редких наследственных заболеваний. На территории Новосибирской области выявлено 23 пациента с ЛБН. Диагнозы были подтверждены в лаборатории наследственных болезней обмена Медико-генетического научного центра РАМН г. Москвы. Достижения последних лет привели к созданию эффективных методов метаболической коррекции ЛБН — прежде всего это ферментная заместительная терапия (ФЗТ).

В связи с выявлением на территории НСО пациентов с такими заболеваниями, как болезнь Хантера (6 пациентов), болезнь Фабри (8 пациентов), болезнь Марото-Лами (2 пациента), болезнь Гоше (6 пациентов), Нимана-Пика (1 пациент), встал вопрос о возможности организации лечения таких больных.

В настоящее время лечение по поводу МПС 2 типа получают 4 ребенка. Ежедневные инфузии препаратом

«Элапраза» улучшили качество жизни пациентов, привели к возрастанию показателя ФЖЕЛ, сокращению линейных размеров печени и селезенки, уменьшению экскреции гликозаминогликанов. Шесть пациентов с болезнью Гоше получают лечение препаратом «Церезим». При лечении отмечается положительная динамика в виде стабилизации гематологических показателей, снижения уровня хитотриазидазы, уменьшения гепатоспленомегалии. ФЗТ хорошо переносится, не вызывает выраженных побочных эффектов.

Опыт организации лечения пациентов с данными нозологиями открывает возможности для лечения пациентов и с другими ЛБН, выявленными на территории области, для которых разработана специфическая ФЗТ.

ПРЕКОНЦЕПЦИОННАЯ И ПРЕДИМПЛАНТАЦИОННАЯ ДИАГНОСТИКА

МОНИТОРИНГ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ

В.К. Поздеев

НИИ Гриппа СЗО РАМН, Санкт-Петербург, e-mail: vkpozdeev@mail.ru

В предимплантационный период необходима объективная оценка катаболических и анаболических процессов в организме пациента, в частности, по содержанию в плазме крови глутаминовой (Glu), аспарагиновой (Asp) кислот, глутамина (Gln), аспарагина (Asn), таурина (Tau), общего гомоцистеина (tHcy), общего цистеина (tCys), серина (Ser).

Цель исследования: изучение обмена нейроактивных аминокислот (Glu, Asp, Gln, Asn, Tau), аминотиолов (Hcy, Cys) при снижении функции печени и способов коррекции метаболических нарушений.

Материалы и методы. Обследованы 14 здоровых волонтеров (20–45 лет) и 55 больных хроническим гепатитом С. Определение аминокислот осуществлялось по разработанному нами методу высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколоночной дериватизацией ортофталевым альдегидом и флуориметрическим детектированием*.

Результаты. В плазме крови больных концентрация Glu ($32,2 \pm 16,9$ мкМ,) в 2,7 раза выше по сравнению с волонтерами ($11,7 \pm 7,7$ мкМ, $p < 0,001$); Gln ($865,0 \pm 141,0$ мкМ) в 1,6 раза выше нормы ($552,4 \pm 101,2$ мкМ, $p < 0,001$), концентрация Asp ($2,8 \pm 0,8$ мкМ) в 1,75 раза выше нормы ($1,6 \pm 0,6$ мкМ, $p < 0,02$); Asn ($64,7 \pm 15,8$) в 1,3 раза выше нормы ($49,0 \pm 10,3$ $p < 0,01$); tHcy ($15,9 \pm 5,6$ мкМ) в 2,5 раза выше нормы ($6,2 \pm 2,4$ мкМ, $p < 0,01$); tCys ($252,8 \pm 49,7$ мкМ) в 1,5 раза выше нормы ($172,3 \pm 35,3$ мкМ, $p < 0,01$); Ser ($113,1 \pm 23,3$ мкМ) в 1,4 раза выше нормы ($80,9 \pm 21,5$ мкМ, $p < 0,001$). Прямая корреляционная зависимость между Gln-Asn — у волонтеров $r = 0,67$, у пациентов $r = 0,61$; между Glu-Gln и Asp-Asn — отсутствует. Содержание Tau ($29,2 \pm 8,8$ мкМ) снижено в 1,4 раза (в норме $40,9 \pm 13,3$ мкМ, $p < 0,02$). Уровень активности трансаминаз повышен в 2–4 раза: АлАТ — у 48 пациентов, АсАТ — у 44 пациентов. Стеатоз печени выявлен у 22 пациентов.

* V.K. Pozdeev, N.V. Pozdeyev. Determination of total aminothiols and neuroactive amino acids in plasma by high performance liquid chromatography with fluorescence detection // Biochemistry, Moscow, Supplement B, Biomedical Chemistry, 2010. — V. 4. — N3.

Обсуждение. Гипераминоацидемия (по Glu, Gln, Asp, Asn), гипергомоцистеинемия, дефицит Tau наблюдается при тяжелых поражениях печени и почек, гиповитаминозах (В₆, В₁₂, фолиевой кислоты), дефиците антиоксидантов, мутациях ключевых ферментов, приводящих к нарушению синтеза Tau, инактивации Hcy, дезаминированию и переаминированию аминокислот; снижению выделительной функции почек (где Gln дезаминируется глутаминой с образованием Glu и аммиака, последний выводится в мочу); выходу аминотрансфераз (АлАТ, АсАТ) в кровь. Глутамат — ключевой метаболит: внутрипеченочная концентрация Glu модулирует скорость детоксикации аммония в мочевины (посредством участия в синтезе аспартата); в панкреатических β-клетках чрезмерная глутаматдегидрогеназная оксидация Glu опосредует аминокислот-стимулируемую секрецию инсулина и синдром гиперинсулинизма-гипераммониемии. Глутамат в ЦНС выполняет роль возбуждающего медиатора (а после его декарбоксилирования тормозного медиатора — ГАМК) и предупреждает гипераммониевую нейротоксичность ($Glu + NH_3 = Gln$); при дефиците В₆ и мутации глутаматдекарбоксилазы — преобладание Glu-возбуждающей медиации и пиридоксаль-зависимые припадки. Гипергомоцистеинемия активирует медиаторы воспаления (NF-κβ, IL-1β, IL-6 IL-8), оксидантный стресс, стресс эндоплазматического ретикулума (JNK-протеинкиназы, запускающие апоптоз), аутоиммунный конфликт. Таурин — антиоксидант, стабилизатор мембран, предупреждает осмотический стресс, патологическую агрегацию тромбоцитов, гипергликемию.

Выводы. 1) При подготовке пациентов к трансплантации целесообразно ВЭЖХ-мониторирование биологически активных аминокислот в плазме крови. 2) В качестве коррекции метаболических нарушений необходима метаболическая терапия витаминами В₆ (кофактор цистатионин-β-синтазы, глутаматдекарбоксилазы, аминотрансфераз), В₁₂ (кофактор метионинсинтазы), фолиевой кислотой (кофактор метилентетрагидрофолатредуктазы), С, А и токоферолом (антиоксиданты), тауринотерапия.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

CYTOGENETIC/MOLECULAR APPROACHES TO STUDYING SPONTANEOUS ABORTIONS

Anna Soler

Cytogenetics and Clinical Genetics Unit.
Biochemistry and Molecular Genetics Service.
Hospital Clinic de Barcelona. Spain

Around 15% of clinically recognizable pregnancies result in spontaneous abortions, most of them in the first weeks of gestation. About 50% of first trimester fetal losses are caused by chromosome abnormalities, mainly sporadic aneuploidies or triploidies, but in a minority of cases by structural chromosome aberrations, which can be derived from a parental balanced rearrangement. Cytogenetic analysis of spontaneous abortions provides valuable information in order to offer a better recurrence risk estimate for the couple.

Traditional cytogenetic testing of spontaneous abortions has involved conventional tissue culture and karyotyping of chorionic villi/placenta or fetal material. This technique is labor-intensive and has a low success rate (about 60%), due to lack of cell growth, external microbial contamination and/or overgrowth of maternal cells present in the specimen. On the other hand, this technique detects all kind of numerical and structural chromosome abnormalities, including those associated with a parental rearrangement, with a resolution of 5–10 Mb.

An alternative approach has been applied for the cytogenetic study of spontaneous abortions, with a better success rate. It consists in obtaining a chorionic villi sample (CVS) before evacuation and performing short-term culture of villi and karyotyping. This technique eliminates maternal cell contamination and minimizes external microbial contamination. Also, it is a faster method that allows the detection of all kind of chromosome abnormalities. A potential drawback is the detection of some chromosome abnormalities confined to the placenta; however, they may also play a role in the cause of fetal wastage. Using this approach, in our center we studied a series of 423 spontaneous abortions with a failure rate of 16.6% and an overall rate of abnormal karyotypes of 72.6%. The abnormal karyotypes included one tetraploidy (0.3%), triploidies (14.7%), trisomies (67.4%), monosomies (11%) and structural rearrangements (6.6%). Ten percent of these cases presented a combination of two different chromosome abnormalities.

Other genetic techniques, which obviate the need for cell culture, have been successfully applied to detect chromosome abnormalities in spontaneous abortions. Fluorescent in situ hybridization (FISH) and quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) are

techniques that permit the determination of the copy number of selected chromosomes in uncultured tissues. Their major disadvantage is the limited number of chromosomes tested, usually the common combination 21-18-13-X-Y or, more specific for fetal wastage, a combination that also includes chromosomes 15-16-22. Moreover, FISH techniques are also time-consuming and relatively expensive. Using these approaches, it is possible to detect aneuploidies involving only the chromosomes tested, as well as triploidies, but no structural rearrangements. We applied the described 8-chromosomes-QF-PCR in 56 samples without karyotype and obtained a 35.7% of chromosome abnormalities with a success rate of 98%, the usual figure for molecular analyses.

Other molecular cytogenetic techniques that have proven to be helpful in the detection of chromosome abnormalities in spontaneous abortions are multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), comparative genomic hybridization (CGH) and array-CGH. CGH techniques allow the detection of chromosomal gains and losses affecting the whole genome in a single reaction, with array-CGH giving the highest resolution. Subtelomeric MLPA allows the detection of all aneuploidies and most unbalanced rearrangements, since almost all anomalies diagnosed involve gains or losses of subtelomere regions. However, these molecular approaches are unable to detect on the one hand balanced rearrangements, and on the other hand triploidies and tetraploidies, which account for 10–15% of early fetal losses, and they should be combined with other techniques such as flow cytometry or FISH for the detection of polyploidies.

In order to reduce costs, which are often unaffordable for the majority of diagnostic laboratories (especially when concerning the array-CGH technique), and improve the efficiency and the diagnostic success rate, other combinations of techniques have been applied, such as the use of karyotyping plus QF-PCR or MLPA in unsuccessful cases, or the combined QF-PCR and MLPA approach.

Every technique has its advantages and limitations. Based on its own experience and possibilities, each diagnostic laboratory should choose its particular approach for the detection of chromosome abnormalities in spontaneous abortions.

MODERN APPROACHES TO NEONATAL SCREENING

Prof. Dr. Eberhard G. Mönch,
Charité, Berlin, Germany

Presentation on the first Russian congress with international participation
“Molecular basis of clinical medicine: state-of-the-art and perspectives”

Neonatal screening is a program, which aims at early identification of conditions for which early and timely intervention can prevent or reduce associated mortality and morbidity. The newest screening technology is the tandem mass spectrometry (tandem MS; MS/MS). MS/MS-newborn screening requires confirmatory testing and clinical evaluation before a diagnosis can be made.

Before starting the neonatal screening with this high technology system you have to make sure that long-term follow up monitoring and management is guaranteed by clinical professionals and respective facilities and resources for medical food, medications and supplements required for treatment are available.

Recommended neonatal screening done by “one test, one disorder tests” (like screening for hypothyroidism or biotinidase deficiency) as well as by MS/MS technic is different in the different countries in Europe, USA, Australia and Canada. The German recommendation for newborn screening includes (since 2004):

- Hypothyroidism
- Congenital adrenal hyperplasia (CAH)
- Biotinidase Deficiency
- Galactosaemia (Classic)
- Phenylketonuria (PKU)
- Maple syrup urine disease (MSUD)
- Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (MCAD)-Deficiency
- Long-Chain-3-0H Acyl-CoA-Dehydrogenase (LCHAD)-Deficiency

(Very-) Long-Chain Acyl-CoA-Dehydrogenase (VLCAD)-Deficiency

Carnitin-Palmitoyl-CoA-Transferase I (CPT I)-Deficiency

Carnitin-Palmitoyl-CoA-Transferase II (CPT II)-Deficiency

Carnitin-Acylcarnitin-Translocase (CACT)-Deficiency

Glutaric acidemia type I (GA 1)

All inborn errors – except the 4 listed on top – can be detected by MS/MS-Screening.

All of the nearly 700.00 newborn babies per year in Germany are checked under the same conditions and under strong administrative and quality controls.

The expansion of the neonatal screening panel by MS/MS and other methods is under discussion.

Target disorders are:

Cystic fibrosis (CF)

Methyl malonic acidemia (different types)

Tyrosinosis type I

Argininosuccinic aciduria

Lysosomal storage Disorders (now treatable) like Morbus Pompe, Hunter- and Hurler Diseases, Morbus Gaucher and Fabry Disease.

Details of the discussion about new screening recommendations were given.

Molecular genetic tests are often used in Germany for the confirmation diagnostics.

PREIMPLANTATION DIAGNOSIS: PRIMARY PREVENTION OF GENETIC DISORDERS AND STEM CELL THERAPY OF CONGENITAL AND ACQUIRED CONDITIONS WITH NO OTHER AVAILABLE TREATMENT

Anver Kuliev
Reproductive Genetics Institute, Chicago, USA

Applied initially for primary prevention of Mendelian disorders, preimplantation genetic diagnosis (PGD) has gradually become an established procedure for avoiding risk of chromosomal abnormalities and common disorders with genetic predisposition. PGD was further applied even for non-genetic conditions, to preselect HLA compatible progeny, with or without PGD, and most recently for derivation of the disease and individual specific embryonic stem cell (ESC) lines.

Our two decades' experience includes, approximately 8,000 PGD cases performed more than 200 different genetic conditions, representing the world's largest series of 2000 PGD for monogenic disorders, yielding birth of 630 unaffected children, with 99,4% accuracy rate. This includes the increasing number of PGD for late onset disorders, including 185 for cancer predisposition in couples at risk for producing 18 different inherited cancers. This largest PGD series resulted in transfer of hundreds of embryos free from

genes predisposing to specific cancers, yielding birth of over 60 healthy children free from cancer predisposition. Among other novel PGD applications were predisposition to Alzheimer disease, coronary heart disease, and blood groups.

Our PGD experience for non-genetic conditions includes the largest series of over 300 HLA typing cases, which already yielded hundred pregnancies and deliveries of healthy HLA matched babies, with the high accuracy rate of 99,4%. This includes 200 in combination with PGD for genetic disorders (thalassemia, sickle cell disease, Fanconi anemia (FA), Wiscott-Aldrich syndrome (WAS), X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD), X-linked Hyper-IgM Immunodeficiency (HIGM1), X-linked hypohidrotic ectodermal displasia with immune deficiency (HED-ID), Krabbe disease, inherited form of Diamond-Blackfan anemia (DBA) and X-Linked Chronic Granulomatous Disease (CGD), involving the pre-selection of unaffected children who were also HLA identical to the affected sibling, allowing the exciting possibility for improving access to HLA compatible stem cell transplantation for increasing number of severe congenital and acquired bone marrow disorders, which is presently restricted by the availability of HLA matched donors.

The majority of PGD cases are still performed for chromosomal abnormalities, including aneuploidies and translocations. Our experience involves over 5000 PGD for aneuploidies, which allowed improving effectiveness of assisted reproductive technology. The high accuracy of technique was achieved by three step FISH analysis: first and second polar body for 5 chromosomes, blastomere analysis for 9 chromosomes, and blastocyst biopsy if necessary, which resulted in over 1,000 healthy children born. Of special practical importance were 475 PGD for translocations, resulting in birth of 130 unaffected children, with only 22 (16,8%) spontaneous abortions. These couples had 75% spontaneous abortion and stillbirth rate prior to PGD, suggesting considerable reduction of fetal loss rate after the application of PGD.

Finally, the most recent and exciting application of PGD is the establishment of human ESC lines. Our work in this direction resulted in derivation of 327 human ESC lines, which is the world's largest repository, containing also the only collection of 87 disease specific ESC with genetic and chromosomal disorders, representing a unique in vitro model for the developments of cellular therapy of common congenital and acquired disorders (www.stemride.com).

БИОАКТИВНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

И.И. Крукиер, А.Т. Лигидова, А.А. Никашина, А.В. Рожков

**ФГУ «Ростовский НИИ акушерства и педиатрии Росмедтехнологий», Ростов-на-Дону,
e-mail: biochem@rniiap.ru**

Актуальность проблемы преждевременного прерывания беременности обусловлена тем, что данная патология определяет уровень перинатальной заболеваемости и смертности (Кулаков В.И. и соавт., 2002). Перинатальная смертность недоношенных новорожденных в 33 раза выше, чем доношенных, на долю недоношенных детей приходится 60–70% ранней неонатальной смертности и 65–75% детской смертности (Сидельникова В.М., 1995).

В последние десятилетия большой интерес представляют особенности клеточно-молекулярных взаимодействий, происходящих в эндометрии с момента оплодотворения и лежащих в процессах развития беременности. Среди большого числа регуляторов клеточно-молекулярных функций важная роль принадлежит высокогликозилированному белку, с сильной иммуносупрессивной активностью — гликоделину. Гликоделин-А

представляет собой гликопротеин, который синтезируется преимущественно эпителиоцитами маточных труб и секретируется в маточную и амниотическую жидкость.

В связи с этим целью работы явилось изучение содержания гликоделина-А у женщин с угрозой прерывания беременности. Исследования проведены в сыворотке крови 115 пациенток, 55 из которых имели признаки угрозы прерывания и у 60 — беременность и роды протекали без осложнений.

У обследованных нами женщин с признаками угрозы прерывания беременности было обнаружено снижение уровня гликоделина-А относительно показателей при физиологическом течении беременности и родов, что позволяет рассматривать его как один из маркеров потери беременности.

ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Т.Н. Погорелова, В.И. Орлов, В.О. Гунько

ФГУ «Ростовский НИИ акушерства и педиатрии Росмедтехнологий», Ростов-на-Дону,
e-mail: rniip@yandex.ru

Использование протеомных исследований в акушерстве позволяет выяснить ранее неизвестные механизмы развития осложненной гестации и значительно повысить возможности своевременного выявления пренатальных повреждений.

Целью настоящей работы явилось изучение протеомного спектра околоплодных вод (ОВ) во II триместре беременности.

В проспективное исследование включены женщины с физиологической беременностью и осложнившейся задержкой роста плода (ЗРП), верифицированной после рождения ребенка. Идентификацию белков после их разделения и трипсинолиза проводили методом время-пролетной масс-спектрометрии с использованием алгоритмов биоинформатики. Сопоставление протеомного профиля ОВ выявило ряд белков отличия, отсутствующих при ЗРП: связывающий жирные кислоты эпидер-

мальный белок, участвующий в регуляции клеточной дифференцировки, антиоксидантный фермент перокси-редоксин-2 и неферментативный антиоксидант гаптоглобин. Нарушение продукции этих антиоксидантов, очевидно, способствует усилению окислительного стресса, нередко сопровождающего развитие ЗРП. Наряду с отсутствием в ОВ при осложненной гестации вышеуказанных белков, обнаруживается появление дополнительных белков, не выявленных при физиологической беременности: нейрокальцин дельта, CDC37-подобный белок и NKG2D лиганд 2. Продукция при ЗРП этих белков, особенно последнего, усиливающего секрецию эмбриотоксических цитокинов и активирующего апоптоз, по-видимому, имеет важное значение в механизмах развития данной патологии. Выявленные белки отличия могут служить маркерами состояния плода.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ АРХИТЕКТУРА ФЕНОТИПОВ РАСПРОСТРАНЕННЫХ СИНДРОМОВ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ В ПРАКТИКЕ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОГО ЭКСПЕРТА В СЛУЧАЯХ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ТУПОЙ ТРАВМЕ

Д.П. Березовский², И.В. Корниенко¹

¹ Южный федеральный университет, биолого-почвенный факультет, кафедра биохимии и микробиологии, 16 Государственный Центр судебно-медицинских и криминалистических экспертиз Северо-Кавказского военного округа, отделение молекулярно-генетической идентификации, e-mail: ikornienko@yandex.ru

² Ростовский Государственный медицинский университет, кафедра судебной медицины с курсом правоповедения, e-mail: dpb@mail.ru

Патология сосудистой системы занимает ведущее место по заболеваемости и смертности населения развитых стран. Патогенез сосудистых заболеваний обусловлен повышенным свертыванием крови с образованием тромба. Так, частота венозных тромбозов различной локализации составляет 1:1000 в год в странах Западной Европы и США. Т.е. для клинического врача тромботические осложнения не являются редкостью. В то же время, по данным нами проведенного статистического исследования, частота встречаемости в практике судебно-медицинского эксперта случаев, связанных с тромбозом, не велика. Так, при анализе показателей работы Ростовского областного бюро судебно-медицинской экспертизы (РО БСМЭ) установлено, что частота встречаемости подобных случаев составляет 28 на 10 000 экспертиз. Однако за последние 5 лет в СМИ активно обсуждалось по крайней мере 3 случая (потерпевшие — Сычев А., Рабоволик А., Куливец С.) с тромботическими осложнениями, имевшими судебную перспективу. По-

этому мы поставили цель — проанализировать подобные случаи за последние 5 лет, имевшие место в РО БСМЭ. Дополнительно нами было выполнено генетическое типирование имевшегося в архиве генетического материала на гены-кандидаты предрасположенности к тромбофилии. Всего было выявлено 4 экспертных случая, пострадавшими были мужчины. По результатам генетического типирования — во всех случаях имел место полиморфизм гена *MTHFR* (677ТТ и 677СТ), в то время как аутосомно-доминантные мутации в генах, ответственных за синтез II и V плазменных факторов свертывания крови, выявлены не были. Выводы: при проведении судебно-медицинской экспертизы, связанной с тромботическими осложнениями, необходимо проводить генетическое типирование на предмет выявления мутаций и полиморфизмов генов-кандидатов предрасположенности к тромбофилии; в свою очередь генетический анализ целесообразно начинать с выявления полиморфизмов гена *MTHFR*.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У РЕБЕНКА С СИНДРОМОМ ВОЛЬФА–ХИРШХОРНА, РОЖДЕННОГО У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННОЙ МАТЕРИ

С.Н. Колюбаева, Ю.С. Сергеев, Е.А. Волошина, О.В. Мерзликина, Н.А. Викторова, О.Р. Краснова
ФГОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ

Исследовали лимфоциты периферической крови у девочки в возрасте 1 год 1 месяц (вес 3064 г). Поступила в клинику с замедленным темпом физического и психомоторного развития. Отмечались также следующие признаки: микроцефалия, клювовидный нос, орбитальный гипертелоризм, аномальные ушные раковины, антимонолоидный разрез глаз, маленький рот. Кроме

того, она имела ряд сопутствующих заболеваний: дисплазия почек, гидронефроз второй степени справа, деформация желчного пузыря и высокий риск возникновения рефлюкс-нефропатии.

Мать — 27 лет, носительница ВИЧ-инфекции, при этом цитогенетический анализ не выявил хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови. Отец

здоров. Семейных случаев генетических нарушений не наблюдалось.

У ребенка, при анализе 66 метафазных пластинок лимфоцитов периферической крови, только 7 клеток имели нормальный кариотип. 42 клетки содержали одну кольцевую хромосому 4; 4 имели трисомию по хромосоме 6; 4 — трисомию по хромосоме 20; 2 содержали по 2 кольца из хромосом 4; 2 клетки были полиплоидными с кольцами из нескольких хромосом, что, по-видимому, связано с разрушением теломерных участков хромосом при наличии ВИЧ-инфекции, и по одной клетке со следующими повреждениями: трисомия по хромосоме 4, одна из которых замкнута в кольцо; трисомия по хромосоме 3; трисомии по хромосомам 12, 17, 18 в одной клетке; клетка с фрагментом в участке q31 хромосомы 2 и клетка с фрагментом хромосомы X в участке q21.

Цитогенетика наблюдаемого синдрома довольно характерная (как и многих делеционных синдромов). Синдром Вольфа–Хиршхорна называют 4p-синдромом как результат терминальной делеции короткого плеча хромосомы 4, который встречается с одинаковой частотой у мальчиков и девочек. Почти все пациенты с синдромом Вольфа–Хиршхорна имеют делецию, включающую регион в 165 килобаз на 4p16.3.

Из литературы известно, что большинство делеций возникает *de novo* (90%), в том числе и в нашем случае. Также известно, что около 12% больных имеют необычные цитогенетические нарушения (такие как кольца хромосомы 4). Таким образом, возможно, что в описанном нами случае пусковым механизмом образования кольцевой хромосомы является воздействие вируса на уже сформированную делецию.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРИ МУТАЦИИ ГЕНА WT1, РАСПОЛОЖЕННОГО НА 11P13

Т.Н. Стрелкова, А.П. Карпова, М.В. Рогова, С.А. Зиновьева
ГУЗ «РДКБ МЗ УР», г. Ижевск, e-mail: dethir@igma.udm.ru

Frasier-синдром характеризуется ранним дебютом нефротического синдрома и фокально-сегментарным гломерулосклерозом у детей с мужским псевдогермафродитизмом и мутацией в гене WT1 (ген опухоли Вильмса), расположенном на 11p13. Больная Яна С., 4 г., поступила в нефрологию РДКБ 10.07.2007 г. с отеками. Выявлена гипертрофия клитора (1 см), мочеиспускательный канал открывался на конце клитора, есть вход во влагалище, большие половые губы гипертрофированы, малых нет. Протеинурия более 10 г/л, выявленная в 6 месяцев, гипо- и диспротеинемия, гиперхолестеринемия. Получала преднизолон 2 мг/кг/сутки 5 недель — без эффекта (СПБ 2–8 г). При кариотипировании (46-XY) диагностирован мужской ложный гермафродитизм; 17 ОН прогестерон — 1,18 нмоль/л, кортизол — 467,8 нмоль/л, тестостерон — 1,41 нмоль/л.

Диагноз: синдром Frasier, и ребенок направлен в ФГУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии Росмедтехнологии», где в 10.2007 г. проведена биопсия и выявлен фокально-сегментарный гломерулосклероз с тотальным гиалинозом единичных гломерул, выраженный тубулоинтерстициальный компонент в виде склероза интерстиция, дистрофии тубулярного эпителия, а также признаки дизэмбриогенеза почечной ткани. Проведено молекулярно-генетическое исследование гена WT1 и выявлена мутация сайта-сплайсинга в 9 интроне с заменой гуанина на аденин, характерная для синдрома Фрайзера. 03.10.2008 года произведена лапароскопия с двусторонней гонадэктомией, пластика внутренних паховых колец, рассечение УГС, погружение клитора, пластика половых губ. Сейчас получает энап с целью нефропротекции.

МУКОВИСЦИДОЗ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА TNF

Г.В. Шмарина, А.А. Пухальский, В.А. Алешкин*

Медико-генетический научный центр РАМН, г. Москва, e-mail: sakmarariver@yahoo.com

* Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

Гены семейства фактора некроза опухолей *TNF*, *LTA* и *LTB* расположены тандемом в области III класса главного комплекса гистосовместимости на коротком плече шестой хромосомы. У млекопитающих эта высококонсервативная область не претерпела изменений за последние 180 миллионов лет. Тандем *TNF* и *LTA* является еще более древним (не менее 450 миллионов лет) и обнаруживается у всех челюстных позвоночных, начиная с костистых рыб. Нами было исследовано влияние аллельного полиморфизма генов *TNF* (транзИция G–A в промоторной области в позиции –308) и *LTA* (транзИция A–G в в первом интроне в положении 252) на воспалительную реакцию и течение муковисцидоза у 198 больных, состоявших на учете в Научно-клиническом отделе муковисцидоза МГНЦ РАМН. Полученные результаты показывают, что среди больных с генотипом высокой продукции TNF α (носители хотя бы одного из аллелей –308A или 252G) чаще встречались пациенты со среднетяжелым течением муковисцидоза ($p < 0,01$). В то же время больные с генотипом низкой продукции

TNF α (–308G/G, 252A/A) реже страдали атопическими заболеваниями, в том числе бронхиальной астмой и лекарственной аллергией ($p < 0,05$). Больным этой группы реже назначали альтернирующий курс преднизолонa. У большинства больных (77%) с генотипом высокой продукции TNF α был выявлен остеопороз, в то время как только у трети пациентов – низких продуцентов TNF α было обнаружено снижение минеральной плотности костной ткани. В соответствии с клиническими данными больные-носители аллелей, обуславливающих высокую продукцию TNF α , демонстрировали повышенный уровень ИЛ-5 и низкий АКТГ. Таким образом, больные с генотипом высокой продукции TNF α характеризуются агрессивной воспалительной реакцией, сопровождающейся ранним и быстрым истощением гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Недостаточность гормонов стресса существенно повышает вероятность развития таких тяжелых осложнений муковисцидоза, как астма и остеопороз.

ГЕНЕТИКА РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

MEIOTIC ABNORMALITIES IN HUMAN SPERMATOGENESIS

Renée H. Martin

Department of Medical Genetics, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada

The last few years have witnessed an explosion in the information about chromosome abnormalities in human sperm and the meiotic events that predispose to these abnormalities. We have determined that all chromosomes are susceptible to nondisjunction, but chromosomes 21 and 22 and, especially, the sex chromosomes have an increased frequency of aneuploidy. These chromosomes generally only have one chiasma at meiosis and thus they are more susceptible to abnormal segregation. In the last decade, there has been a great impetus to study chromosome abnormalities in sperm from infertile men because the advent of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) made it possible for these men to father pregnancies. A large number of

studies have demonstrated that infertile men have an increased frequency of chromosomally abnormal sperm and children, even when they have a normal somatic karyotype. We have shown that sperm chromosomal abnormalities are present in men with oligozoospermia, aethenozoospermia, teratozoospermia and azoospermia varying from 2 to 10-fold the frequency seen in control donors. Our meiotic studies on the pachytene stage of spermatogenesis have demonstrated that infertile men have impaired chromosome synapsis, a significantly decreased frequency of recombination, and an increased frequency of chromosomes completely lacking a recombination site. Such errors make these cells susceptible to meiotic arrest and the production of aneuploid gametes.

СОВМЕСТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПО РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН РОССИИ И УКРАИНЫ С ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫМИ ФОРМАМИ ТРОМБОФИЛИИ

А.С. Глотов, Е.С. Вашукова, М.Д. Канаева, Д.Р. Бикмуллина, М.С. Зайнулина, П.С. Татарский*,
Л.А. Лившиц*, В.С. Баранов

НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург

*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, г. Киев, e-mail: anglotov@mail.ru

В настоящей работе проведено исследование ассоциации генетически обусловленных форм тромбофилии с развитием гестоза у женщин России и Украины по сравнению с беременными женщинами без осложнений. В исследовании были включены следующие маркеры: мутации в гене фактора 5 (Лейден, *F5* 1691G>A), протромбина (*F2* 20210G>A), полиморфизмом генов фактора 7 (*F7* 10976G>A), ингибитора активатора плазминогена 1 типа (*PAI1* -6755G/4G), фибриногена (*FGB* -455G>A), гликопротеинов GP3a (*GP3a* 1565T>C), GPIa (*GPIa* 807C>T) и метилентетрагидрофолат редуктазы (*MTHFR* 677C>T). При предварительном анализе результатов исследования (ассоциация 1 ген — 1 признак) показано, что только для Российской популяционной группы были обнаружены статистически значимые отличия между изучаемыми группами женщин с гестозом и беременных без осложнений по частотам генотипов гена *PAI1* (-675 5G/4G) и генотипов гена

MTHFR (677C>T). Таким образом, показано, что изучение генетических маркеров наследственной тромбофилии имеет значение для выявления риска развития гестоза в России и требует дальнейшего изучения и более взвешенной оценки вклада для Украины.

Работа выполнена при поддержке Государственного контракта Федерального агентства по науке и инновациям № 02.512.11.2275.

Литература

1. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Антифосфолипидный синдром, генетические тромбофилии в патогенезе основных форм акушерской патологии // РМЖ. — 2006. — Специальный выпуск. — С. 2–11.
2. Глотов А.С., Вашукова Е.С., Полушкина Л.Б., Потулова С.В., Глотов О.С., Иващенко Т.Э., Гра О.А., Наседкина Т.В., Аверьянова Н.С., Березнева Н.А., Пинелис В.Г., Баранов В.С. Диагностика наследственно обусловленных заболеваний у детей с помощью ДНК-микрочиповой технологии // Вопросы диагностики в педиатрии. 2009. — Т. 1. — № 1. — С. 14–17.

О ВОЗМОЖНОСТИ ВЛИЯНИЯ СВЕРХНОРМАТИВНОГО НИЗКОЧАСТОТНОГО ШУМА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ

Д.В. Гусаров, Г.Г. Родионов, Т.В. Гришанкина, И.Н. Зайченко, Н.В. Кузьмина, М.А. Федорова
НИИЦ (МБЗ) ГНИИИВМ, Санкт-Петербург

Индустриализация современного общества повсеместно повышает шумовую нагрузку на человека, что приводит к возникновению разнообразной патологии. Однако проблема развития неблагоприятных последствий у потомков родителей, подвергавшихся интенсивному шумовому воздействию, не исследована. С целью изучения возможности возникновения таких изменений и механизмов их развития проведено экспериментальное исследование на белых мышах и крысах последствий воздействия низкочастотного шума с уровнем звукового давления (УЗД) 120 и 150 дБ (ежедневно по 7 мин в течение 10 и 65 сут).

Установлено, что у облученных самок мышей и крыс (УЗД 120 и 150 дБ) возникают существенные нарушения фазовой структуры и продолжительности эстрального цикла на фоне гормонального дисбаланса (достоверное увеличение концентрации тестостерона и снижение уровня эстрадиола в периферической крови) и уменьшения уровня серотонина и его метаболита в гипоталамусе в стадиях эструса и диэструса, сопровождающиеся

задержкой наступления беременности и осложнением процесса гестации в случае ее возникновения, а у крыс-самцов (УЗД-150 дБ) — тенденция к повышению частоты генетических повреждений над спонтанным фоном при определении уровня хромосомных aberrаций в костном мозге.

Анализ индуцированных доминантных летальных мутаций в генеративных клетках самок крыс после воздействия на них или самцов шума с УЗД 120 дБ показал достоверное повышение эмбриотельной смертности (как до, так и особенно постимплантационной), наиболее выраженное при облучении самцов (шестикратное увеличение при сравнении с контролем), что указывает на возможное мутагенное действие шума на геном половых клеток крыс, особенно самцов. Это предположение подтверждается ухудшением поведенческого и иммунного статуса потомков облученных животных, задержкой их физического развития и изменением структуры популяции, характеризующимся уменьшением доли активных животных.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МОДИФИКАЦИИ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД И КОНТРАКТИЛЬНОЙ МАТКИ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ

Н.А. Друккер, В.В. Авруцкая, А.В. Волошина, М.Г. Некрасова
ФГУ «РНИИАП Росмедтехнологий», г. Ростов-на-Дону, e-mail: rniiap@yandex.ru

Преждевременные роды в 50–70% случаев обуславливают перинатальную смертность (Доброхотова Ю.Э., 2007).

Цель работы заключалась в изучении в околоплодных водах женщин с преждевременными родами содержания фактора некроза опухоли — α (ФНО- α), трансформирующего фактора роста — β (ТФР- β), оксида азота и активности NO-синтазы.

Основную группу составили 69 женщин с преждевременными родами в 34–37 недель, контрольную — 21 пациентка.

При преждевременных родах в околоплодных водах выявлено снижение уровня ФНО- α в 2 раза и повышение ТФР- β в 6 раз относительно данных контроля. При этом обнаружено низкое содержание метаболитов оксида азота и падение активности NO-синтазы, обусловленное, очевидно, ингибирующим действием высокого уровня ТФР- β .

Известно, что контрактильная активность матки достигается увеличением в клетках миометрия концентрации ионов кальция. В данных условиях существует иной механизм повышения уровня Ca^{2+} в клетках миометрия, который возникает в результате модификации соотношений ФНО- α , и оксида азота. Низкая продукция ФНО- α не обеспечивает открытие Ca^{2+} каналов, а снижение генерации NO — падение концентраций Ca^{2+} в цитоплазме, обуславливая повышенную контрактильную активность матки, на фоне которой развиваются преждевременные роды.

Выявленные нарушения в околоплодных водах баланса эндогенных регуляторов сократительной активности миометрия при преждевременных родах будут способствовать совершенствованию патогенетической терапии этого осложнения гестации.

ГЕНЕТИКА ГОНАДНОГО МОЗАИЦИЗМА

Н.В. Ковалева

Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая Медицинская Академия, Санкт-Петербург
e-mail: kovaleva@robotek.ru

Бессимптомное носительство гонадного мозаицизма (ГМ) по хромосомной аномалии не является исключительно редким явлением. Однако до сих пор слабо изучены механизмы и критические периоды формирования ГМ, неизвестны его частота и предрасполагающие факторы, а также причины различий в соотношении полов между носителями ГМ по некоторым типам хромосомных аномалий. Последние работы автора помогают пролить свет на некоторые из этих проблем.

Предложен подход к определению популяционной частоты ГМ по трисомиям хромосом, не несущих импринтированных генов [Genet Test 11:342]. Разработан алгоритм обследования семей предполагаемых носителей ГМ этого типа [EJHG 16 (S1):153].

Показано, что преобладание женщин среди носителей ГМ по регулярной трисомии и по перестройкам, вовлекающим перицентромерные районы, объясняется полоспецифичной коррекцией трисомии и полоспецифичной нестабильностью центромер в эмбриогенезе [AJMG 136A:401]. Получены данные, свидетельствующие о реализации феномена на самой ранней стадии эмбрионального развития. Это позволяет предположить влия-

ние реактивации отцовской X-хромосомы в зиготе женского пола на процесс ремоделирования хроматина, способствующее повышению нестабильности прицентромерных районов [EJHG 15(S1):101].

Доминирование женщин среди носителей ГМ по дериватной хромосоме, в отличие от носителей ГМ по сбалансированной перестройке, позволяет предполагать еще один механизм — более эффективный отбор против аномальных клеток у индивидов мужского пола [ESHG 2005, 13(S1):171].

Исследование семей пробандов с унаследованной трисомией 21 показало, что большая часть носителей ГМ произошли из трисомных зигот, при этом значительная роль в образовании ГМ принадлежит полоспецифической коррекции трисомии и наследственной предрасположенности к нерасхождению. Предполагается, что механизмом, способствующим предпочтительному образованию нормальных X-несущих гамет в трисомных сперматогониях у отцов-носителей ГМ, является мейотическая негомологичная коориентация обеих хромосом 21 и X хромосомы [MolCytogenet 3(1):7].

СИСТЕМНЫЙ И ЛОКАЛЬНЫЙ АНГИОГЕНЕЗ У БЕРЕМЕННЫХ С ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

К.П. Кропмаер, Г.Б. Безношенко

Омская государственная медицинская академия, Омск, e-mail: kirillka75@mail.ru

Актуальность. Накопленные современные представления об изменениях функциональных факторов роста и патологии ангиогенеза позволяют рассматривать их как одну из основных причин развития перинатальных осложнений, в том числе плацентарной недостаточности.

Цель исследования — изучение значения нарушений продукции факторов роста в развитии плацентарной недостаточности (ПН) при беременности различных сроков и варикозной болезни нижних конечностей (ВБНК).

Материалы и методы исследования. В основную группу вошли 52 беременные с ВБНК и ПН, в группу сравнения — 34 пациентки с ВБНК, не имеющие ПН. Проводились параклинические, биохимические, инструментальные (УЗИ, доплерография, КТ) и морфологические исследования. Определялись сосудисто-эндотелиальный фактор роста I-го типа (СЭФР-1) и эндотелиальный фактор ICAM-1, являющиеся критериями эндотелиальной дисфункции.

Полученные результаты. Исследования показали, что при неосложненной беременности (группа сравне-

ния) уровень СЭФР достоверно возрастает с увеличением срока гестации. В 24–28 нед. его средние значения составляют $33,4 \pm 2,98$ пг/мл; к 36 нед. — $97,4 \pm 8,75$ пг/мл. Во втором триместре средние значения СЭФР превышали в 1,8 раза данные группы сравнения; при декомпенсированной форме показателя СЭФР в конце беременности были выше уровня средних значений группы сравнения в 3,2 раза. При изучении особенностей нарушения функции эндотелия при ПН (27 наблюдений пациенток с компенсированной формой ПН и хронической венозной недостаточностью) было определено увеличение молекул адгезии (ICAM-1) в сыворотке крови до средних значений $122 \pm 8,29,4$ ПК/мл против $928,9 \pm 8,7$ ПК/мл в группе сравнения.

Заключение. Эндотелиальная дисфункция в фетоплацентарном комплексе являлась неспецифическим патогенетическим этапом развития ПН на фоне варикозного расширения вен нижних конечностей, имеет определенную значимость в прогнозировании и выработке тактики ведения гестационного процесса у данного контингента наблюдаемых.

СКРИНИНГ МУТАЦИЙ ГЕНА CFTR ПРИ МУЖСКОМ БЕСПЛОДИИ

Е.В. Маркова, Н.В. Казьмина, О.М. Казанцева, Д.А. Татару, Т.А. Зайцева, А.В. Светлаков
Красноярский центр репродуктивной медицины, Красноярск, krasivf@kcrm.ru

Мутации гена *CFTR* (трансмембранного регулятора муковисцидоза) рассматриваются в качестве одного из молекулярно-генетических факторов мужского бесплодия, ассоциированного, главным образом, с врожденной двухсторонней аплазией семявыносящих протоков (СБАВД). Часть вариантов синдрома односторонней аплазии семявыносящих протоков также обусловлена мутациями гена *CFTR*. Рядом авторов рекомендован более широкий скрининг мутаций *CFTR*: для всех пациентов с азооспермией и олигозооспермией и даже более широко — для всех случаев мужского бесплодия.

В Красноярском центре репродуктивной медицины скрининг мутаций гена *CFTR* при мужском бесплодии проводится с ноября 2004 года. Всего за этот период обследовано 690 мужчин. При скрининге применяли панель из 12–13 мутаций. В нескольких случаях СБАВД анализировали 32 мутации *CFTR*-гена. С 2009 года ба-

зовая панель дополнена исследованием поли-Т-полиморфизма 8 интрона (*IVS8 5T* аллеля), что позволило повысить диагностическую значимость скрининга.

Среди обследованных лиц мутации установлены в 3,1% случаев. Из них выявлено шесть случаев компаундных генотипов сочетания *delF508* с «мягкой» мутацией. Всем этим пациентам был поставлен СБАВД. У двух пациентов с аналогичным диагнозом выявлена только одна мутация *delF508*. В девяти случаях у лиц без obstructивной азооспермии выявлено гетерозиготное носительство мутаций *CFTR*. Мужчины-носители мутаций характеризовались разнообразными типами нарушений сперматогенеза. Во всех представленных случаях было проведено генетическое консультирование, рекомендовано исследование мутаций гена *CFTR* у жен пациентов с выявленными мутациями.

АНГИОГЕНЕЗ И ПРИВЫЧНОЕ НЕВЫНАШИВАНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ

О.Н. Садекова¹, Л.А. Никитина¹, Е.Ю. Тихончук¹, Е.М. Демидова², Л.М. Самоходская¹

¹ Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова

² Кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии РУДН, Москва,
e-mail: olniksa@gmail.com

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) — полиэтиологичное заболевание, одним из ключевых факторов возникновения которого является нарушение процессов ангиогенеза, определяющее состояние эндометрия в перимплантационный период.

Цель работы: оценка вклада процессов ангиогенеза в развитие ПНБ и выявление ангиогенных генетических предикторов заболевания.

Объекты и методы исследования: 24 женщины с ПНБ и 15 женщин группы сравнения, которым проводилась биопсия эндометрия с последующей оценкой уровня транскрипции VEGF при помощи RT-PCR и экспрессии его белка путем иммуногистохимического окрашивания эндометрия. Генотипирование проводилось среди 100 женщин основной и 120 женщин контрольной группы.

Результаты. Выявлено достоверное снижение уровня транскрипции мРНК VEGF в эндометрии женщин с ПНБ и женщин с неполноценной лютеиновой фазой

(НЛФ) по сравнению с женщинами, чья репродуктивная функция была реализована ($p = 0,03$ и $p = 0,01$ соотв.). У женщин с ПНБ отмечается тенденция к менее интенсивному окрашиванию сосудов и стромы эндометрия в отличие от женщин группы сравнения ($p = 0,11$ и $p = 0,08$ соотв.). Показана достоверная взаимосвязь между носительством аллели 936T и тенденция к взаимосвязи носительства аллелей 1154A, 2578A и 634C гена VEGF и развитием ПНБ ($p = 0,03$, $p = 0,75$, $p = 0,23$ и $p = 0,52$ соотв.).

Выводы. В эндометрии женщин с ПНБ происходит достоверное снижение транскрипции гена VEGF и некоторое снижение экспрессии его белка, указывая на значимость нарушения процессов ангиогенеза в этиологии ПНБ. Выявление носительства мутантной аллели по одному из полиморфизмов гена VEGF указывает на наличие нарушений ангиогенных процессов и диктует необходимость более углубленного обследования таких пациенток.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭПИГЕНЕТИКА И НЕКАНОНИЧЕСКОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ

ЭПИГЕНЕТИКА И РЕПРОДУКЦИЯ ЧЕЛОВЕКА

И.Н. Лебедев

Научно-исследовательский институт медицинской генетики СО РАМН, г. Томск,
e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

Особенностью человека, как биологического вида, является чрезвычайно высокая частота репродуктивных потерь, доминирующая роль в этиологии которых отводится генетическим факторам. Вместе с тем, заметная доля случаев остановки внутриутробного развития зародыша не может быть объяснена в рамках существующих генетических или цитогенетических концепций. Учитывая, что онтогенез представляет собой разворачивание строго детерминированной программы развития организма, особую значимость для понимания механизмов действия пренатального естественного отбора представляет изучение эпигенетических процессов. Несмотря на то, что к настоящему времени известно несколько систем эпигенетического наследования, определена роль некоторых из них в развитии ряда патологических состояний, и особенно онкологических заболеваний, частота и разнообразие эпигенетических модификаций генома, а также закономерности их возникновения в ходе онтогенеза во многом остаются неясными. Принимая во внимание тот факт, что созревание половых клеток и начальные этапы индивидуального развития человека

сопровождаются глобальными изменениями эпигенетической организации генома, вполне ожидаемо, что ранние эмбриональные летали могут оказаться удобной модельной системой для изучения данных вопросов. В серии проведенных исследований, сфокусированных на анализе статуса метилирования ДНК в выборках внутриутробно погибших эмбрионов, нами впервые были описаны нарушения характера метилирования ряда генов контроля клеточного цикла у зародышей с мозаичными формами числовых хромосомных нарушений, зарегистрированы аномалии эпигенетического статуса импринтированных локусов генома, в том числе ассоциированные с привычным невынашиванием беременности, а также выявлены отклонения от равновероятной инактивации X-хромосомы. В докладе будут представлены подходы к классификации спектра эпимутаций в раннем эмбриогенезе, рассмотрены основные закономерности их возникновения и обозначена возможная роль в детерминации нарушений раннего внутриутробного развития человека.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИНИСАТЕЛЛИТА B2VNTR ГЕНА *BDKRB2* В НОРМЕ И ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Е.В. Пищик¹, И.О. Сучкова¹, К.В. Соловьев¹, Н.В. Аленина², М. Бадер², А.С. Готов³,
В.С. Баранов³, Е.А. Паткин¹

¹ НИИ Экспериментальной Медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

² Max-Delbrück-Center for Molecular Medicine, Berlin-Buch, Germany

³ НИИ Акушерства и Гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург,

e-mail: elp44@mail.ru, kavattii@yahoo.com

Для некоторых полиморфизмов из кодирующих районов гена *BDKRB2* во многих работах была показана их ассоциация с артериальной гипертензией и инфарктом миокарда, но не описано подобных исследований с нетранслируемыми участками *BDKRB2*. В 3'-UTR *BDKRB2* локализован минисателлит *B2VNTR*, длинный аллель (из 43 повторов) которого действует как потенциальный негативный регулятор экспрессии гена на претрансляционном уровне. В данной работе проведен анализ ассоциаций межаллельных различий и эпигенетических модификаций *B2VNTR* с артериальной гипертензией у подростков и коронарной недостаточностью. Не обнаружено связи между величиной аллелей и обна-

руженными SNPs в аллелях *B2VNTR* и этими патологиями. Однако только у пациентов с коронарной недостаточностью, гетерозиготных по *B2VNTR*, обнаружено наличие метилированных обоих аллелей *B2VNTR* (короткого аллель из 33 либо 38 повторов) и длинного (из 43 повторов) ($13,6 \pm 7,3\%$; $p = 0,05$). Таким образом, можно предположить, что механизм негативного влияния *B2VNTR* на экспрессию гена *BDKRB2* при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях, в частности коронарной недостаточности, не обусловлен варьированием длины и наличием SNPs в *B2VNTR*, а, скорее всего, имеет эпигенетическую природу.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОНКОМАРКЕРЫ ВО ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ДНК КРОВИ: ОСОБЕННОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ОНКОДИАГНОСТИКЕ

Е.Ю. Рыкова¹, Е.В. Елистратова¹, Т.Э. Скворцова¹, О.Е. Брызгунова¹, С.Н. Тамкович¹,
Г.А. Цветовская¹, Е.Д. Чикова¹, П.И. Шелестюк*, В.В. Власов¹, П.П. Лактионов¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
e-mail: rykova@niboch.nsc.ru

Аберрантно метилированные аллели генов опухолевой супрессии появляются в клетках на ранних стадиях злокачественной трансформации. Выявление метилированных онкомаркеров во внеклеточных ДНК (внДНК), циркулирующих в крови, является перспективным способом диагностики злокачественных заболеваний.

Методом метил-специфичной ПЦР была определена частота встречаемости метилированных аллелей генов опухолевой супрессии во внДНК плазмы и внДНК, связанной с поверхностью клеток крови, у больных с опухолями желудка и молочной железы. Детекция метилированных аллелей одного из трех генов *RASSF1A*, *cyclin D2* и *RAR β2* в суммарных внДНК крови позволяет выявлять больных со злокачественными и доброкачественными опухолями молочной железы с чувствительностью 95 и 87%, соответственно. Рандомизированное обследование показало, что группа пациенток

с доброкачественными патологиями молочной железы неоднородна по наличию во внДНК крови метилированных аллелей генов *cyclin D2* и *RARβ2* — важных прогностических факторов развития РМЖ. Метилированные формы генов опухолевой супрессии *p15*, *hMLH1* и *MGMT* были выявлены в суммарных внДНК крови больных раком желудка с высокой частотой на разных стадиях заболевания (Т2 — 71%, Т3 — 80%, Т4 — 100%). Чувствительность метода детекции метилированных аллелей генов *p15* и *hMLH1* во внДНК при раке желудка существенно выше, чем иммуноферментного анализа белковых маркеров СА 19.9, СА 72.4. Отсутствие корреляции между эпигенетическими и белковыми онкомаркерами говорит о том, что эти параметры отражают разные стороны патогенеза рака желудка и могут быть использованы в качестве независимых критериев его диагностики.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ ГЕНОМНОГО ИМПРИНТИНГА ПРИ ПАТОЛОГИИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА

Е.А. Саженова, И.Н. Лебедев

НИИ медицинской генетики СО РАН, г. Томск, e-mail: elena.sazhenova@medgenetics.ru

Важную роль в эмбриогенезе человека играет геномный импринтинг — одно из явлений неканонического наследования, связанное с дифференциальной экспрессией генов в зависимости от родительского происхождения аллелей. Среди механизмов, нарушающих дозу импринтированных генов в ходе раннего эмбрионального развития, традиционно рассматривают однородительскую дисомию (ОРД) хромосом. Однако частота ОРД у человека составляет всего 1×10^{-3} событий передачи хромосом от родителей потомству и не вносит заметного вклада в нарушение процессов раннего онтогенеза. Учитывая эпигенетическую природу импринтинга, можно предположить, что ожидаемые негативные эффекты нарушений функций импринтированных генов в раннем эмбриогенезе человека будут связаны с аберрантными эпигенетическими модификациями хроматина. Целью настоящего исследования явилась характеристика эпигенетического статуса импринтированных генов и центров импринтинга (*SNURF-SNRPN*, *KCNQ1OT1*, *CDKN1C*, *PLAGL1*, *PEG1/MEST*, *H19*, *MEG3*) в группе спонтанных абортусов I триместра беременности. Нами

впервые была обнаружена потеря импринтинга в локусах *KCNQ1OT1* и *PLAGL1*, в норме метилированных на материнских гомологах, с частотой 9,5 и 10,3% соответственно. Примечательно, что все выявленные эпимутации характеризовались тканеспецифичностью, что указывает на их соматическое происхождение. Кроме того, было установлено, что эпимутации в гене *PLAGL1* в тканях зародышей статистически значимо чаще регистрировались в группе женщин с привычным невынашиванием беременности (33%), чем без него (7,7%, $P = 0,048$). Таким образом, нарушение функций импринтированных локусов генома на ранних этапах внутриутробного развития человека реализуется через возникновение аберрантных эпигенетических модификаций хроматина и может быть одним из факторов, определяющих формирование отягощенного акушерского анамнеза. Настоящее исследование поддержано грантами РФФИ (№ 08-04-01344) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.» (№ П303).

БОЛЕЗНИ ЭКСПАНСИЙ В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)

А.А. Сухомясова^{1, 2}, Н.Р. Максимова², А.Н. Ноговицына^{1, 2}, Л.П. Назаренко³, Е.Е. Гуринова^{1, 2},
М.Н. Коротов², И.А. Николаева², В.П. Пузырев³

¹ Республиканская больница № 1 — Национальный центр медицины, Якутск

² Якутский научный центр КМП СО РАМН

³ Томский НИИ медицинской генетики СО РАМН, Якутск, e-mail: nogovan@yandex.ru

В Республике Саха (Якутия) наблюдается высокая частота наследственных болезней, обусловленных динамическими мутациями — возрастанием (экспансией) числа копий тринуклеотидных повторов. Распространенность в якутской популяции спиноцереbellарной атаксии 1 типа (OMIM164400) — 38,6 на 100 тыс., миотонической дистрофии (OMIM160900) — 21,3 на 100 тыс., окулофарингеальной миодистрофии (OMIM164300) — 11,1 на 100 тыс. якутского населения, атаксии Фридрейха (OMIM229300) — распространенность составила 2,78 на 100 тыс. якутского населения. Заболевание зарегистрировано в 7 улусах и г. Якутске. Спинально-бульбарная атрофия Кеннеди (OMIM313200) — зарегистрирована в 3 улусах (Абыйском, Верхнеколымском, Нюрбинском), частота от 0,8 до 408,7 на 100 тыс. мужчин-якутов. Выявлена молекулярно-генетическим исследованием одна семья из 2 человек (якуты) с денторубро-паллидолюисовой атрофией, 1 больной с хореей Гентингтона славянского происхождения.

Изучены клинико-генеалогические особенности, создан регистр, разработан алгоритм диагностики и медико-генетического консультирования семей. В Республиканском регистре состоит 329 больных с клинической манифестацией по 7 нозологиям болезней с экспансией тринуклеотидных повторов.

Подтверждены молекулярные причины болезней, вызванных динамическими мутациями. При окулофарингеальной миодистрофии у 40 больных якутов и в 2 русских семьях появляется одинаковое увеличение GCG повторов до 10 копий в гене RABPN1 за счет вставки 4 дополнительных GCG-повторов. 6 больным с клиническим диагнозом болезнь Кеннеди и 10 sibсам из 4 неродственных якутских семей была проведена амплификация фрагмента ДНК. Заболевание обусловлено повреждением гена андрогенного рецептора, расположенного в локусе Xq11.2-12 содержащего исследуемые области тринуклеотидных CAG-повторов в 1 экзоне гена AR. Кроме того, у одной из сестер с болезнью Кеннеди выявлено гетерозиготное носительство мутации в гене AR: один с нормальной длиной (24 CAG-повторов), другой — удлинённый (51 CAG-повтор). При атаксии Фридрейха при проведении прямой ДНК-диагностики в обследуемых семьях была выявлена экспансия тринуклеотидных GAA-повторов в 1-м интроне гена FRDA у всех девяти больных в гомозиготном состоянии, а у их 20 родственников — в гетерозиготном состоянии.

При миотонической дистрофии (СТG)n в гене DMPK с помощью ПЦР и электрофореза в ПААГ можно определить только нормальные аллели, содержащие количество СТG-повторов в норме (от 5 до 37), и аллели с небольшим размером экспансии (до 80–100 повторов), а в случае наличия экспансии СТG-повторов не удастся наблюдать продукт амплификации мутантного аллеля. Для определения размера экспансии СТG-повторов применяется метод блот-гибридизации по Саузерну с олигонуклеотидным зондом. При использовании радиоактивных меток для их проведения требуются специальные условия. В РС (Я) диагностика МД была проведена методом ПЦР с применением следующих подходов: 1) при выявлении двух аллелей с нормальным числом СТG-повторов заболевание исключается, что важно для исключения МД у родственников больных, включая пренатальный период, и для дифференциальной диагностики со сходными заболеваниями; 2) у больных же при обследовании целой семьи, большего числа родственников, можно проследить распределение мутантного гена из поколения в поколение даже при случае отсутствия методов диагностики СТG-аллелей с экспансией (информативная семья). У больных МД определяется только один аллель с нормальным числом СТG-повторов. Из обследованных нами 35 семей с МД только 19 (54,3%) семей оказались информативными для диагностики.

При спиноцереbellарной атаксии 1 типа молекулярной основой заболевания является увеличение CAG-повторов до 39–71 по сравнению с 19–36 в норме в гене SCA1. Проведены популяционные исследования по этнотерриториальным группам. Основными популяционными механизмами накопления болезней экспансии в якутской популяции являются дрейф генов и эффект основателя.

Высокая частота болезней экспансии, клинический полиморфизм, высокий генетический риск обуславливают необходимость своевременной диагностики и профилактики в республике.

ДНК-диагностика болезней экспансии (спиноцереbellарной атаксии 1 типа, миотонической дистрофии 1 типа, атаксии Фридрейха, окулофарингеальной миодистрофии, спинально-бульбарной атрофии Кеннеди) внедрена в медико-генетической консультации Республиканской больницы № 1 — Национального центра медицины методом ПЦР. Проводится пренатальная, пре-

симптоматическая ДНК-диагностика, психологическое тестирование.

Внедрение молекулярно-генетических методов диагностики в практическое здравоохранение позволяет

проводить эффективное медико-генетическое консультирование и реальную возможность профилактики наследственной патологии в республике.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС ЭМБРИОНАЛЬНОГО ГЕНОМА ПРИ ХРОМОСОМНОМ МОЗАИЦИЗМЕ

Е.Н. Толмачева, А.А. Кашеварова, И.Н. Лебедев

НИИ медицинской генетики СО РАМН, г. Томск, e-mail: kate.tolmacheva@medgenetics.ru

В настоящее время не вызывает сомнений наличие связи определенных абберрантных эпигенетических модификаций генома с различными заболеваниями у человека, в том числе и с нарушениями эмбриогенеза. Ранее нами было показано, что аномальное метилирование некоторых генов контроля клеточного цикла (*RB1*, *P14ARF*) ассоциировано с хромосомным мозаицизмом в тканях внутриутробно погибших эмбрионов. Эпимутации в этих генах, вероятно, являются следствием нарушений процесса глобального эпигенетического репрограммирования генома, протекающего на ранних этапах внутриутробного развития. В связи с этим представляется актуальным проведение полногеномного анализа статуса метилирования ДНК для идентификации различных групп генов, нарушение экспрессии которых может быть сопряжено с инициацией процессов соматического мутагенеза, приводящих в конечном итоге к возникновению мозаицизма. Целью настоящего исследования явился анализ особенностей организации и изменчивости метилома соматических клеток эмбрионов человека с мозаичными формами анеуплоидии.

Полногеномный анализ статуса метилирования на платформе «Infinium HumanMethylation27 BeadChip» («Illumina»), содержащей 27578 CpG-динуклеотидов, охватывающих 14 495 генов человека, был проведен в двух экстраэмбриональных тканях 6 спонтанных абортусов с мозаичными формами анеуплоидий. В результате сравнения опытной группы с контролем были выявлены изменения характера метилирования в более чем 2000 CpG-сайтах, при этом в разных тканях гиперметилирование затрагивало от 74 до 91% CpG-динуклеотидов, а гипометилирование — от 9 до 16%, соответственно. Предварительные данные демонстрируют повышенную частоту дифференциального метилирования CpG-локусов (от 4 до 10%), расположенных в генах клеточного цикла, клеточного роста, апоптоза, остановки клеточного цикла, регуляции клеточной пролиферации и клеточного роста. Очевидно, что нарушение экспрессии этих локусов в ходе раннего эмбриогенеза может являться одним из механизмов генерации мозаичных форм хромосомных аномалий.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ МУТАГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ КСЕНОБИОТИКОВ

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *XRCC1* И *XRCC3* НА УРОВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У РАБОЧИХ УРАНОДОБЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

З.Ж. Васильева^{1*}, Р.И. Берсимбаев², Б.О. Бекманов³, У. Ау⁴

¹ Российский Научный Центр Радиологии и Хирургических Технологий Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи, Санкт-Петербург, e-mail: radgenetika@mail.ru

² Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

³ ДГП Институт общей генетики и цитологии РГП ЦБИ КН МОН РК, Алматы, Казахстан

⁴ Техасский университет, Галвестон, США

Важной особенностью клетки является ее способность воссоединять случайные разрывы ДНК за счет системы репарации. Белки, кодируемые генами *XRCC1* и *XRCC3*, являются важными регуляторами системы репарации ДНК, поврежденных в результате ионизирующей радиации и воздействия алкилирующих агентов. Одним из факторов, влияющих на репарационные процессы в клетке, являются полиморфизм генов *XRCC1* и *XRCC3*. При радиационном воздействии полиморфизм генов *XRCC1* и *XRCC3* влияет на активность системы репарации, приводя к увеличению частоты хромосомных нарушений. В работе изучена ассоциация полиморфизма генов *XRCC1* (Arg 399 Gln) и *XRCC3* (Thr 241 Meth) с уровнем цитогенетических нарушений у рабочих Целинного горно-металлургического завода (г. Степно-

горск, Казахстан). Проанализированы аллельные варианты гена *XRCC1* и выявлено следующее распределение среди выборки из 100 рабочих: G/G — 15%; A/A — 35%; G/A — 50%. Увеличение частоты хромосомных aberrаций наблюдалось у носителей гомозиготного генотипа по дикому аллелю G/G, составляя величину $2,66 \pm 0,29$. Более низкий уровень цитогенетических нарушений был выявлен у носителей генотипа A/A, составляя $2,01 \pm 0,16$. Анализ распределения вариантов генотипа *XRCC3* у рабочих показал, что 52% составляли лица, имеющие гетерозиготный генотип T/M, 39% — T/T и 9% — M/M. У гетерозиготных носителей T/M уровень хромосомных нарушений был ниже, чем у гомозиготных, составляя $1,81 \pm 0,13$, по сравнению с $2,65 \pm 0,18$ у T/T и $2,88 \pm 0,40$ у M/M.

КОМЕТНЫЙ АНАЛИЗ ДНК В ОЦЕНКЕ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ЭФФЕКТОВ ЭКЗОГЕННЫХ ТОКСИКАНТОВ НА УРОВНЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК

А.А. Вашенко, В.Г. Зайцев, Б.В. Меклеева, О.В. Островский

Волгоградский государственный медицинский университет, г. Волгоград,
e-mail: alexa-1808@yandex.ru

В настоящее время актуальной проблемой является повышение уровня загрязнения окружающей среды генотоксическими веществами. Особую сложность составляет оценка действия этих веществ в концентрациях, не превышающих допустимый уровень, но способных при длительном воздействии оказывать ДНК-повреждающее действие. Важной является оценка повреждения ДНК индивидуальных клеток.

Цель исследования состоит в установлении возможности использования кометного анализа для определения ДНК повреждения экзогенных токсикантов.

Как геохимические процессы, так и промышленное загрязнение приводит к накоплению соединений мышьяка (значимых токсикантов). Мы исследовали кратковременное (30 минут) и длительное (24 часа) воздей-

ствие арсенита натрия (Na_3AsO_3) на клетки цельной крови человека. Число клеток с поврежденной ДНК (КПД) оценивалось с использованием щелочного варианта метода ДНК-комет [1]. Так как одним из механизмов действия Na_3AsO_3 является индукция окислительного стресса, полученные данные сравнились с аналогичными эффектами под действием H_2O_2 .

Na_3AsO_3 вызывает увеличение доли КПД. При более длительном воздействии доля КПД возрастает. Эффект Na_3AsO_3 слабее, чем действие H_2O_2 в тех же условиях. Обнаружено, что увеличение доли КПД после обработки Na_3AsO_3 интактных клеток больше, чем при обработке им же клеток, подвергшихся действию H_2O_2 , т.е. эффекты Na_3AsO_3 и H_2O_2 частично аддитивны. ДНК-повреждающий эффект мышьяка лишь отчасти можно

объяснить индукцией окислительного стресса. Все указанные выше различия были значимыми ($p < 0,0001$).

Таким образом, применение данного подхода позволяет оценивать чувствительность индивидуальных кле-

ток к ДНК-повреждающему действию экзогенных токсикантов.

1. Singh N.P. et al. Mutat Res 1991; 256:1–6.

ОПОСРЕДОВАННЫЙ АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ, ВЫЯВЛЯЕМЫЙ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ЛИМФОЦИТОВ РАЗНОПОЛЫХ ДОНОРОВ

И.С. Колесникова, И.Е. Воробцова

РНЦРХТ Росмедтехнологий, Санкт-Петербург, e-mail: radgenetika@mail.ru

Принято считать, что причиной различных биологических последствий действия ионизирующих излучений является повреждение молекул ДНК. Однако поскольку только мишенным механизмом не всегда можно объяснить наблюдаемые радиационные эффекты, появилось предположение о возможности возникновения повреждений в необлученных клетках, соседствующих с облученными, по механизму «эффекта свидетеля».

Мы исследовали «эффект свидетеля» в совместных культурах лимфоцитов разнополых доноров по развитию адаптивного ответа (АО) в необлученных клетках донора одного пола при адаптирующем радиационном воздействии на лимфоциты донора противоположного пола. Эксперименты проводили при двух временных схемах адаптирующего и повреждающего воздействий: G_0 - G_1 и G_1 - G_1 . Лимфоциты мужского/женского донора облучали в адаптирующей дозе 0,05 Гр до стимуляции ФГА (G_0) либо через 24 часа после начала культиви-

вания (G_1). Через 5 часов совместного культивирования с неадаптированными лимфоцитами донора противоположного пола (т.е. на стадии G_1) культуры облучали в повреждающей дозе 1 Гр. Параллельно в соответствующие сроки совместные культуры лимфоцитов облучали только в дозе 1 Гр. На метафазных препаратах учитывали хромосомные aberrации отдельно в мужских и женских лимфоцитах. Полученные результаты свидетельствуют о развитии опосредованного АО («эффект свидетеля») в лимфоцитах доноров, культивированных совместно с предоблученными в дозе 0,05 Гр лимфоцитами доноров противоположного пола, а также о влиянии на его выраженность временной схемы адаптирующего и повреждающего воздействий. Таким образом, предлагаемый метод совместного культивирования лимфоцитов разнополых доноров позволяет обнаружить радиационно индуцированный «эффект свидетеля» на примере развития опосредованного АО.

ЧАСТОТА МУТАЦИЙ В ГЕНЕ TP53 И ОСОБЕННОСТИ КЛЕТочНОГО ЦИКЛА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОБЛУЧЕНИИ ЧЕЛОВЕКА

О.Г. Плошанская, Г.А. Веремеева, Т.Н. Почухайлова, Е.А. Блинова, А.В. Аклев
ФГУН Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России,
Челябинск, e-mail: mgk@urcrm.chel.su

В популяции жителей прибрежных сел р. Теча проведено исследование частоты мутаций в гене TP53; оценены особенности внутриклеточных процессов, направленных на защиту клетки от повреждения и организма в целом от пролиферации генетически дефектных клеток (контроль клеточного цикла, апоптоз). Исследование проводилось в группе лиц (151 человек), подвергшихся хроническому облучению в результате производственной деятельности ПО «Маяк» (Южный Урал, Россия). Облучение в данной популяции носило двухкомпонентный характер: внешнее γ - и внутреннее, в основном за счет ^{90}Sr . Мощность дозы облучения достигала 3,0 Гр/год в первые годы воздействия, экспоненциально сни-

жаясь со временем. Средняя накопленная доза облучения составила 0,99 Гр (от 0,01 Гр до 9,1 Гр). Группа сравнения включала 69 человек, не подвергавшихся облучению, соответствующего возраста, пола, этнической принадлежности.

Проводился анализ мутаций в 5, 6, 7 и 8 экзонах гена TP53 (метод SSCP-анализа). Выявлено повышение частоты мутаций в группе лиц, подвергшихся облучению, по сравнению с необлученным контролем (15,6% против 1,4%, $p < 0,05$). Сохранение мутантного генотипа определяется эффективностью функционирования множества внутриклеточных систем, значительное место среди которых занимает апоптоз и контроль клеточного

цикла. Отмечена достоверно более высокая интенсивность апоптоза ($0,38 \pm 0,04$, $p = 0,01$) у облученных людей против $0,22 \pm 0,05$ в контроле. Выявлено также, что у облученных людей количество клеток (метод TUNEL), находящихся в задержке цикла на G1/S фазе (по содержанию Chk-2), увеличено в сравнении с необлученными лицами ($0,8 \pm 0,1$ против $0,36 \pm 0,07$, $p = 0,001$). Исходный уровень клеток, находящихся в продвижении по клеточному циклу, оцененный по содержанию Ki-67, у облученных людей достоверно не отличается от необлученных лиц, однако стимуляция к делению с последующей 24-часовой инкубацией *in vitro* позволяет выявить тен-

денцию к увеличению частоты Ki-67 позитивных лимфоцитов по сравнению с контролем ($11,36 \pm 1,05$ против $7,63 \pm 1,6$; $p = 0,07$).

Таким образом, молекулярно-клеточные исследования в группе хронически облученных людей позволяют сделать заключение об активации механизмов внутриклеточной защиты от повреждения генетического материала. Вместе с тем сохраняется повышенный уровень мутаций в гене Trp53, что свидетельствует о высокой интенсивности мутационных процессов и недостаточной эффективности защитных механизмов.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

В.А. Тимошевский, И.Н. Лебедев, С.А. Васильев

Научно-исследовательский институт медицинской генетики СО РАМН, г. Томск

Исследование закономерностей возникновения хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови широко используется для определения характера мутационного процесса в соматических клетках человека. Особый интерес представляет спектр и частота хромосомных нарушений, индуцированных ионизирующей радиацией у работников радиохимического производства. Для определения характера и степени радиационного влияния традиционно используется метод учета хромосомных aberrаций, являющихся общепризнанным маркером такого рода мутагенных воздействий. Однако не следует исключать из внимания и числовые хромосомные нарушения, которые также обладают большим мутагенным потенциалом. Для регистрации изменений числа хромосом возможно использование как интерфазного FISH-анализа с применением центромероспецифичных ДНК-зондов, так и более информативного подхода, связанного с анализом двухъядерных цитокinesis-блокированных лимфоцитов. С использованием данных технологий нами был продемонстрирован анеугенный эффект как внешнего гамма-облучения (Назаренко,

Тимошевский, 2005), так и внутреннего альфа-воздействия инкорпорированного плутония-239. Радиационно-индуцированный анеугенез может быть связан с повреждением различных механизмов, контролирующих хромосомную сегрегацию. Кроме того, не исключено, что в процессы анеугенеза могут вовлекаться преимущественно перестроенные хромосомы. Действительно, сравнительный анализ результатов стандартного метафазного исследования и показателей интерфазного молекулярно-цитогенетического теста позволил выявить значимые корреляционные отношения между некоторыми типами структурных и числовых хромосомных нарушений. При этом наиболее сильная связь с аномалиями «цитомы» наблюдалась для aberrаций хромосомного типа — маркеров воздействия плотноионизирующего излучения. Таким образом, применение интерфазного FISH-анализа позволяет расширить спектр регистрируемых хромосомных нарушений и детализировать клатогенный и анеугенный компоненты воздействия ионизирующей радиации.

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ

АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Б.В. Афанасьев, А.С. Зубаровская, Н.В. Станчева, Е.В. Семенова
Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. акад. И.П. Павлова
Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) — один из эффективных методов лечения врожденных и наследственных заболеваний у детей, протекающих с поражением кроветворной и иммунной систем, при этом более чем у 60% пациентов удается достичь полного излечения. В ИДГиТ им. Р.М. Горбачевой с 05.2005 г. по 10.2009 г. неродственная алло-ТГСК выполнена у 9 пациентов со следующими заболеваниями: болезни накопления (БН) — 3, остеопетроз — 1, анемии Фанкони (аФ) — 1, Блекфана-Даймонда (аБД) — 1, синдром Вискотта-Олдрича (СВО) — 1, синдром Костмана (сК) — 2; средний возраст — 3,6 лет (1–14 лет). Перед алло-ТГСК с целью верификации мутации для диагностики заболевания применяли молекулярно-биологические методы исследования для аФ генов FANC, адренолейкодистрофии — мутации ABCD, болезни Крабе — мутации GALC, метахроматической лейкоцистозии (МЛД) — мутации ARSA, СВО — мутации WASP, остеопетроза — мутации TCIRG1, CLCN7, OSTM1 TNFRSF11A, сК — мутации ELA, HAX1, CSF3R, аБД — мутации RPS. В качестве

подготовки использовали миелоаблативный режим кондиционирования (МАК) — 2, немиелоаблативный (неМАК) — 7 пациентов. Профилактика острой реакции «трансплантат-против-хозяина» (оРТПХ) — циклоспорин А с Д-1, метотрексат 10 мг/м² Д+1, +3, +6. Периферические стволовые клетки крови использованы у 7, костный мозг — у 2 пациентов.

Результаты: 3-летняя общая выживаемость (ОВ) составила 72%, из них 6 пациентов живы без признаков заболевания, в том числе с регрессом остеомиелосклероза у ребенка с остеопетрозом, срок наблюдения 36–59 месяцев. Причины смерти — оРТПХ, IV ст. — 1, прогрессия заболевания при МЛД — 1 пациент.

Выводы: алло-ТГСК — эффективный метод лечения генетических заболеваний у детей. Для ранней постановки диагноза и своевременного проведения алло-ТГСК необходимо внедрение генетических методов исследования, в том числе с пренатальной диагностикой у семей, имеющих высокий риск рождения ребенка с наследственным или врожденным заболеванием.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕПАРАТИВНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЧЕЛОВЕКА: ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ β И 3'→5'-ЭКЗОНУКЛЕАЗЫ TREX-2

Н.В. Белякова, О.К. Легина, Н.А. Ронжина, И.В. Шевелев, В.М. Крутяков

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН, Гатчина
e-mail: bel_tasha@mail.ru

Корректирующие 3'→5'-экзонуклеазы удаляют некомплементарные нуклеотиды с 3'-конца праймера ДНК, увеличивая точность синтеза ДНК в несколько десятков раз. Особенно важно повышение точности работы склонной к ошибкам ДНК-полимеразы β , поскольку она участвует в репарации многочисленных повреждений ДНК. В некоторых опухолевых клеточных линиях обнаруживается повышенная экспрессия и активность полимеразы β , что является одним из факторов, приводящих к мутаторному фенотипу. В процессе эксцизионной репарации оснований полимеразы β непосредственно взаимодействует с АП-эндонуклеазой APE1, 5'→3'-экзонуклеазой FEN1, белками PCNA и TRF2. В нашей работе исследована возможность образования комплекса между рекомбинантными ферментами чело-

века: ДНК-полимеразой β и корректирующей 3'→5'-экзонуклеазой TREX-2. Полимераза β образует комплекс с иммобилизованной на мембране TREX-2 и наоборот. После образования комплекса области элюции ферментов на колонке с сефакрилом S200 в присутствии 1M NaCl совпадают. В присутствии нативной TREX-2 наблюдается повышение уровня синтеза ДНК в несколько раз. Таким образом, методами иммунохимии, гель-фильтрации и определения ферментативной активности показано, что полимеразы β непосредственно взаимодействует с TREX-2. Взаимодействие между ДНК-полимеразой β и 3'→5'-экзонуклеазой TREX-2 важно для эффективной репарации ДНК и способствует поддержанию стабильности генома, снижению мутагенеза и канцерогенеза.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ПАРАМЕТРОВ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У РЕЦИПИЕНТОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

В.Н. Вавилов, А.В. Акимова, И.М. Бархатов, С.Н. Ширяев, Б.В. Афанасьев

Среди патогенов, вызывающих инфекционные осложнения у пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), одно из важнейших мест в структуре посттрансплантационной заболеваемости и смертности занимают осложнения, обусловленные цитомегаловирусом. В то же время, в силу широкого спектра побочных действий противовирусных препаратов является актуальным подбор адекватной стратегии терапии как в зависимости от вирусной нагрузки, так и от серологического статуса донора и реципиента, что может быть достигнуто на основе мониторинга цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) методом ПЦР.

Целью нашего исследования явилось определение клинически значимых параметров ЦМВИ с помощью измерения уровней и динамики вирусной нагрузки (ВН) методом количественной ПЦР в реальном времени для выбора оптимальных схем противовирусного лечения и профилактики.

В ходе работы были проанализированы образцы крови и костного мозга 96 пациентов, перенесших аллогенную ТГСК. Результаты исследований позволили сформулировать следующие выводы:

1. Анализ плазмы менее чувствителен, чем анализ лейкоцитов периферической крови или костного мозга, однако необходим при мониторинге инфекции в период цитопении.

2. Поздняя реактивация ЦМВИ происходит значительно реже, чем ранняя.

3. Мониторинг развития инфекции позволяет оптимально подбирать схемы противовирусного лечения.

4. Высокий уровень ВН чаще всего отмечается после неродственной трансплантации ГСК, миелоаблативного режима кондиционирования, при комбинации серологического статуса реципиент/донор +/-.

5. Высокий уровень ВН увеличивает частоту и тяжесть инфекционных проявлений и реакции.

ВЫДЕЛЕНИЕ РЕДКИХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРОВИ КЛЕТОК ПРИ ПОМОЩИ МИКРОКАНАЛЬНЫХ КРЕМНИЕВЫХ МАТРИЦ

О.Б. Вайнер*¹, И.А. Запорожченко¹, С.И. Романов², Д.В. Пышный¹, И.А. Пышная¹,
Е.В. Дмитриенко¹, П.П. Лактионов¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск,
e-mail: olga_vai@niboch.nsc.ru*

² Институт физики полупроводников СО РАН, Россия, Новосибирск

Методы сепарации клеток по размеру или по составу экспрессируемых ими поверхностных рецепторов при помощи микрофлюидных устройств (МФУ) интенсивно развиваются в последние годы [1, 2]. Действительно, миниатюризация позволяет уменьшить объем исследуемого образца, а методы, используемые в микроэлектронике, позволяют создавать разнообразные микроустройства. Первые результаты по использованию таких устройств для выявления редких циркулирующих клеток демонстрируют высокую эффективность сепарации и возможность их применения в медицинской практике.

Целью представленной работы является разработка метода выделения редких циркулирующих клеток, основанного на использовании МФУ с микроканальными кремниевыми матрицами (МКМ) в качестве прецизионных размер-селективных и/или маркер-селективных клеточных фильтров.

Для рецептор-специфичной сепарации клеток были разработаны методы модификации поверхности МКМ антителами к лигандам клеточной поверхности. Разработаны и оптимизированы методы анализа модифицированной поверхности и выбраны оптимальные условия модификации поверхности МКМ антителами, спе-

цифичными к рецепторам плодных эритробластов (CD 71 — рецептор трансферина), и рецепторов, экспрессированных на поверхности раковых клеток (цитокератину 18). Для анализа эффективности сепарации были разработаны методы, позволяющие детектировать отдельные эмбриональные клетки, а именно количественные ПЦР, предназначенные для выявления гена DAZ, специфичного для Y-хромосомы.

В ходе работы были определены граничные условия (скорость потока, концентрация частиц) функционирования МФУ, оптимизированы условия клеточной сепарации и в модельной системе показано, что такое устройство позволяет эффективно выделять из крови жизнеспособные клетки размером более 10 мкм. Было показано, что такие устройства могут быть использованы для выделения циркулирующих онкотрансформированных клеток из крови женщин, больных раком молочной железы, и клеток плода из крови беременных женщин.

1. Huang R. et al. Prenat. Diagn., 2008; 28: 892–899.

2. Adams A.A. et al. J. Am. Chem. Soc., 2008; 130 (27): 8633–8641.

ВОЗМОЖНОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ

Д.В. Иванов², А.А. Хадарцев¹, В.А. Хадарцев², Д.С. Станков², Т.И. Субботина¹, И.Н. Сабурова³,
Н.В. Кошелева³, А.А. Горкун³

¹ ГОУ ВПО «Тульский Государственный Университет», г. Тула

² ГУП ТО «Научно-исследовательский институт новых медицинских технологий», г. Тула

³ НИИ ОПП РАМН, г. Москва

e-mail: Doctor_Ivanov@inbox.ru

В данной работе исследовали свойства эндометриальных стволовых клеток к различным видам дифференцировки в специализированные клетки.

Анализ образцов проводили при помощи проточного цитометра FACScalibur (BD Biosciences) с программным обеспечением CellQuest.

Фенотип популяции СКЭ не изменился в процессе культивирования после 2, 4 и 8 пассажей и оставался стабильным на всех пассажах. Фенотип популяции СКЭ был определен как CD11b⁻, CD14⁻, CD34⁻, CD45⁻, CD44⁺, CD79⁺, CD90⁺, CD105⁺.

В результате работ были получены убедительные данные о выраженной дифференцировке стволовых клеток эндометрия в адипогенном, остеогенном, миогенном и, в частности, кардиомиогенном направлении. Эти данные свидетельствуют о высоком дифференцировочном потенциале стволовых клеток эндометрия.

Используя методику иммуноцитохимического окрашивания с использованием антител, определяли наличие

нестина, виментина, гладкомышечного альфа-актина в колониях стволовых клеток эндометрия до 8 пассажа. Полученные результаты говорят о высокой экспрессии данных белков, что свидетельствует о направленной дифференцировке стволовых клеток эндометрия в кардиомиогенном направлении и сохранении потенциала клеток.

Наличие анеуплоидий проверяли методом сравнительной геномной гибридизации. Результаты компьютерного анализа реакции гибридизации тестируемой и контрольной ДНК с хромосомами метафазной пластинки периферийных лимфоцитов исключили возникновение числового нарушения хромосом в исследуемом образце.

Работа выполнена по госконтракту № 02.512.12.2058 от 22.05.2009 г.

МЕДИЦИНСКАЯ БИОКРИСТАЛЛОМИКА: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ, МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ В БИОСИСТЕМАХ

А.К. Мартусевич

Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии,
Нижний Новгород, e-mail: cryst-mart@yandex.ru

Первое упоминание о феномене кристаллизации в официальном научном источнике принадлежит И. Ньютону («Оптика», 1730), указавшему на образование регулярных структур из растворов солей. Как метод исследования кристаллоскопия приобрела очертания после работ Т.Е. Ловица (1804–1805). Однако длительное время эти достижения являлись прерогативой инженерно-технических и минералогических дисциплин, тогда как из медико-биологических наук они нашли применение лишь в фармации и судебной медицине. Только в последние десятилетия усилиями отечественных специалистов стали разрабатываться способы изучения кристаллогенеза биологических субстратов организма человека, основанные на их дегидратации и последующем анализе результата высушивания с применением микроскопической техники.

Современный уровень развития методов биокристаллоскопии предопределил формирование новой биологической науки, изучающей закономерности кристал-

лизации любых биообъектов с позиций молекулярной биологии и медицины, — биокристалломики. С наших позиций, в понятие «медицинская биокристалломика» входят кристаллодиагностика (наиболее распространенное в настоящее время направление, связанное с оценкой состояния организма путем изучения кристаллогенных свойств биоматериала), кристаллопатология (совокупность патологических процессов, патогенез которых включает нарушение физиологического кристаллогенного потенциала жидких биосред) и кристаллотерапия (раздел биокристалломики, основной целью которого является изучение и применение способов управления биокристаллогенезом в условиях *in vitro* и *in vivo* для разработки принципиально новых технологий лечения кристаллопатологии). Важно, что кристаллопатология рассматривается с организменных позиций, а вызванные ею дисфункции отдельных органов — как следствие системных нарушений.

ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В ВОССТАНОВЛЕНИИ МИОКАРДА

Д.С. Станков², Т.И. Субботина¹, А.А. Хадарцев¹, В.А. Хадарцев², Д.В. Иванов²

¹ ГОУ ВПО «Тульский Государственный Университет», г. Тула

² ГУП ТО «Научно-исследовательский институт новых медицинских технологий», г. Тула
Doctor_Ivanov@inbox.ru

Цель данного исследования заключалась в оценке эффективности клеточного трансплантата СКЭ-К (стволовые клетки эндометрия, индуцированные в кардиогенном направлении) при однократном введении в сердце через 30 суток после перенесенного острого инфаркта миокарда у самцов крыс CD для экспериментального обоснования применения этих клеток при восстановительном лечении травматических и дегенеративных заболеваний миокарда в клинической практике. Через 2 и 4 недели после трансплантации отмечали одинаковое распределение клеток в органах. В селезенке, печени и легких трансплантированные клетки (СКЭ-К) выявлялись равномерно по всему органу, в сердце клетки локализовались только в области рубцовой ткани, не входили в состав стенок кровеносных сосудов, соединительной ткани и обнаруживались в непосредственной близости от кардиомиоцитов перифокальной зоны или нормального миокарда. Трансплантация клеток не приводила

к уменьшению размера рубца, не изменяла скорость и степень ремоделирования левого желудочка, но приводила к утолщению стенки сердца в области рубца.

Таким образом, результаты данного исследования демонстрируют, что метод трансвентрикулярной интракоронарной трансплантации стволовых клеток эндометрия, индуцированных в кардиогенном направлении, является эффективным, обеспечивает доставку клеток в область повреждения. Трансплантированные клетки предположительно дифференцируются в кардиомиоциты, фибробласты и участвуют в формировании рубца в зоне инфарктного повреждения миокарда; при этом наблюдается улучшение функциональных показателей сердечно-сосудистой системы.

Работа выполнена по госконтракту № 02.512.12.2058 от 22.05.2009 г.

ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ТКАНЕЙ

В.Ю. Сысоева, К.А. Рубина, Н.И. Калинина, З.И. Цоколаева, К.В. Дергилев,
Е.В. Парфенова, В.А. Ткачук

Государственное учебно-научное учреждение Факультет фундаментальной медицины
МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва, e-mail: veroniks@mail.ru

Все органы взрослого организма содержат стволовые клетки, которые опосредуют физиологическое обновление специализированных тканей и являются источником для их репарации после повреждения. В коже, в миокарде, костном мозге или жировой ткани обнаружены группы клеток, несущие маркеры стволовых. Стволовые клетки располагаются в особом микроокружении — «нишах», которое поддерживает эти клетки в неактивном состоянии. «Ниша» состоит из тканеспецифичных клеток стромы и компонентов внеклеточного матрикса, которые ассоциированы с цитокинами и факторами роста. При повреждении (гипоксии, воспалении или формировании тромба) происходит активация стромальных клеток «ниши», которые в свою очередь стимулируют стволовые клетки к делению, миграции и дифференцировке в специализированные клетки. Мы обнаружили, что секреторная активность этих клеток снижается с возрастом и зависит от метаболического статуса пациента.

Клетки стромы активируют регенерацию ткани, как посредством стимуляции ее кровоснабжения и иннервации, так и посредством индукции пролиферации и дифференцировки тканеспецифичных стволовых клеток. Мы показали, что внутрикожное введение фибробластов, которые являются стромальными клетками дермы, вызывает активацию пролиферации стволовых клеток эпидермиса.

Постоянная активация стволовых клеток при патологиях может приводить к уменьшению количества тканеспецифичных стволовых клеток. Так, у больных с хронической ишемической болезнью сердца происходит истощение пула стволовых клеток миокарда: уменьшается количество недифференцированных клеток в «нишах», которое сопровождается появлением прогениторных клеток, коммитированных к кардиомиогенной дифференцировке.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ КАРДИОЛОГИЯ, НЕВРОЛОГИЯ, АЛЛЕРГОЛОГИЯ,
ПУЛЬМОНОЛОГИЯ, СТОМАТОЛОГИЯ, ГЕМАТОЛОГИЯ, НЕФРОЛОГИЯ,
ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ, ОНКОЛОГИЯ, ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

СОЧЕТАННОЕ ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ТРАДИЦИОННЫХ ФАКТОРОВ РИСКА
НА РАЗВИТИЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Е.Ю. Андреев¹, А.В. Балацкий¹, П.И. Макаревич², Л.М. Самоходская², С.А. Бойцов¹

¹ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи, г. Москва, e-mail: info@cardioweb.ru

² Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва, e-mail: info@fbm.msu.ru

Актуальность. Важный вклад в раннее развитие ИБС вносят генетически обусловленные вариации активности белков, вовлеченных в процесс атеросклероза и его осложнений. Согласно последним данным, ключевую роль в развитии ИБС играет комбинация наследственной предрасположенности и факторов риска, не связанных с генетическим профилем больного.

Цель исследования. Определить клиническую значимость носительства аллельных вариантов генов факторов свертывания крови (полиморфизм С807Т гликопротеина Ia, PLA1/PLA2 гликопротеина IIIa, 4G/5G ингибитора активатора плазминогена 1 типа, V34L гена фактора XIII и R353Q гена фактора VII свертывания крови) и факторов, влияющих на функцию эндотелия сосудов (полиморфизм С677Т метилентетрагидрофолатредуктазы, G894Т эндотелиальной NO-синтазы, С242Т р22 рhox субъединицы NADH-оксидазы, G-174С интерлейкина-6 и С1019Т коннексина 37), и их сочетание с негенетическими факторами риска в раннем развитии ИБС, в том числе инфаркта миокарда (ИМ).

Материалы и методы. В исследование включено 977 мужчин в возрасте от 20 до 55 лет, из них: 375 боль-

ных ИБС, в том числе: 186 — без ИМ, 189 — с ИМ в анамнезе и 602 человека без сердечно-сосудистых заболеваний. Для идентификации полиморфизмов использовали метод ПЦР.

Результаты. С повышенным риском формирования ИБС ассоциировались генотип ТТ гена GPIa (OR = 10,2) и генотип ТТ гена NO-синтазы (OR = 5,5). С повышенным риском развития ИМ ассоциировались ТТ-генотип MTHFR (OR = 2,1) и ТТ-генотип коннексина 37 (OR = 5,3) независимо от традиционных факторов риска. С уменьшением риска развития ИБС ассоциировались генотип LL FXIII (OR = 0,48) и генотип QQ FVII свертывания крови (OR = 0,12), а сочетание L-аллеля гена FXIII с Q аллелем FVII ассоциировалось с уменьшением риска развития ИМ как осложнения ИБС (OR = 0,33). С повышенным риском развития ИМ у больных ИБС ассоциировались сочетания PLA2/PLA2 генотипа GPIIa с гиперхолестеринемией (OR = 6,0), ТТ-генотипа MTHFR с артериальной гипертонией (OR = 2,8) и курением (OR = 2,7) и CC-генотипа IL6 с гиперхолестеринемией и курением (OR = 8,0).

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЦЕЛИАКИИ

Е.Н. Андрюхина, Е.А. Рославцева

Целиакия является генетически детерминированным заболеванием. В основную группу риска по развитию целиакии входят родственники первой линии родства, частота заболеваемости среди которых составляет от 2 до 12%. Среди однояйцевых близнецов частота достигает 70%. В последнее время генетическим маркерам заболевания уделяется большое внимание. Установлена связь целиакии с генами II класса главного комплекса гистосовместимости, а именно с гетеродимерами HLA-DQ2 (DQB1*201, DQA1*501) и HLA-DQ8 (DQB1*302, DQA1*301). Реализация генетической предрасположен-

ности происходит под влиянием различных внешних факторов, к которым относятся продолжительность грудного вскармливания, сроки введения глютенсодержащих продуктов, количество употребляемого глютена, вирусные инфекции и др. Типичные гетеродимеры встречаются у 98,9% больных целиакией в Северной Европе, что указывает на роль генетического исследования в диагностике заболевания. Однако, по результатам HLA-типирования в различных странах мира, частота встречаемости DQ2/DQ8 у больных целиакией не однородна. Так, в скандинавских странах аллель DQ2

определяется в 90–95% случаев, в Израиле — в 80%, в Казахстане — лишь в 62%. В России проводились единичные генетические исследования по диагностике целиакии. Так, по данным исследования, проведенного в Томске, HLA- маркеры целиакии выявлены у 80% больных. Наиболее часто регистрировались аллели DQA1 501 (45%) и комбинация HLA-DQA1*501 B1*201 (29,7%), которая наряду с HLA-DQA1 301 преобладала при типичной форме целиакии. В соответствии с первоначаль-

ными результатами исследования генетических маркеров целиакии в Москве аллели HLA-DQ2 (DQB1*02) и DQB1*03 выявлялись с одинаковой частотой (75%). Данное несоответствие полученных результатов европейским данным может быть обусловлено национальными особенностями, что требует продолжения дальнейшего исследования генетических маркеров целиакии на территории Российской Федерации.

РОЛЬ МОДИФИКАЦИИ ЭКСПРЕССИИ mTOR В МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В.Н. Анисимов, М.А. Забежинский, И.Г. Попович, П.А. Егормин, Т.С. Пискунова, А.В. Семенченко, М.Л. Тындык, М.Н. Юрова

НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий, Санкт-Петербург, e-mail: aging@mail.ru

Протеинкиназа мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) является ключевым звеном в контроле клеточного старения и старения организма в целом. Угнетение экспрессии mTOR, наблюдаемое при ограничении калорийности питания (ОКП), воздействии метформина или рапамицина, может приводить к увеличению продолжительности жизни (ПЖ), торможению развития новообразований и других ассоциированных с возрастом заболеваний. Нами было изучено влияние антидиабетических бигуанидов на ПЖ и развитие опухолей у грызунов. Под влиянием метформина на 9% увеличивалась средняя ПЖ крыс, замедлялось старение эстральной функции и в 1,6 раза снизилась частота развития опухолей. Фенформин на 3 мес. увеличивал максимальную ПЖ и в 1,3 раза снижал частоту опухолей у крыс, а у мышей C3H/Sn увеличил на 21% среднюю и на 26% максимальную ПЖ, в 4 раза уменьшилась частота опухолей. Под влиянием метформина и рапамицина увели-

чивалась средняя ПЖ, наблюдалось отчетливое замедление развития аденокарцином молочной железы у трансгенных мышей HER-2/neu. У мышей SHR введение метформина сдвигало вправо кривую выживаемости, на 38% увеличивало среднюю ПЖ и на 10% — максимальную ПЖ. Показано, что метформин оказывает влияние на активность тех же генов, экспрессия которых изменяется при ОКП, прежде всего генов, регулирующих метаболизм ксенобиотиков, клеточный стресс, энергетический обмен, биосинтез, передачу сигналов и цитоскелет. Имеющиеся данные позволяют рассматривать применение метформина в качестве перспективного геропротектора. В клинических наблюдениях показано, что применение метформина снижает риск развития рака, снижает более чем на треть общую смертность, смертность от инфарктов миокарда и осложнений сахарного диабета 2-го типа.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ CYP1A1, CYP1B1 И CYP19A1 ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

А.С. Бабенко, В.А. Синелёв, А.В. Свирид*, Л.Н. Денчук*, Д.И. Боровицкий**
Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь,
e-mail: babenko@iboch.bas-net.by

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) является клональным миелопролиферативным расстройством, характеризующимся повышенным уровнем пролиферации и увеличенной продолжительностью жизни кроветворных стволовых клеток, снижением апоптоза и изменением свойств адгезии клеток [1]. Большинство случаев развития ХМЛ связывают с транслокацией, приводящей к образованию химерного белка BCR/ABL.

Известно, что полиморфизм гена CYP1A1 может свидетельствовать о повышенном риске развития этого заболевания [2]. Гены CYP3A4 и CYP2D6 влияют на метаболизм ингибиторов тирозинкиназы BCR/ABL [3].

Целью работы явилось изучение уровня экспрессии генов CYP1A1, CYP1B1, CYP19A1, принимающих участие в развитии ХМЛ, в 100 образцах кДНК, полученных из пунктата костного мозга больных ХМЛ. Для оценки

уровня экспрессии был использован метод ПЦР в реальном времени. Референсные образцы — кДНК из клеточных линий ХМЛ (k562).

Установлена корреляция между уровнем экспрессии генов СУР1В1 и СУР1А1 ($R^2 = 0,561$, $P < 0,01$), СУР19А1 и СУР1В1 ($R^2 = 0,438$, $P < 0,01$), СУР19А1 и СУР1А1 ($R^2 = 0,671$, $P < 0,01$). В 20% случаев уровни экспрессии СУР1В1, СУР1А1 и СУР19А1 превышают таковые в референсных образцах в 2 и более раза.

АДГЕЗИЯ МИЕЛОМНЫХ КЛЕТОК К ФИБРОНЕКТИНУ ЗАВИСИТ ОТ ИНТЕГРИНА VLA-4 И СИНДЕКАНА-1

В.В. Байков^{1,2}, Т. Слердал¹, Р.У. Холт¹, М. Борсет¹, А. Воог¹, А. Сундан¹

¹ Институт молекулярной медицины и исследования рака, Норвежский институт науки и технологий, Тронхейм, Норвегия

² Институт гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой и кафедры патологической анатомии, С.-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, С.-Петербург, Россия, e-mail: baikov02@gmail.com

Экспрессия синдекана-1 — характерная черта плазматических/миеломных клеток [4]. Среди интегринов на их поверхности наиболее распространен VLA-4 ($\alpha_4\beta_1$) [2]. Обе молекулы играют роль в адгезии миеломных клеток (МК) к белкам матрикса, что может определять избирательную локализацию МК в костном мозгу. Адгезия индуцирует сигнальные каскады, что приводит к увеличению выживаемости МК, усиливает их пролиферацию, лекарственную устойчивость. Адгезия МК значительно усиливается при стимуляции клеток цитокинами [3]. Имеются данные о взаимодействии интегринов и синдеканов при адгезии эпителиальных клеток [1], однако в отношении МК такие сведения отсутствуют.

Целью исследования было изучение роли синдекана-1 в цитокин-стимулированной адгезии МК.

Методы и результаты

Исследовали адгезию клеток миеломной линии INA-6, стимулированную IGF-1, HGF и SDF-1 α , к фибронектину в 96-луночных планшетах. В части экспериментов клетки предварительно культивировали в присутствии гепарина, гепаритиназы или натрия хлората для удаления/блокирования боковых цепей гепарансульфата. При этом адгезия снижалась примерно наполовину. Локализацию синдекана-1 (меченного PE) и интегринов (FITC-меченная цепь α_4) в мембранах МК (линии INA-6 и клеток больных) изучали с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа (LSM-510, Zeiss, Германия) при адгезии к фибронектину без и после стимуляции цитокинами. В нестимулированных клетках сигналы не смешивались, интегрины

Литература

1. Samassekou O. et al. // *Neoplasia*. — 2009. — Vol. 11. — P. 1146–1154.
2. Taspinar M. et al. // *Swiss Med. Wkly*. — 2008. — Vol. 138. — P. 12–17.
3. Deremer D.L. et al. // *Clin. Ther.* — 2008. — Vol. 30, N 11. — P. 1956–1975.

локализовались в центре пятна адгезии, а синдекан-1 — по периферии. При стимуляции обнаруживалась колоколлизация сигналов. Аналогичные закономерности были выявлены при исследовании МК больных, сепарированных на колонках с помощью иммуномагнитных бус.

Заключение

Наше исследование впервые показало, что в процессе цитокин-стимулированной адгезии МК возможна кооперация VLA-4 и синдекана-1. Происходит латеральное смещение молекул интегрин и колоколлизация синдекана-1 и интегринов в пятне адгезии. Необходимы дальнейшие исследования для уточнения роли этого феномена в прогрессии опухоли.

1. Beauvais D.M., Rapraeger A.C. Syndecan-1-mediated cell spreading requires signaling by $\alpha_3\beta_1$ integrins in human breast carcinoma cells // *Exp. Cell. Res.* — 2003. — Vol. 286. — P. 219–232.

2. Drew M., Barker H.F., Ball J. et al. Very late antigen (VLA) expression by normal and neoplastic human plasma cells; including an assessment of antibodies submitted to the Vth International Workshop on Leucocyte Differentiation Antigens using human myeloma cell lines // *Leuk. Res.* — 1996. — Vol. 20. — P. 619–624.

3. Holt R.U., Baykov V., Ro T.B., Brabrand S., Waage A., Sundan A., Borset M. Human myeloma cells adhere to fibronectin in response to hepatocyte growth factor // *Haematologica*. — 2005. — Vol. 90, N 4. — P. 479–488.

4. Wijdenes J., Vooijs W.C., Clement C. et al. A plasmacyte selective monoclonal antibody (B-B₄) recognizes syndecan-1 // *Br. J. Haematol.* — 1996. — Vol. 94. — P. 318–323.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КОННЕКСИНА-37 В РАЗВИТИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА

А.В. Балацкий, Е.Ю. Андреев, Л.М. Самоходская, С.А. Бойцов

Государственное учебно-научное учреждение Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва, e-mail: balatsky@fbm.msu.ru

Одним из широко обсуждаемых факторов риска ишемической болезни сердца (ИБС) является полиморфизм гена коннексина-37 — белка, участвующего в образовании щелевых контактов и опосредующего взаимодействия между эндотелием и гладкомышечными клетками. Замена С на Т в 1019 положении гена приводит к замене пролина на серин в кодоне 319 аминокислотной последовательности. Это ведет к уменьшению взаимодействий между эндотелиальными и гладкомышечными клетками, способствуя пролиферации гладкомышечных клеток сосудов. Цель исследования — поиск ассоциации полиморфизма гена коннексина-37 с ранним развитием ИБС в российской популяции.

Материалы и методы: обследовано 375 больных ИБС, из которых 189 человек имели в анамнезе инфаркт миокарда (ИМ), и 483 донора крови (контрольная группа). Для определения полиморфизма использовали ПЦР.

Результаты: у больных ИБС чаще, чем в контрольной группе, встречались генотип ТТ (23,72 и 13,72% соответственно) ($p = 0,004$; $OR = 2$) и аллель Т (44,39 и 36,06% соответственно) ($p = 0,006$, $OR = 1,4$). В группе больных ИБС, перенесших ИМ, было больше носителей генотипа ТТ, чем у больных ИБС без ИМ (36,14 и 9,59% соответственно) ($p = 0,0001$; $OR = 5,3$), и аллели Т (55,42 и 31,85% соответственно) ($p = 0,0001$; $OR = 2,7$). При сравнении больных ИБС без ИМ с контрольной группой отличий не выявлено. В группе больных, у которых ИМ развился без предшествующей ИБС (80,49% случаев), чаще по сравнению с пациентами, имевшими ИБС до развития ИМ, встречались аллель Т (59,85% против 35,94%; $p = 0,0009$) и генотип ТТ (42,42% против 9,38%; $p = 0,001$). У 94,92% носителей генотипа ТТ ИМ являлся дебютом ИБС. Заключение: мутация гена коннексина-37 повышает риск развития ИМ, не являясь фактором риска развития хронической ИБС.

ГАПЛОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА CCL2 У БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

В.А. Белоногова¹, Т.Р. Насибуллин¹, И.А. Туктарова¹, И.М. Карамова², О.Е. Мустафина¹

¹ Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, e-mail: valery259@mail.ru

² ГУЗ Республиканский кардиологический диспансер, г. Уфа

С целью изучения молекулярно-генетических основ эссенциальной гипертензии (ЭГ) проведен сравнительный анализ распределений частот гаплотипов гена моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (CCL2, 17q11.2-q21.1) в группе больных и контрольной группе по полиморфным маркерам -5796A>T (rs1860190), -2581C>T (rs1024611), 704(14)I/D (rs3917887) и 5357A>G (rs991804).

Выборка больных ЭГ включала 162 пациента с дебютом заболевания в возрасте от 23 до 56 лет, а контрольная группа — 170 человек без клинических признаков сердечно-сосудистых заболеваний, в возрасте от 25 до 58 лет. Все участники исследования были мужского пола, татары по этнической принадлежности. Больные были обследованы на базе республиканского кардиологического диспансера. ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции из цельной венозной

крови. Генотипирование осуществляли методом полимеразной цепной реакции. Статистический анализ проводили с использованием программы Haploview 4.2. Частоты гаплотипов определяли с помощью EM алгоритма. В результате исследования выявлено 12 гаплотипов из 16 возможных, при этом частота встречаемости трех из них составила более 10%: ТАІС (48,3%), АGDT (17,1%) и ААІС (10,0%); частоты гаплотипов ААDT и TGDT составили 6,3 и 3,2% соответственно, остальных — менее 3%. Обнаружено, что в выборке больных ЭГ повышена частота гаплотипа АGDT (20,4% против 13,9% в контрольной группе, $\chi^2 = 4,973$, $P = 0,026$, $OR = 1,57$, $CI 1,04-2,36$). Таким образом, гаплотип АGDT гена CCL2 может рассматриваться в качестве маркера риска ЭГ.

Исследование поддержано грантом Российского гуманитарного научного фонда № 06-07-00309а.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ IN SITU (FISH) В ДИАГНОСТИКЕ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

З.Ж. Васильева, И.Е. Воробцова, Д.А. Тимофеев, М.И. Школьник
ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»,
г. Санкт-Петербург, e-mail: radgenetika@mail.ru

Ежегодно в нашей стране регистрируют до 12,5 тысяч новых случаев заболевания раком мочевого пузыря (РМП), что составляет 2,7% от всех онкологических заболеваний. Традиционно применяемые в диагностике рака мочевого пузыря методы исследования хотя и обладают высокой специфичностью, но не являются достаточно чувствительными на ранней стадии РМП. Одним из новых и чувствительных методов обнаружения цитогенетических отклонений уже на ранней стадии опухолевого преобразования является флуоресцентная гибридизация in situ (FISH), которая проводится на слущенных клетках в собранной моче. Для FISH-диагностики используют зонды к центромерным участкам хромосом 3, 7 и 17 и локусу 9p21, позволяющие выявить хромосомные аномалии, характерные для злокачественных клеток. Неинвазивность, высокая чувствительность и быстрота FISH-метода позволяют улучшить первич-

ную диагностику и увеличить точность контроля за рецидивами у пациентов с опухолями мочевого пузыря, после проведения соответствующего лечения. Цель нашего исследования заключалась в оценке теста «URO-VYSION» при внедрении в клиническую практику как неинвазивного метода диагностики РМП. Исследование было проведено на образцах мочи от 29 больных урологического отделения РНЦРХТ. Чувствительность FISH-метода составила 90%. Среди обнаруженных генетически измененных ядер 46, 20 и 27% содержали полисомии по 3, 7 и 17 хромосомам соответственно, а в 7% присутствовала гомозиготная делеция в хромосоме 9. Исследование при помощи FISH-метода, произведенное на слущенных клетках в собранной моче, имеет высокую чувствительность, что служит основанием для внедрения в клиническую практику для улучшения первичной диагностики РМП и выявления ранних рецидивов.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКА P73 НА АПОПТОЗ, КАНЦЕРОГЕНЕЗ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ

Г.Р. Виноградская, А.В. Волницкий, М.В. Филатов
Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН,
Россия, г. Гатчина Ленинградской обл., e-mail: gvinogradskaya@bpc.spbstu.ru

Рост опухоли и ее дальнейшее озлокачествление зависит от способности раковых клеток блокировать задержку клеточного цикла и апоптоз. Оба процесса находятся под контролем генов опухолевых супрессоров, ключевым из которых является ген *p53*. В составе гомотетрамера белок *p53* является транскрипционным фактором, регулирующим экспрессию многих мишеней генов в ответ на разнообразные стрессовые воздействия. Продукты этих генов непосредственно участвуют в задержке клеточного цикла и апоптозе. В опухолях ген *p53* часто мутирован.

В последние годы обнаружены два других гена (*p63* и *p73*), продукты которых входят в семейство *p53*-белков. Исследование роли гомологов белка *p53* и их взаимодействия в развитии опухолей не только открывает новую главу в области канцерогенеза, но и является фундаментом для новых терапевтических подходов.

Обладая большим структурным сходством, эти белки могут активировать те же гены-мишени, что и *p53*, и

супрессировать опухолевый рост. Однако, в отличие от гена *p53*, мутации в гене *p73* в опухолях встречаются редко. Более того, во многих опухолях наблюдается суперэкспрессия белка *p73*, что плохо согласуется с его ролью опухолевого супрессора. Объяснение этого феномена может лежать в сложной структурной организации гена *p73*, позволяющей экспрессию различных изоформ белка *p73*, одни из которых обладают свойствами опухолевого супрессора, другие — свойствами онкогенного белка. Наличие онкогенных изоформ приводит к функциональной инактивации опухолевых супрессоров. Вопрос о влиянии баланса этих изоформ на судьбу клетки широко обсуждается.

Показано, что онкосупрессорная изоформа белка *p73* существенна для поддержания чувствительности опухолевых клеток ко многим химиопрепаратам. Поэтому терапевтические стратегии, направленные на активацию *p73*, могут иметь широкое применение. С другой стороны, повышенная экспрессия онкогенных изоформ может

быть маркером плохого прогноза и причиной лекарственной устойчивости опухоли. Это может определить выбор этих изоформ в качестве молекулярных мишеней терапевтического ингибирования, что требует дальнейшей конкретизации относительно типа опухолей и репертуара изоформ, экспрессируемых различными клет-

ками. Наше исследование, проведенное на первичных культурах глиом человека, показало, что ингибирование супрессорной функции белка *p73* может быть связано как с полным отсутствием экспрессии гена *p73*, так и с одновременной экспрессией супрессорных и онкогенных его изоформ.

ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА У БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМИ ФЕНОТИПАМИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

А.Н. Войтович¹, М.А. Богданова¹, Б.И. Смирнов², А.А. Быстрова³, Т.Д. Глебовская⁴,
Е.И. Красильникова², М.И. Бадмаева³, О.А. Беркович³, Е.И. Шляхто³, В.И. Ларионова¹

¹ Санкт-Петербургская государственная Педиатрическая Медицинская Академия

² Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет

³ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. Павлова

⁴ ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург

Метаболический синдром (МС) формируется вследствие комплекса взаимосвязанных нарушений липидного и углеводного обмена. Среди компонентов МС ожирение и атерогенная дислипидемия являются одними из основных метаболических нарушений, определяющих высокий риск развития сахарного диабета тип 2 (СД2) и атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний. Целью нашей работы стало изучение полиморфизма генов *APOA1* (G-75A и C+83T), *APOC3* (Sst1), *APOE*, *APOA5* (T-1131C и S19W), *ADRB3* (W64R) и *ACE I/D* у 501 больного с признаками МС (176 мужчин и 325 женщин, средний возраст $61,7 \pm 1,0$), из которых 382 человека имели СД2, и 199 здоровых лиц без СД2 (115 мужчин, средний возраст $40,0 \pm 0,5$, и 84 женщины, средний возраст $- 85,9 \pm 0,5$). У всех пациентов была проведена оценка показателей: возраст, рост и вес для определения индекса массы тела (ИМТ), наличие артериальной гипертензии (АГ), показатели липидного спектра крови (уровень общего ХС, ХС ЛПВП, ТГ). Генотипирование пациентов проводилось с помощью метода ПДРФ. Для статистической обработки данных использовали метод относительного риска (ОР) для доверительного интервала (ДИ) 95%. Результаты. 450 больных МС имели избыточную массу тела или ожирение, у 458 больных была АГ. Атерогенные изменения липидного спектра крови были обнаружены у 202 больных с использованием 90% отрезной точки распределения уровней общего

ХС и ТГ и 10% отрезной точки распределения уровня ХС ЛПВП с учетом пола и возраста (А.Н. Климов и др., 1989). Анализ распределения генотипов по исследованным генам в зависимости от типа метаболического нарушения выявил гендерные различия. Количество носителей аллеля 19W по гену *APOA5* было значимо выше в группе мужчин с МС по сравнению с группой здоровых мужчин (ОР = 4,77, 95% ДИ 1,40–16,24). А в группах женщин данное различие отсутствовало. В то же время, в группе женщин с МС носителей аллеля D по гену *ACE* было меньше по сравнению с группой здоровых женщин (ОР = 0,85, 95% ДИ 0,75–0,97). Среди мужчин, больных МС, имеющих ожирение (ИМТ > 30), носителей аллеля -75A гена *APOA1* было значимо больше, чем среди здоровых мужчин с нормальной массой тела (ОР = 2,01, 95% ДИ 1,12–3,61). Среди больных мужчин, не имеющих АГ, носителей аллеля E2 гена *APOE* было больше, чем среди здоровых мужчин (ОР = 3,16, 95% ДИ 1,36–7,35). Также носители аллеля E2 гена *APOE* встречались чаще среди больных мужчин с уровнями ТГ выше 90% отрезной точки (ОР = 2,22, 95% ДИ 1,10–4,48) и среди больных мужчин с уровнями общего ХС ниже 10% отрезной точки (ОР = 2,47, 95% ДИ 1,04–5,85), чем среди здоровых лиц с нормолипидемией. В группах женщин отсутствовали различия в распределениях генотипов и аллелей исследованных генов во всех проанализированных группах.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МНОЖЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЧЕЛОВЕКА

О.А. Вострюхина, Т.А. Штам, Г.М. Бутрович, В.А. Ланцов
Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН
г. Гатчина Ленинградской области, e-mail: oavostr@bpc.spbstu.ru

К настоящему времени для злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) известны два основных пути развития — «супрессорный», или *TP53*-зависимый, и т. н. «мутаторный» путь, сопряженный с повреждениями системы коррекции неспаренных оснований ДНК (КНО) и микросателлитной нестабильностью генома (МНГ). Каждый из этих путей характеризуется разным мутационным профилем.

Множественные злокачественные новообразования ЖКТ у пациентов с высокой вероятностью ассоциированы с мутаторным путем развития карцином. Мутации в генах системы КНО — *MSH2* и *MLH1* выявляются, например, более чем в 80% случаев наследственных неполипозных раков толстой кишки (ННРТК) и приводят к повреждениям генов, содержащих микросателлиты в структуре своих экзонов.

Целью данной работы явился ретроспективный анализ генетических изменений, накапливающихся в клетках двух пациентов — с синдромом ННРТК и мульти-

фокальной аденокарциномой желудка — при неопластической прогрессии. Наш анализ предусматривал: проверку МНГ, выявление наследственной мутации, поиск мутаций в генах-мишенях дефектной работы системы КНО; анализ изменений мутационного профиля опухолей в ходе канцерогенеза; проверку возможного соучастия *TP53*-зависимого пути в развитии заболевания.

Проведенный генетический анализ двух конкретных случаев — ННРТК и мультифокальной аденокарциномы желудка — представляет их как генетические заболевания, развившиеся из-за специфических мутаций в результате снижения уровня коррекции неспаренных оснований в ДНК. Используя уникальный материал — опухоли, последовательно возникавшие в организме пациента в течение многих лет, нам удалось составить генетическую схему поэтапного развития данных конкретных заболеваний.

АНТИГИПОКСАНТНАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

И.А. Горбачева¹, Ю.А. Сычева¹, Л.А. Николаева¹, Д.А. Попов¹, Л.В. Слепнева², Н.Н. Алексеева²

¹ Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

² Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии,
Санкт-Петербург, e-mail: Sichova 66@ mail.ru

Цель исследования. Оценить цитопротективное действие гипертонического раствора оксифумарата натрия («конфумина») у больных с хроническими формами ИБС.

Материалы и методы. Было обследовано 20 больных (6 мужчин и 14 женщин) в возрасте 54–85 лет. Все пациенты страдали хроническими формами ИБС (стенокардией напряжения II–III ФК, СН I–II ФК). Лечение конфумином проводилось инфузионно в течение двух дней под контролем: апоптоза мононуклеарных клеток методом проточной цитометрии, оценки деформируемости неотмытых и отмытых эритроцитов (ДЭн и ДЭо) и относительной вязкости эритроцитов (ВЭ), отмытых от компонентов плазмы крови, активности свободнорадикального окисления белков.

Результаты исследования. В работе отмечена клиническая эффективность терапии конфумином: достиг-

нуто исчезновение ангинозных приступов у 35% больных, уменьшение одышки у 80% больных, увеличение толерантности к нагрузке у 35% больных. Были установлены признаки антиапоптотического действия препарата с уменьшением вступления клеток в раннюю фазу апоптоза (An+) через 7 дней после введения препарата, что свидетельствует о повышении резистентности клеток к повреждению. Показатели поздних, необратимых фаз апоптоза (An+, Pi+, Pi+) увеличивались, что отражало завершение конечных этапов ранее инициированной запрограммированной гибели клеток. После лечения конфумином у больных с ИБС к 7 дню отмечена тенденция к улучшению показателей ДЭн от $0,37 \pm 0,032$ усл. ед. до $0,41 \pm 0,031$ усл. ед. Выявлены тенденция к повышению концентрации восстановленной серы в составе SH-групп, тенденция к снижению окисленной серы в составе SS-групп белков, а также тенденция к норма-

лизации тиолдисульфидного соотношения на 7 день лечения у больных с ИБС, что свидетельствует об антиоксидантной активности препарата.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что конфумин проявляет антиоксидантное

действие и, улучшая реологические свойства крови, уменьшает клеточный апоптоз, что является молекулярно-клеточным субстратом клинического улучшения.

КОРРЕКЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

И.А. Горбачева, А.А. Шестакова, В.А. Малоземова, О.В. Михайлова, Л.Г. Владимирова
Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

Тиоловые соединения играют важную роль в механизме антиоксидантной защиты. Соотношение между восстановленными и окисленными формами тиоловых соединений определяет общую буферную емкость антиоксидантной системы (АОС), которая тем выше, чем больше смещение в сторону восстановленных тиолов в составе SH-групп. Нарушение тиолдисульфидного равновесия, характеризующего баланс в окислительно-восстановительном метаболизме белков, сопровождается окислительным стрессом, являющимся одним из основных патогенетических механизмов в развитии патологических процессов у больных.

Целью исследования явилась оценка клинической эффективности восполнения дефицита серы серосодержащим препаратом (внутривенным введением натрия тиосульфата) в сопоставлении с динамикой тиоловых соединений у больных с хроническими воспалительными заболеваниями органов дыхания.

Материалы и методы. Обследовано 50 пациентов с хроническим бронхитом. Пациенты были разделены на 2 группы. В 1-й группе больные в дополнение к стандартной терапии, включавшей бронхолитики и антибиотики, получали тиосульфат натрия (NaTc) по 10,0 мл 30% раствора внутривенно капельно 1 раз в день в течение 10 дней, пациентам 2-й группы проводилась только стандартная терапия. У всех больных определяли уровни SH-, SS-групп с расчетом тиолдисульфидного отношения ($TDO = SH:SS$), а также общую серу в плазме крови методом амперометрического титрования по В.В. Соколовскому до и после лечения. У всех больных определяли С-реактивный белок в крови.

Результаты исследования. У всех больных при первичном обследовании было выявлено снижение уровня

восстановленной серы и повышение уровня окисленной серы, что показывает высокую активность процессов окисления в организме. Установлена закономерность между тяжестью состояния больного и показателями тиолдисульфидного отношения: чем тяжелее состояние больного, тем больше смещено равновесие в сторону окисленных эквивалентов со снижением ТДО. Данная закономерность подтверждается и реакцией С-реактивного белка, концентрация которого напрямую была связана с тяжестью состояния пациента. При присоединении к стандартной терапии серосодержащего препарата (тиосульфата натрия) было отмечено эффективное восполнение дефицита серы за счет ее восстановленной фракции в отличие от показателей у больных, в терапию которых не были включены препараты серы. Было отмечено также более быстрое клиническое улучшение состояния больных, получавших серосодержащий препарат: в более короткие сроки улучшалось общее самочувствие, уменьшались клинические симптомы бронхита, улучшались показатели клинического анализа крови (снижались СОЭ, лейкоцитоз). Этому соответствовало снижение уровня СРБ от $88,3 \pm 3,7$ мг/л до $11 \pm 1,4$ мг/л ($p < 0,01$) по сравнению с динамикой СРБ во 2-й группе больных, где снижение СРБ было недостоверным (от $91 \pm 4,75$ до $67 \pm 8,92$ мг/л).

Вывод: Добавление серосодержащего препарата тиосульфата натрия к терапии больных хроническими бронхитами эффективно восполняет антиоксидантный ресурс SH-групп белков, что сопровождается значительным клиническим улучшением состояния пациентов.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ГЕМОБЛАСТОЗОВ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Д.С. Джумагазиева, В.Б. Бородулин, О.Е. Царёва

ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрав», г. Саратов, e-mail: Jana7@bk.ru

Проведен анализ лабораторных данных 64 пациентов с диагнозом ХМЛ и 17 детей с ОЛЛ, находившихся на лечении в клинике профпатологии и гематологии СГМУ с 2007 по 2010 г. Было проанализировано 97 кариотипов костного мозга пациентов с ХМЛ, у всех пациентов была выявлена Ph-хромосома, у 5 (7,8%) пациентов наблюдались дополнительные хромосомные aberrации. Флуоресцентную *in situ* гибридизацию хромосом (FISH) с ДНК зондом к слитному гену BCR-ABL проводили у 4 пациентов с отсутствием митозов при стандартном цитогенетическом обследовании. У 22 пациентов (34,4%) цитогенетическое обследование проводилось в динамике, на фоне проводимой терапии полная цитогенетическая ремиссия была достигнута у 9 (41,1%) пациентов, частичная ремиссия — у 5 (22,7%), минимальный ответ — у 7 (31,8%) и отсутствие ответа наблюдалось у 1 (4,5%) пациента. Пациентам с полным цитогенетическим ответом проводилось исследование клеток периферической крови с помощью количественной ПЦР на транскрипт BCR-ABL, полный молекулярный ответ был получен у 5 пациентов. Проведение молекулярно-генетического мониторинга уровня экспрессии гена BCR-ABL целесообразно у пациентов с ХМЛ с полным цитогенетическим ответом. При исследовании 11 карио-

типов детей с ОЛЛ в 4 случаях (36,4%) были выявлены численные изменения, в 4 случаях (36,4%) выявлены структурные перестройки кариотипа и в 3 случаях (27,2%) был нормальный кариотип. При обследовании пациентов с помощью биологических микрочипов «ЛК Биочип» анализировались *t(12; 21) TEL/AML1*, *t(9; 22) p190BCR/ABL*, *t(1; 19) E2A/PBX*, *t(8; 21) AML1/ETO*, *t(15; 17) PML/RARA*, *inv(16) CBFB/MYH11*, *t(4; 11) MLL/AF4*, *t(9; 11) MLL/AF9*, *t(11; 19) MLL/ENL*, *t(11; 19) MLL/ELL*, *t(6; 11) MLL/AF6*, *t(10; 11) MLL/AF10*, *t(9; 22) p210BCR/ABL*. Было выявлено отсутствие данных перестроек у 1 пациента, при цитогенетическом обследовании были выявлены численные изменения в кариотипе. У 1 пациента выявлена транслокация (12; 21), при цитогенетическом анализе данная перестройка не была выявлена, возможно, в связи с минимальным клеточным клоном данной перестройки: чувствительность цитогенетического метода 1:100, а чувствительность анализа, проводимого с помощью биочипов, — 1:10000. У 1 пациента была выявлена *t(8; 21)*, что полностью совпало с традиционным цитогенетическим анализом. Наиболее оправдано использовать в диагностике ОЛЛ стандартный цитогенетический метод и молекулярно-генетические исследования в комплексе.

КАРТИНА АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА У ЖЕНЩИН С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

С.Г. Журавский^{1, 2}, Д.А. Мазикина⁵, Н.Б. Золотова¹, Н.В. Пискунова¹, А.Е. Тараскина^{1, 4},
С.Н. Пчелина^{1, 4}, С.М. Котова³

¹ Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова

³ Государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова

⁴ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН

⁵ Городская поликлиника № 117, Санкт-Петербург

Введение. Сахарный диабет 2 типа (СДт2) — метаболическое заболевание, характеризующееся хронической гипергликемией, которая является результатом нарушения секреции инсулина или механизмов его взаимодействия с клетками тканей. В настоящее время широко обсуждается вклад генетических факторов в риск развития СДт2, затрагивающих системы неспецифического метаболизма организма человека.

Цель. Оценить вклад аллельных вариантов генов неспецифических метаболических систем в риск развития СДт2 у женщин.

Материал и методы. В исследование было включено 158 пациентов женского пола в возрасте от 56 до 67 лет с установленным диагнозом СДт2 по МКБ-10. Методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом и гель-электрофорезом в ПААГ охарактеризовано распределение аллельных вариантов генов, продукты которых участвуют в системах неспецифического метаболизма: *MTHFR(C677T)*, *NOS3(Glu298Asp)*, *GSTM1(0/0)*, *GSTT1(0/0)*, *MPP9(C1562T)*, *PON1(Q191R)*. В качестве контрольной группы для сравнения использовались литературные данные для популяций Северо-Западно-

го региона России и/или Европейских территорий (Franco et al., 1998; Шейдина, 2000; Garte, 2001; Joos et al., 2002; Попова и др., 2002; Стделева, 2002; Пчелина, 2002; Vasilakov et al., 2008; Venturelli et al., 2009).

Результаты. В исследованной группе больных не выявлено достоверных различий в распределении описанных аллельных вариантов генов по сравнению с популяционными данными. Частота Т-аллеля гена *MTHFR* составила 29%, генотипов Glu/Asp и Asp/Asp гена

NOS3 — 39,9% и 5% соответственно, носительство нулевого генотипа для *GSTM1* — 37,3%, для *GSTT1* — 19,6%, частота Т-аллеля *MPP9* — 15%, гомозиготное носительство QQ генотипа *PON1* — 6,3%.

Мы предполагаем, что расширение выборки больных позволит выявить ассоциации изучаемых аллельных вариантов с патогенезом развития поздних осложнений СД2, что в дальнейшем станет основой для разработки стратегии персонализации их ранней профилактики.

ИММУНОАЛЛЕРГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЯМИ

А.П. Егорова

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
кафедра внутренних болезней стоматологического факультета, Санкт-Петербург,
e-mail: LP-egorova@yandex.ru

Несмотря на значительный прогресс в лечении больных гемофилиями, угроза иммунизации больных антигенами препаратов крови остается в числе серьезных проблем. В первую очередь к ним относится появление ингибиторов факторов гемокоагуляции.

По данным нашего исследования, проведенного у 70 больных гемофилией А (55 больных), В (9 больных) и С (6 больных) в клинике профессора З.С. Баркагана, ингибиторные формы гемофилии наблюдались у 13,3% больных. Появление в крови больных ингибитора наблюдалось между 10 и 20 годами жизни, но в отдельных случаях — в возрасте 3–9 лет. Титр ингибитора в разных случаях и при повторном исследовании одних и тех же больных был неодинаков. Он то снижался, почти исчезая, то резко повышался (до 1105 ед./мл), особенно в процессе курсовой гемотрансфузионной терапии.

Описанный нами вторичный ревматоидный синдром (ВРС) обнаружен у 21,4% больных. Он формировался только при тяжелых формах гемофилии, чаще в возрасте после 20 лет. Средний возраст больных гемофилией, осложненной ВРС, составил 29,2 года.

Антиэритроцитарные антитела с помощью прямой и непрямой реакций Кумбса выявлены у 36,2% обследованных больных. Обнаружена прямая зависимость показаний пробы Кумбса от частоты и интенсивности предшествовавшей гемотерапии.

Эозинофилия (до 15% в лейкоцитарной формуле) наблюдалась у 22,8% больных и часто сочеталась с наличием ВРС и антиэритроцитарных антител.

Амилоидоз, в патогенезе которого существенна роль патологических иммунных комплексов, наблюдался у одного из наших пациентов и привел к развитию хронической почечной недостаточности.

В целом различные осложнения иммуноаллергического характера имели место у 57% больных. Их частота заметно увеличивалась в возрасте после 10 лет, прогрессировала к 30 годам жизни и в более старших возрастных группах. Это происходило несмотря на то, что среди больных старшего возраста преобладали лица с гемофилией легкой и средней степени тяжести.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА $\beta 2$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА И ГЕНА $\beta 3$ СУБЪЕДИНИЦЫ G-БЕЛКА У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ

Е.А. Исупова, М.А. Виноградова, М.В. Жданова, О.А. Кононова, Г.А. Новик, В.И. Ларионова
ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия,
Санкт-Петербург

$\beta 2$ -адренорецепторы (ADRB2), связанные с G-белком, находятся в центре внимания исследователей как гены-кандидаты для развития аллергических заболеваний и могут оказывать значительное влияние на эффективность действия противоастматических препаратов.

Цель исследования. Оценить частоту полиморфных аллелей гена ADRB2 Arg16Gly (R→G) и Gln27Glu (Q→E) и гена GNB3 в 825 кодоне 10 экзона (C→T), кодирующего $\beta 3$ -субъединицу G-белка, и их комбинаций в группе мальчиков и девочек с бронхиальной астмой (БА) и в группе здоровых детей.

Пациенты и методы. Обследовано 273 ребенка с установленным диагнозом БА: 227 мальчиков (82,6%) и 46 девочек (17,4%), возраст от 4 до 17 лет. Легкое течение БА отмечалось у 6% детей, среднетяжелое — у 52%, тяжелое — у 42%. Группу контроля составили 148 детей: 77 мальчиков и 71 девочка, возраст от 4 до 17 лет. Молекулярно-генетический анализ генов проводили методом ПДРФ. Статистическую значимость различий в распределениях генотипов между группами определяли с помощью теста Хи-квадрат и метода относительного риска (ОР) для доверительного интервала (ДИ) 95%.

Результаты. В группе детей с БА преобладает генотип 16RR/27QQ/825CT (7,7%) по сравнению со здоровыми детьми (1,4%) ($p = 0,006$; OR = 5,36 95%CI 1,28–22,55). А в группе здоровых детей преобладает комбинация 16GG/27QE/825CT (14,0%) по сравнению с детьми, страдающими от БА (5,5%) ($p = 0,006$; OR = 0,38 95%CI 0,20–0,73). При оценке распределения аллелей

и генотипов С825Т по гену GNB3 не обнаружено достоверных различий между группой детей с БА и группой здоровых детей ($p = 0,100$). Однако при сравнении результатов в группе детей с БА в зависимости от степени тяжести выявлено преобладание генотипа 825TT у детей, страдающих тяжелой формой БА (8,4%), по сравнению с детьми, у которых была диагностирована БА средней степени тяжести (1,6%) ($p < 0,050$).

Заключение. Впервые у детей Санкт-Петербурга определена частота аллелей и генотипов по генам ADRB2 и GNB3. По результатам нашего исследования выявлены различия в распределении генотипов R16G/Q27E по гену ADRB2 у детей с БА и здоровых детей, а также генотипов С825Т по гену GNB3 у детей с БА разной степени тяжести. Таким образом, наличие генотипа 16RR/27QQ гена ADRB2 может быть ассоциировано с развитием БА, а носительство аллеля 825Т гена GNB3 — с более тяжелым течением заболевания.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ АГРЕССИВНОГО ПАРОДОНТИТА

Т.И. Кадурин, А.В. Цимбалистов, Г.Б. Шторина, Т.Т. Нацвлишвили
Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург,
e-mail: tea-dent@hotmail.com

Выделяют две формы пародонтита: хронический и агрессивный. В отличие от хронического генерализованного пародонтита, агрессивными формами пародонтита (АП) в основном страдают молодые (от 17 до 35 лет), практически здоровые люди, у которых наблюдается высокая скорость прогрессирования (1,08–1,8 мм в год) заболевания. Выделяют две формы АП — локализованную и генерализованную.

Литературные данные свидетельствуют о сегрегации локализованной формы АП в семьях пробандов. Однако результаты клинико-генеалогических исследований противоречивы. Ряд исследователей считают, что данная патология передается Х-сцепленным доминантным путем, другие предполагают аутомно-рецессивный или аутомно-доминантный с неполной пенетрантностью тип наследования. В то же время, имеются данные, свидетельствующие в пользу мультифакторной природы заболевания. Так, описаны полиморфизмы разных генов (IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, FNO-а, VDR, COL4A1, COL1A1, FcγRIIIb-NA1 и др.), ассоциированных с развитием АП, что противоречит данным других исследователей, отрицающим указанную взаимосвязь.

Литературные данные о распространенности, генетическом полиморфизме и патогенезе генерализованно-

го АП практически отсутствуют, что обусловлено с одной стороны клиническим полиморфизмом (выделяют генерализованный ювенильный и быстропрогрессирующий пародонтит), а с другой — недостаточностью исследований.

В настоящее время под нашим наблюдением находится 20 пациентов (13 женского и 7 мужского пола) в возрасте от 20 до 35 лет с диагнозом «генерализованный АП». Проведено анкетирование, анализ анамнестических, клинико-генеалогических, рентгенологических и молекулярно-бактериологических (PCR Real-Time) данных. Предварительные результаты свидетельствуют о генетической гетерогенности данной формы АП. Так, сегрегация и указание на аутомно-доминантный тип наследования заболевания выявлены только в половине семей, а в остальных получены данные в пользу мультифакторной природы патологии. Запланированы молекулярно-генетические исследования для выявления частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфных маркеров ряда генов, ассоциированных с состоянием клеточного иммунитета, микробного пейзажа и метаболизма костной ткани у больных с генерализованным АП.

ПНЕВМОНИЯ НЕДОНОШЕННЫХ, РОЖДЕННЫХ НА 22–34 НЕДЕЛЕ ГЕСТАЦИИ

А.С. Каракушикова, К.В. Рахимова, Г.М. Абдуллаева
Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова,
Алматы, Республика Казахстан

По данным клинико-эпидемиологических исследований, пневмония диагностируется у 0,5–1,0% новорожденных, у 10–15% недоношенных. На секции пневмонию выявляют у 20–32% умерших детей.

Наблюдали 29 недоношенных с пневмонией в возрасте 0–7 дней, рожденных на 22–34 неделе гестации, с массой тела от 977 г до 1363 г. Угнетение иммунологической реактивности организма ребенка явилось причиной реализации ранней внутриутробной (у 21 — 72,4%) и развития аспирационной (у 8 — 27,6%) пневмонии. У 27 (93,1%) детей пневмония протекала на фоне церебральной ишемии I и II степени, у 10 (34,5%) на фоне ВЖК I и II степени. Часто встречаемый симптомокомплекс: дыхательная недостаточность, интоксикация, физикальные изменения в легких, нарушения ритма и глубины дыхания, сочетание пневмонии с церебральной ишемией, СДР, кардиальными нарушениями, на фоне

ЗВУР, морфофункциональной незрелости и синдрома дезадаптации.

Проводилось изучение популяции клеток с фенотипическими маркерами CD3, CD4, CD8, CD16, CD25 и функционального состояния фагоцитарной системы. Соотношение CD4/CD8 в группе больных детей достоверно отличалось от значений группы, представленной к сравнению ($1,05 \pm 0,04$; $p < 0,05$). При анализе уровня лимфоцитов с фенотипом CD16+ было определено повышение содержания CD16+ в среднем на 14,7% от нормы с достоверным снижением лимфоцитов, экспрессирующих CD20+ рецепторы. В фагоцитарном звене иммунитета отмечается ослабление процессов фагоцитоза ($41,43 \pm 3,05\%$ против $59,71 \pm 2,04$ в контроле, $p < 0,01$), что говорит о несостоятельности фагоцитарной системы. Обнаружен полиморфизм генов цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-10.

ДЕФИЦИТ СИНАПТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В МОЗГЕ ТРАНСГЕННЫХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА *APP* ЧЕЛОВЕКА

Г.А. Кислик, Д.И. Родин, О.И. Большакова, С.В. Саранцева
Учреждение Российской академии наук Петербургский институт ядерной физики РАН,
г. Гатчина, Ленинградская область, e-mail: kislikgalina@hotmail.com

Болезнь Альцгеймера (БА) — прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, патоморфологическим признаком которого является дегенерация синапсов в коре и гиппокампе, которое предшествует амилоидозу и нейродегенерации и коррелирует с нарушением памяти в ранней клинической фазе заболевания. Мутации в гене предшественника амилоида (*APP*) вызывают семейную форму БА и приводят к усилению секреции амилоид-бета-протеина (А β). Остается, однако, неясным, каким образом А β вовлечен в нарушение синапсов в отсутствие видимых амилоидных структур. Для понимания роли *APP* и А β в патогенезе БА мы экспрессировали *APP* дикого типа, его укороченные формы, а также мутантную форму *APP* — *APP-Swedish*, вызывающую семейную форму БА, в нервных клетках *Drosophila melanogaster*. Экспрессия *APP* или *APP-Swedish* вызывала умень-

шение содержания пресинаптических маркеров синаптоагмина (*synaptotagmin1*) и синаптобревина (*n-synaptobrevin*) в мозге *Drosophila*, прогрессирующую с возрастом нейродегенерацию и снижение способности к обучению и памяти. Эти нарушения наблюдались как при экспрессии *APP* или *APP-Swedish*, так и в двойных трансгенах при совместной экспрессии *APP* (*APP-Swedish*) и бета-секретазы человека, приводящей к секреции А β . Полученные результаты указывают, что нарушение синаптогенеза, когнитивных функций и нейродегенерация могут происходить в мозге *Drosophila* в отсутствие А β . Мы предполагаем, что нарушение клеточных функций *APP* и секреция А β вносят независимый вклад в патогенез БА.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00647.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОЧЕТАННОЙ ЭКСПРЕССИИ ОНКОПРОТЕИНОВ С-МУС И МР53 ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ НЕХОДЖКИНСКИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЛИМФОМ

И.Б. Ковынев, Т.И. Поспелова, Н.В. Скворцова, А.С. Лямкина, Е.Н. Воропаева,
О.В. Березина, Р.В. Тарновский

ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения и социального развития РФ, г. Новосибирск

Современный этап развития онкогематологии тесно связан с поиском ключевых белков туморогенеза и разработкой противоопухолевых препаратов, использующих эти протеины в качестве мишеней. Канцерогенез неходжкинских злокачественных лимфом (НХЗЛ) связан с протеинами, контролирующими пролиферацию и апоптоз лимфоидных клеток. К их числу относится белок р53 и онкопротеин с-тус.

Целью настоящей работы являлось изучение частоты встречаемости гиперэкспрессии протеина с-тус и мутантной формы р53 при НХЗЛ и определение взаимных корреляций этой экспрессии для обоих протеинов.

В исследование вошло 896 больных НХЗЛ. Был использован метод иммуноцитохимии с моноклональными антителами против антигена р53 (DO7) и против с-тус (9E1, ДАКО). Всего исследовано более 1200 мазков-отпечатков биопсированных лимфоузлов и пунктатов костного мозга.

В результате при агрессивных НХЗЛ был выявлен высокий уровень позитивных клеток, экспрессирующих мр53 и онкопротеин с-тус ($38,7 \pm 3,8\%$ и $40,4 \pm 5,4\%$ соответственно). Индолентные лимфомы демонстрировали умеренную экспрессию (мр53 — $14,6 \pm 2,8\%$, с-тус — $5,4 \pm 1,7\%$). При высокоагрессивных НХЗЛ экспрессия маркеров была максимальной ($67,8 \pm 2,6\%$ и $68,8 \pm 3,5\%$ соответственно). Индекс корреляции Пирсона между мр53 и с-тус оказался высоким и составил (+) 0,86.

Таким образом, выявлена высокая частота коэкспрессии мутантной формы р53 и с-тус. Данные исследования позволяют выделить эти маркеры в качестве возможных молекулярно-биологических мишеней для разработки новых препаратов для таргетной противоопухолевой терапии неходжкинских лимфом.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АНГИОТЕНЗИНОГЕНА M235T И КЛИНИЧЕСКИЕ, СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ИШЕМИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА

О.А. Краснова¹, М.Ю. Ситникова¹, С.Г. Иванов¹, В.И. Ларионова²

¹ ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова»

² Санкт-Петербургская медицинская педиатрическая академия, Санкт-Петербург

Цель исследования: выявить возможную ассоциацию полиморфизма гена ангиотензиногена (AGT) M235T с клиническими, структурно-функциональными показателями сердца у больных ХСН.

Материалы и методы: обследовано 105 мужчин в возрасте 59–78 лет с ХСН II–IIIФК ишемической этиологии давностью в среднем 3,5 года, фракцией выброса левого желудочка (ФВлж, Simpson) < 45%. Исходно всем лицам проводился подробный сбор клинико-лабораторных данных, показателей ЭХОКГ и суточного мониторирования ЭКГ. Анализ полиморфизма исследуемого гена осуществлялся методом ПДРФ. Статистический анализ результатов проводился с использованием критерия Манна–Уитни, при этом различия считались статистически достоверными на уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. Пациенты, имеющие генотип 235MM по гену AGT, составили 23% (25 человек), имеющие гетерозиготный генотип — 57% (60 человек), и генотип 235TT — 20% (20 человек). У обследованной группы больных взаимосвязи генотипа 235TT по гену AGT с наличием факторов риска ХСН (артериальной гипертензией (АГ), более высоким индексом массы тела (ИМТ), гиперхолестеринемией, гиперурикемией) не выявлено. Пациенты, имеющие генотип 235TT или 235MT, перенесли инфаркт миокарда (ИМ) в более раннем возрасте, чем больные носители генотипа 235MM (возраст 1-го инфаркта миокарда: $51,9 \pm 9,8$ года, $51,7 \pm 4,6$ года и $58,0 \pm 7,4$ года соответственно; $p < 0,05$). Больные, имеющие генотип 235MM, имели более высокий класс желудочковых нарушений ритма, чем больные, имеющие аллель 235T как в гомозиготном, так и в гете-

розигоном состоянии (желудочковая экстрасистолия (Lown) $4,0 \pm 0,5$ класса и $3,0 \pm 0,5$ класса соответственно; $p = 0,04$). Больные, имеющие генотип 235ММ или 235МТ, отличались большими конечно-систолическим и конечно-диастолическим размерами левого желудочка (КСД/КДД — $59,1 \pm 10/61,4 \pm 10$ мм и $54,7 \pm 10/55,7 \pm 10$ мм соответственно, $p = 0,03/p < 0,05$) и достоверно большим средним давлением в легочной артерии (СДЛА — $41,6 \pm 18$ и $28,3 \pm 11$ мм рт. ст. соответственно, $p = 0,02$), чем пациенты с генотипом 235ТТ. По другим структурно-функ-

циональным показателям сердца значимых различий не было выявлено.

Выводы. Установлена ассоциация генотипа 235ТТ по гену AGT с более ранним дебютом инфаркта миокарда у больных ХСН. В то же время, у больных, имеющих аллель 235М, зарегистрированы большие размеры левого желудочка, желудочковые нарушения ритма высоких градаций по сравнению с больными, имеющими аллель 235Т как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии, несмотря на равную давность и тяжесть ХСН.

ПОКАЗАТЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ И МЕТАБОЛИЗМ НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ТРОПОНИНА Т

А.А. Кратнов, Е.С. Углов, А.Е. Кратнов
Ярославская государственная медицинская академия

Показано, что биохимические маркеры воспаления повышаются у больных с острым коронарным синдромом (ОКС) и при нормальном значении тропонина Т.

Цель исследования — изучение маркеров воспаления и состояния метаболизма нейтрофилов (НФ) у больных с ОКС в зависимости от уровня тропонина Т при поступлении в стационар.

Материалы и методы. В исследование были включены 31 пациент с нестабильной стенокардией и 27 — с инфарктом миокарда (средний возраст $62,5 \pm 10$ лет). В крови определяли содержание фактора Виллебранда, интерлейкина 6, фактора некроза опухоли α , малонового диальдегида, проводили тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) с НФ, определение в клетках активности миелопероксидазы, каталазы, глутатионредуктазы. У 21 (58,3%) больного с ОКС уровень тропонина Т был менее 0,1 нг/мл. В течение года наблюдения у 11 (52,4%) пациентов с нормальным значением тропонина Т наблюдались повторные коронарные события.

Результаты и обсуждение

У больных с ОКС и нормальными значениями тропонина Т, у которых в течение года наблюдения развились повторные коронарные события, по сравнению с пациентами с благоприятным исходом были достоверно выше значения фактора Виллебранда ($3,9 \pm 1,6 > 2,3 \pm 0,8$ МЕ/мл; $p = 0,009$), стимулированного НСТ-теста ($134,1 \pm 17,1 > 100,9 \pm 12,3$ нмоль восст. НСТ; $p = 0,002$) и малонового диальдегида ($82,4 \pm 2,4 > 56,5 \pm 15,4$ мкмоль/л; $p = 0,01$). У больных с ОКС и нормальными значениями тропонина Т по данным кластерного анализа большей полнотой связи с развитием повторных коронарных событий обладал показатель стимулированного НСТ-теста с НФ.

Заключение. У больных с ОКС и нормальным уровнем тропонина Т при поступлении в стационар развитие повторных коронарных событий в течение года связано с эндотелиальной дисфункцией, ассоциирующейся с активацией кислородзависимого метаболизма НФ и процесса перекисного окисления липидов.

АССОЦИАЦИЯ ГЕНОТИПОВ *CollA1* С РАЗВИТИЕМ ФИБРОЗА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРОДУОДЕНИТЕ И СОПУТСТВУЮЩИМ КАРИЕСОМ У ДЕТЕЙ

Д.А. Кузьмина¹, М.В. Москаленко, М.М. Костик, С.В. Азанчевская, А.О. Сидоркин, Б.Т. Мороз, В.П. Новикова², В.И. Ларионова

¹ Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования

² Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

Коллаген 1-го типа входит в состав желудочно-кишечного тракта. Доказана взаимосвязь между заболеваниями желудочно-кишечного тракта и коллагенопатиями.

Цель исследования: изучить +12545GT полиморфизм *CollA1* у детей с патологией ЖКТ и сопутствующим кариесом.

Материалы и методы: обследовано 70 детей в возрасте 12–17 лет с хроническим гастродуоденитом, верифицированным морфологически. Из них 26 — с умеренным, 27 — с выраженным фиброзом стромы слизистой оболочки желудка и 16 — без фиброза. Проводилось исследование +12545GT полиморфизма *CollA1* методом ПЦР с рестрикционным анализом. У всех детей выявлена разная степень интенсивности кариеса.

Результаты

У обследованных детей с выраженным фиброзом стромы слизистой оболочки желудка по сравнению с пациентами без фиброза наиболее редко регистрируются генотипы SS (33,3% против 72%) и чаще — генотипы Ss (42,6% против 28%) и ss (24% против 0%), $\chi^2 = 20,11$, $p = 0,0004$, $C = 0,58$. Различий в частотах встречаемости

генотипов гена *CollA1* при умеренном фиброзе по сравнению с пациентами без фиброза не выявлено. Анализ результатов исследования показал, что ss генотип +12545GT полиморфизма *CollA1* обнаружен у 5 пациентов (7,5%) при декомпенсированной форме. Доля детей с Ss генотипом при декомпенсированной форме кариеса составила 53,7% против 28,3% при компенсированной форме ($p < 0,05$) и 11,9% у интактных ($p < 0,05$). Доля детей — носителей SS генотипа снижается пропорционально тяжести кариозного процесса ($p < 0,05$).

Вывод: у носителей s-аллеля, как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии имеются более выраженные изменения слизистой оболочки желудка в виде фиброза (24% и 42,6%), а также чаще встречается декомпенсированная форма кариеса (7,5% и 53,7%).

CD38 — МОЛЕКУЛА-МАРКЕР НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ ПАРКИНСОНИЗМЕ

Н.А. Малиновская, А.Б. Салмина, С.В. Прокопенко, Ю.А. Панина

ГОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, e-mail reg.kgmu@gmail.com

Цель исследования — изучение роли CD38 как маркера нейрон-глиальных взаимодействий при паркинсонизме.

Объект исследования — самцы белых беспородных крыс массой 300–500 г. Критерием включения в группы наблюдения являлось нормальное исходное состояние по шкале NSS. Экспериментальная ротеноновая модель паркинсонизма выполнялась по методике T.B. Sherer et al. (2003) с модификациями: ежедневное подкожное введение ротенона с растворителем экспериментальным ($n = 12$) крысам и только растворителя контрольным ($n = 10$) животным. На 30-е сутки моделирования паркинсонизма у всех животных забирали средний мозг для приготовления срезов. Детекция экспрессии CD38 и тирозингидроксилазы (ТГ) проводилась согласно стандартному протоколу последовательной иммуногистохимии. Статистический анализ включал определение нормальности распределения, ошибки среднего, тест Манна–Уитни.

Результаты. Наблюдалось резкое увеличение количества CD38+ клеток у контрольных крыс ($2,8 \pm 0,86$) в сравнении с экспериментальными ($12,5 \pm 2,36$, $p \leq 0,001$) при значимом снижении количества ТГ+ клеток у животных с паркинсонизмом ($22,2 \pm 2,82$ — контроль; $11,5 \pm 1,82$ — паркинсонизм, $p \leq 0,01$). Снижение количества дофамин-содержащих (ТГ+) нейронов является морфологическим подтверждением гибели нейронов substantia nigra у экспериментальных животных. Резкое увеличение количества CD38+ клеток может свидетельствовать о возможной роли CD38 в запуске повреждения и гибели дофаминергических нейронов и говорит об экспрессии этого белка в клетках нейроглии, что выявляет роль CD38 как маркера нейрон-глиальных взаимодействий при паркинсонизме.

Исследование выполнено при поддержке Международного благотворительного фонда SMCharity и внутривузовского гранта КрасГМУ.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МИШЕНИ HER2/NEU В ЛЕКАРСТВЕННОМ ЛЕЧЕНИИ ДИСSEМИНИРОВАННОГО РАКА ЖЕЛУДКА

Г.М. Манихас, Н.Ю. Антимоник, Н.П. Бемяк, Н.В. Жукова
СПБ ГУЗ «Городской клинический онкологический диспансер»

1. Цель работы — увеличение времени до прогрессирования у больных с диссеминованным раком желудка с введением в схему лечения трастузумаба.

2. Материалы, результаты

Пациентка ИНС 47 лет.

Клинический диагноз: Рак тела желудка IV ст. с метастазами в надключичные лимфоузлы слева, забрюшинные, висцеральные лимфоузлы, по плевре, по брюшине.

Гистологическое исследование: недифференцированный рак.

Осложнения заболевания: левосторонний гидроторакс, асцит, анемия 2 степени, болевой синдром 1–2 степени.

ИГХ/FISH исследование выявило гиперэкспрессию и амплификацию HER2/neu рецептора.

Пациентке с 07.09.06 г. начат первый курс химиотерапии в режиме трастузумаб, цисплатин, капецитабин, в последующем суммарно проведено 14 введений трастузумаба (в монорежиме в дозе 6 мг/кг веса внутривенно капельно 1 раз в 3 недели). На фоне проводимой терапии достигнут частичный регресс заболевания с регрессом на 77% (наилучший ответ зарегистрирован после восьмого введения трастузумаба).

3. Заключение. Время до прогрессирования заболевания на данной терапии составило 10 месяцев, что до-

стоверно выше среднего времени до прогрессирования на фоне стандартных режимов полихимиотерапии — 6 мес.

Общая выживаемость пациентки составила 22 месяца. (Медиана выживаемости в настоящее время составляет 8–10 месяцев.)

Полученные данные позволяют надеяться, что клиническое использование опухолевой биологии может стать ключевой технологией в лечении диссеминированного рака желудка. И, безусловно, все полученные результаты должны быть подтверждены в рамках многоцентровых рандомизированных исследований.

ОПЫТ ЛЕКАРСТВЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ ДИССЕМНИРОВАННОГО РАКА ЖЕЛУДКА С ВКЛЮЧЕНИЕМ ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОМ ГОРОДСКОМ ОНКОЛОГИЧЕСКОМ ДИСПАНСЕРЕ

Г.М. Манихас, Н.Ю. Антимоник, Н.П. Беляк
СПб ГУЗ «Городской клинический онкологический диспансер»

1. Цель работы — увеличение времени до прогрессирования у больных с диссеминированным раком желудка с введением в схему лечения таргетных препаратов.

2. Материалы, результаты

В группе пациентов (n = 19), получавших в качестве первой линии химиотерапии режим Авастин + Цисплатин + 100-часовая инфузия 5-фторурацила, частичный регресс был достигнут у 10 пациентов, что составляет 52,6% от исследуемой когорты пациентов, стабилизация зарегистрирована у 6 пациентов, что составляет 31,5% от исследуемой когорты.

Группа скрининга пациентов с диссеминированным раком желудка на наличие в опухолевой ткани гиперэкспрессии и амплификации HER2 рецептора набрана с целью анализа показаний для назначения трастузумаба — анти-HER2/neu моноклонального антитела, угнетающего активность рецептора. Нами проведено ИГХ/FISH исследование 64 образцов опухолевой ткани пациентов на предмет гиперэкспрессии HER2. Выявлено, что у 11 пациентов определяется гиперэкспрессия HER2,

что составляет 17,2% от общей численности обследованных.

3. Заключение

Несмотря на малочисленную группу пациентов с включением в схему лечения Авастина, в целом был сделан вывод, что комбинация цисплатина, бевацизумаба и 5-фторурацила обладает активностью при лечении рака желудка и желудочно-пищеводного перехода, а также приемлемым профилем безопасности. Желудочно-кишечное кровотечение не было зарегистрировано ни у одного пациента (в том числе и у пациентов с неудаленной опухолью желудка), а частота гематологической токсичности аналогична таковой, наблюдаемой при лечении 5-фторурацилом/цисплатином без бевацизумаба.

Определение амплификации HER2 в опухолевой ткани является целесообразным для выявления группы пациентов, лечение которых может быть оптимизировано путем добавления таргетного препарата трастузумаба.

АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ С3435Т ГЕНА МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ (MDR1), R130Q ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 13 (IL13), 590 С/Т IL4 — МАРКЕРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ (БА)

Ж.А. Миронова¹, В.И. Трофимов¹, М.В. Дубина², Е.Д. Янчина², М.А. Симакова¹, В.А. Белаш¹

¹ Кафедра госпитальной терапии им. акад. М.В. Черноруцкого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

² Отдел молекулярно-генетических технологий Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Цель исследования: оценить частоту встречаемости вариантов С3435Т гена MDR1, R130Q гена IL13, 590С/Т гена IL4 у больных БА.

Метод. Обследовано 105 астматиков: 57 пациентов с тяжелой БА и 48 больных средней степенью тяжести БА. Группу контроля составили 103 человека. Для генотипирования использовался метод ПЦР и рестрикционный анализ.

Результаты. Аллель 3435С гена MDR1 чаще встречался в группе больных тяжелой БА, $\chi^2 = 21,34$ ($p = 0,0001$), и средней степенью тяжести БА, $\chi^2 = 8,68$ ($p = 0,003$), по сравнению с группой контроля. Частота встречаемости генотипа СС гена MDR1 была больше у больных БА средней и тяжелой степени тяжести по

сравнению с группой контроля: $\chi^2 = 11,99$ ($p = 0,005$) и $\chi^2 = 10,58$ ($p = 0,001$). Генотип RR гена IL13 встречался у 42,86% больных тяжелой БА по сравнению с группой контроля 65,69%, $\chi^2 = 7,71$, $p = 0,005$. Благоприятное сочетание генотипов ТТ гена MDR1 + СС гена IL4 + RR гена IL13 встречалось реже у больных БА — 1,92%, по сравнению с группой контроля — 14,56%, $\chi^2 = 10,97$, $p = 0,001$.

Выводы. Нами впервые показана ассоциация вариантов С3435Т гена MDR1 с бронхиальной астмой. У больных БА благоприятное сочетание генотипов ТТ гена MDR1 + СС гена IL4 + RR гена IL13 встречалось реже по сравнению с группой контроля.

АНОМАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАРТИНЫ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОМНОЙ ДНК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ В-КЛЕТОЧНОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ: ГИБРИДИЗАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ НА ДНК-ЧИПАХ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Е.А. Москалёв^{1*}, И.А. Воробьёв², И.В. Буре³, А.А. Гладких², Е.А. Никитин², V. Beier¹, J.D. Hoheisel¹

¹ German Cancer Research Center, Germany, Heidelberg

² Гематологический научный центр РАМН, г. Москва

³ Воронежский государственный университет, г. Воронеж

* e-mail: moskalyov@mail.ru

Введение

Важнейшие свойства опухолевых клеток обусловлены аномальным функционированием онкогенных сигнальных путей. Аберрантное гиперметилирование СG-динуклеотидов CpG-островков промоторных областей генов-супрессоров в опухолях сопряжено с потерей экспрессии. Хронический В-клеточный лимфолейкоз (В-ХЛЛ) — наиболее распространенное лимфопролиферативное заболевание, однако характер и функциональная значимость метилирования ДНК в опухолевых В-клетках мало изучены. Целью работы является анализ картины метилирования 5'-областей (промотор, первый экзон) потенциально важных для онкогенеза генов при В-ХЛЛ и изучение функциональной роли аномальных эпигенетических изменений.

Материалы и методы

Исследованы образцы периферической крови 46 больных и 8 здоровых доноров, а также клеточные линии В-

ХЛЛ ЕНЕВ и МЕС-1. Деметилирование ДНК в клеточных линиях проводили с помощью 5-аза-дезоксцитидина. Характер метилирования отдельных СG-динуклеотидов анализируемых локусов изучали с помощью гибридизации обработанной бисульфитом ДНК с 17-21-нуклеотидными зондами на ДНК-чипе. Метилспецифичную ПЦР, бисульфитное секвенирование и пиросеквенирование проводили согласно ранее опубликованным методикам. Уровень экспрессии генов оценивали с помощью количественной ПЦР в реальном времени.

Результаты

Разработан метод масштабного анализа картины метилирования ДНК с помощью гибридизации на олигонуклеотидных чипах, позволяющий изучать характер метилирования 400–600 СG-динуклеотидов одновременно в нескольких биологических пробах в ходе одного эксперимента. При В-ХЛЛ выявлено аберрантное метилирование генов сигнального пути Wnt: *WIF1* (65%,

30/46 образцов), *DKK1* (50%, 23/46), *PYGO1* (86%, 19/22), *DACT1* (6%, 3/46), *DKK2* (3/7), *DKK3* (2/7); проапоптотических генов *APAF1* (4/10), *BAX* (3/10) и *RAD9A* (3/10); гена, контролирующего клеточный цикл, *UBE2C* (4/6), а также генов *BCL6* (6/6) и *FSCN1* (2/6). Рост клеточных линий В-ХЛЛ на среде с 2 мкМ 5-аза-дезоксцитидином в течение 72 часов приводил к снижению уровня метилирования исследуемых генов в среднем на 25%. По предварительным данным демети-

лирование генов-ингибиторов онкогенного сигнального пути Wnt *CDH1*, *SFRP2*, *SFRP3*, *SFRP4* сопровождается реактивацией их транскрипции, что позволяет предполагать эпигенетический механизм дерегуляции пути Wnt при В-ХЛЛ.

Исследование поддержано научно-исследовательской стипендией Германской службы академических обменов (DAAD) для молодых ученых.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ЧЕРТЫ РЕДКИХ ФОРМ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ

В.Ю. Никитин, И.А. Сухина, А.В. Новицкий, И.В. Ширина, А.М. Иванов, М.Г. Вершинина
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Введение. Острый эритромиелоз (вариант ОМЛ-М6) встречается в 3–4% случаев ОМЛ, а частота встречаемости острого мегакариобластного лейкоза (вариант ОМЛ-М7) составляет менее 1%. Иммунофенотипирование при ОМЛ-М6 проводят в сложных диагностических случаях для уточнения диагноза. Морфологический диагноз варианта ОМЛ-М7 затруднителен. Только иммунофенотипирование позволяет установить мегакариоцитарную дифференцировку бластов и провести дифференциальную диагностику с другими вариантами ОМЛ и острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ).

Цель. Установление диагноза и выявление иммунофенотипических особенностей М6 и М7 вариантов ОМЛ.

Материалы. Проведен иммунофенотипический анализ костного мозга у больных, имеющих предварительный диагноз острый миелоидный лейкоз.

Методы. Иммунофенотипирование клеток выполнено на проточном цитометре «Cytomics FC500» фирмы «Beckman Coulter», США. Используются следующие комбинации прямых моноклональных антител той же фирмы: CD45/CD14, IgG1/IgG2/CD45, CD5/CD7/CD45, CD10/CD20/CD45, CD34/CD117/CD45, CD13/CD33/CD45, CD16+56/CD45, CD3/CD19/CD45, HLA-DR/CD11b/CD45, HLA-DR/CD11c/CD45, CD65/CD4/CD45, CD36/CD2/CD45, CD61/CD235a, cyTdT, cyMPO.

Результаты. Особенности иммунофенотипа бластных клеток у больных острым эритромиелозом (ОМЛ-М6):

на опухолевых клетках, расположенных в бластном окне, наблюдалась высокая степень экспрессии эритроидного антигена CD235a (гликофорин А), что свидетельствовало об их эритробластной природе. На поверхности эритробластов также были обнаружены антигены CD36, CD13. У некоторых больных лейкозные клетки экспрессировали антиген CD16+56+. При преобладании в бластном гейте ранних эритроидных предшественников для эритробластов характерен иммунофенотип CD34+HLA-DR+CD38+CD71+. При этом возможна экспрессия CD7. В обследованных нами случаях маркеры ранней дифференцировки CD34, HLA-DR, CD38, а также CD7 на бластных клетках отсутствовали.

Бластные клетки в случаях ОМЛ-М7 экспрессировали тромбоцитарный антиген CD61 (или CD41a, CD42b). В большинстве случаев лейкозные клетки были позитивны по экспрессии миелоидных антигенов CD13, CD33, CD117. Отмечалась также экспрессия антигенов CD34, HLA-DR, CD38, CD7, CD71, CD11b. При варианте ОМЛ-М7 бластные клетки обычно негативны по экспрессии цитоплазматической МПО (cyMPO), что и наблюдалось в обследованных нами случаях. От ранних вариантов В-ОЛЛ этот вариант миелоидного острого лейкоза можно отличить на основании отсутствия экспрессии антигенов CD19 и CD10. Наличие гомогенной экспрессии тромбоцитарного антигена CD61 позволяет подтвердить окончательный диагноз варианта ОМЛ-М7.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ, АССОЦИИРОВАННЫЙ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЖЕЛУДКА КИШЕЧНОГО ТИПА

Д.Г. Новиков

ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия Росздрава,
г. Омск, e-mail: acarina@yandex.ru

К настоящему времени описаны ассоциации полиморфизма генов цитокинов с повышенным риском развития рака желудка. Однако они значительно варьируют в разных странах и этнических группах, что требует проведения отдельных исследований.

Цель исследования: выявить ассоциацию полиморфных аллелей генов интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-10 (IL-10) и фактора некроза опухолей- α (TNF- α) с риском развития рака желудка кишечного типа у населения юга Западной Сибири.

Материалы и методы: объектом исследования явилась венозная кровь 49 больных раком желудка кишечного типа, забранная за период с 01.08.2009 по 25.03.2010 г. в Омском областном клиническом онкологическом диспансере. Группу контроля составили 84 донора без отягощенного онкологического анамнеза. Определялось носительство следующих полиморфных аллелей IL-1 β C+3953T (rs1143634), TNF- α G-308A (rs1800629), IL-10 G-1082A (rs1800896). В исследуемых группах вычисля-

лось отношение шансов (OR) с доверительным интервалом (CI).

Результаты и обсуждение: исследуемая группа соответствовала равновесию Харди–Вайнберга только при оценке распространенности транзиции IL-10 G-1082A. Соотношение частот других полиморфных аллелей не соответствовало данному равновесию ввиду отсутствия в исследуемой группе лиц, гомозиготных по полиморфному аллелю. Было обнаружено, что носительство аллеля IL-10 1082A и гомозиготного по данному аллелю генотипа было ассоциировано с повышенным риском развития рака желудка кишечного типа (OR = 1,69; CI = 1,02–2,80; $p < 0,05$ и OR = 3,52; CI = 1,16–10,65; $p < 0,05$ соответственно).

Выводы: носительство аллеля IL-10 1082A и генотипа 1082A/A ассоциировано с повышенным риском развития рака желудка кишечного типа у населения юга Западной Сибири.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ В ДИАГНОСТИКЕ ХРОНИЧЕСКИХ В-ЛИМФОЦИТАРНЫХ ЛЕЙКОЗОВ/НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ

А.В. Новицкий, И.А. Сухина, В.Ю. Никитин, А.М. Иванов, М.И. Елисеева
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Введение. Проточная цитометрия является одним из самых важных и перспективных методов в диагностике лимфопролиферативных заболеваний (ЛПЗ). В настоящее время ещё не получено достаточно материала для принятия единых иммунофенотипических критериев в диагностике внутри данной группы заболеваний.

Цель: выявить иммунофенотипические особенности различных В-клеточных лимфоидных опухолей и провести дифференциальную диагностику внутри данной группы заболеваний.

Материалы и методы: обследован костный мозг 48 пациентов, имеющих предварительный диагноз хронический лейкоз/лимфома в фазе лейкемизации. Иммунофенотипирование клеток костного мозга выполнено на проточном цитометре «Cytomics FC500» фирмы «Beckman Coulter», США, с применением следующих комбинаций моноклональных антител той же фирмы: CD3/CD19/CD45, SmIg κ /SmIg λ /CD19, CD5/CD23/CD19, CD103/CD11c/CD19, FMC7/CD24/CD19,

CD22/CD79b/CD19, CD25/CD38/CD19, CD10/CD20/CD19, cyTdT/CD19.

Результаты: при иммунофенотипическом исследовании клеток костного мозга во всех случаях обнаружена высокая экспрессия CD19. У 37 пациентов наблюдалась выраженная экспрессия антигенов CD5 и CD23 на CD19 лимфоцитах, низкая плотность экспрессии легких к/ λ -цепей Ig на поверхности В-клеток, позитивность по CD24, CD25, слабая экспрессия CD20, CD22, CD79b и отсутствие экспрессии с маркерами CD103, FMC7 и CD11c, на основании чего был поставлен диагноз В-ХЛЛ. При В-ХЛЛ наличие экспрессии антигена CD38 более чем на 20% CD19⁺CD5⁺ клеток ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом течения заболевания, тогда как у других хронических лимфоидных опухолей такой ассоциации не наблюдалось. У 1 пациента при наличии высокой плотности поверхностной легкой к-цепи Ig и экспрессии CD5, CD20, CD22, CD24 окрашивание по антигенам FMC7 и CD11c также было позитивным, что позволило поставить иммунофенотипический диагноз —

В-ПЛЛ. В 4 случаях клетки костного мозга экспрессировали поверхностные легкие κ/λ -цепи Ig, CD20, CD22, CD25, CD103, CD11c, но не экспрессировали CD5, CD23 и CD24. Этим больным был поставлен диагноз ВКЛ. У 5 больных иммунофенотип характеризовался сильной или нормальной плотностью экспрессии легкой κ/λ -цепи Ig, был позитивен по CD20, CD22, CD24, FMC7 и негативен по CD5 и CD23, на основании чего был поставлен диагноз ЛСВЛ. У больной с ЛБ лимфоциты костного мозга, в отличие от других типов В-клеточных ЛПЗ, были высокопозитивны по CD10, а по сравнению с вариантами В-ОЛЛ были негативны по cyTdT . Опухолевые клетки ЛБ также экспрессировали поверхностную легкую κ -цепь Ig и CD20. В результате исследования для

большинства случаев были установлены характерные иммунофенотипические черты изученных форм ЛПЗ.

В-ХЛЛ: $\text{SmIg}_{\kappa/\lambda}^{\text{dim+}}/\text{CD19}^+/\text{CD5}^+/\text{CD23}^+/\text{CD20}^{\text{dim+}}/\text{CD22}^{\text{dim+}}/\text{CD79b}^{\text{dim+}}/\text{CD24}^+/\text{CD25}^+/\text{CD38}^{\pm}/\text{FMC7}^-/\text{CD103}^-/\text{CD11c}^-$;

В-ПЛЛ: $\text{SmIg}_{\kappa}^{\text{bright+}}/\text{CD19}^+/\text{CD5}^+/\text{CD23}^-/\text{CD20}^{\text{bright+}}/\text{CD22}^{\text{bright+}}/\text{CD24}^+/\text{FMC7}^+/\text{CD103}^-/\text{CD11c}^+$;

ВКЛ: $\text{SmIg}_{\kappa/\lambda}^+/\text{CD19}^+/\text{CD5}^-/\text{CD23}^-/\text{CD20}^{\text{bright+}}/\text{CD22}^{\text{bright+}}/\text{CD25}^+/\text{CD24}^-/\text{FMC7}^+/\text{CD103}^+/\text{CD11c}^+$;

ЛСВЛ: $\text{SmIg}_{\kappa/\lambda}^+/\text{CD19}^+/\text{CD5}^-/\text{CD23}^-/\text{CD20}^+/\text{CD22}^{\text{bright+}}/\text{CD24}^+/\text{FMC7}^+/\text{CD103}^-/\text{CD11c}^{\text{dim+}}$;

ЛБ: $\text{SmIg}_{\kappa}^+/\text{CD19}^+/\text{CD10}^+/\text{CD20}^+/\text{TdT}^-$.

УЧАСТИЕ АДФ-РИБОЗИЛЦИКЛАЗЫ В ДИСРЕГУЛЯЦИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОМ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ЦНС

О.С. Окунева, О.В. Фролова, А.В. Моргун, Н.А. Малиновская, А.Б. Салмина
ГОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет
имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого

Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации»,
г. Красноярск, e-mail: okunevaolesya@gmail.com

Обсуждается вклад общей и митохондриальной фракций АДФ-рибозилциклазы в дисрегуляцию метаболического сопряжения между клетками нейрональной и глиальной природы.

Моделирование перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС произведено по методу J. Rice (1981) ($n = 40$). Контроль составили ложнопериоперированные животные ($n = 20$). Лобная и затылочная области коры извлекались через 4, 72 часа после операции для приготовления гомогенатов и замороженных фиксированных срезов. Активность АДФ-рибозилциклазной активности измерялась флуориметрически, уровень внутриклеточного НАД⁺, лактата, активности глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАЗФДГ) — спектрофотометрически. Выделение митохондрий из ткани мозга осуществлялось с помощью Mitochondria isolation kit. У животных оценивали неврологический статус по шкале NSS. Регистрация апоптоза проводилась методом TUNEL.

Наиболее высокий уровень апоптоза клеток коры головного мозга коррелирует со степенью выраженности неврологической дисфункции и регистрируется через

72 часа после воздействия гипоксии/ишемии в затылочной области. Здесь же через 72 часа подавляется активность гликолиза: снижена активность фермента ГАЗФДГ, концентрация лактата, НАД⁺. Через 4 часа после операции в лобной доле повышается концентрация лактата и далее возвращается к исходному уровню через 72 часа. При этом общая активность АДФ-рибозилциклазы снижается в лобной и повышается в затылочной области коры головного мозга. В отношении митохондриальной фракции фермента регистрируются обратные данные, которые коррелируют с уровнем лактата ($r = \pm 0,8$, $p = 0,0005$).

Изменение энергетического гомеостаза в клетках головного мозга имеет регион-специфичный характер, коррелирует с изменением общей и митохондриальной активности АДФ-рибозилциклазы. Эти изменения приводят к дисрегуляции гликолиза, митохондриальной дисфункции, что определяет уровень НАД⁺ в клетках, их чувствительность к апоптогенному влиянию гипоксии и нарушению нейрон-астроцитарного челночного транспорта лактата.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СЕМЕЙНЫХ ФОРМАХ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

В.Г. Пинелис, Н.А. Березнева, О.Е. Громыко, А.Ю. Асанов

Научный центр здоровья детей РАМН, г. Москва

Гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) в настоящее время рассматриваются как гены-модификаторы, влияющие на выраженность гипертрофии миокарда у больных с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП).

Цель работы. Изучить полиморфизмы генов ангиотензиногена M235T, гена рецепторов ангиотензина II 1 типа у детей с семейной формой ГКМП, а также гена ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) у детей с ГКМП и их больных родственников.

Методы. Клинический, электрокардиографический, эхокардиографический, исследование полиморфизмов генов РААС с использованием биочипов.

Результаты. Семейная форма ГКМП выявлена у 23 больных детей (55% от всех больных с ГКМП). В 39%

семей заболевание у детей протекало более тяжело, чем у их родственников. DD-полиморфизм гена АПФ выявлен у 23% больных детей (у всех диагностирована обструктивная форма заболевания), ID — у 54%. Частота выявления D-аллеля у обследованных детей была выше, чем у их родственников с менее тяжелым течением заболевания. M235T полиморфизм гена ангиотензиногена исследован у 9 детей, 6 оказались гомозиготными по T-аллелю, 1 — гетерозиготой. При исследовании гена рецепторов ангиотензина II 1 типа ни один из обследованных нами детей с ГКМП не был гомозиготой по T-аллелю, 3 оказались гетерозиготами.

Исследование полиморфизмов генов РААС у детей с ГКМП важно для уточнения риска и прогноза заболевания.

ЭНТЕРОВИРУС, ИНФАРКТ МИОКАРДА И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ

В.Я. Плоткин, М.А. Тимошина, С.В. Азанчевская, Т.Э. Ивашенко, Н.Н. Хромов-Борисов

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, e-mail: plotkin38@gmail.com

Показано, что энтеровирусная инфекция принимает участие в патогенезе инфаркта миокарда (ИМ), способствует дисфункции эндотелия, развитию кардиогенного шока и разрыва миокарда. Наряду с этим энтеровирусная инфекция стимулирует образование фактора некроза опухоли альфа (TNFA), который вместе с энтеровирусами активирует синтез матриксных металлопротеиназ (MMP3 и MMP1). Однако мало известно о роли полиморфизма генов *TNFA*, *MMP3*, *MMP1* в развитии ИМ и его осложнений на фоне энтеровирусной инфекции.

Цель работы — определить роль полиморфизма генов *TNFA*, *MMP1*, *MMP3* в остром периоде инфаркта миокарда (ИМ) и его осложнений на фоне энтеровирусной инфекции.

Методы. Относительное количество антигенов энтеровирусов (ОКАЭВ) *Коксаки* В1–В6, *ЕCHO* 1–32, *Энтеро* 68–71 определялось в крови с помощью модифицированной реакции связывания комплемента у 208 пациентов с неосложненным и осложненным ИМ, в ткани миокарда (94 пациента) и коронарных артерий (24 пациента) пациентов с ИМ, умерших от кардиогенного шока и/или разрыва миокарда. Методом ПЦР-ПДРФ анализа исследованы полиморфизмы: $-238G > A$, $-308G > A$ гена *TNFA* (174 пациента с ИМ), $1G > 2G$ гена *MMP1* (97 пациентов с ИМ), $5G > 6G$ гена *MMP3* (89 па-

циентов с ИМ) в зависимости от наличия и отсутствия энтеровирусной инфекции и ИМ. Контрольная группа состояла из 211 человек.

Результаты. При сравнении частот полиморфизмов генов *TNFA*, *MMP1*, *MMP3* в зависимости от наличия и отсутствия энтеровирусной инфекции или ИМ оказалось, что заболеваемость ИМ практически не зависела от природного генетического полиморфизма в трех изученных генах-маркерах $1G > 2G$ (*MMP1*), $5A > 6A$ (*MMP3*) и $-238G > A$, за исключением $-308G > A$ (*TNFA*). Численности генотипов $G > G$, $G > A$ и $A > A$ полиморфизма $-308G > A$ (*TNFA*) у больных ИМ составляла соответственно 193, 14 и 4, а в контроле — 133, 38 и 3. Отклонение от равновесия Харди–Вайнберга (РХВ) было статистически незначимым в группе пациентов с ИМ и высоко значимым в контроле ($P = 0,51$ и $9 \cdot 10^{-4}$ соответственно). Распределения генотипов в этих группах были статистически высоко значимо неоднородны ($P = 3,5 \cdot 10^{-5}$). Сила связи («ассоциации») OR составляла 3,3 с границей точных 99%-х доверительных интервалов от 1,5 до 7,8. Вероятность того, что у носителя аллели «риска» возникнет ИМ, равнялась 0,008, с границей точных 99%-х доверительных интервалов от 0,002 до 0,021. Возможно, однако, что наблюдаемая статистически значимая связь между ИМ и наличием в генотипе пациента аллели *A* в гене *TNFA* может быть следствием высоко

значимого отклонения от РХВ в контрольной группе (вследствие избытка гомозигот G/G).

Выводы. Частоты полиморфных генов фактора некроза опухоли TNFA, матриксных протеиназ MMP1 и

MMP3 не связаны с наличием или отсутствием ИМ, энтеровирусной инфекции, наличием осложнений ИМ и прогнозом заболевания.

КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПУТЕМ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ В ГЕНЕ BRAF И ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Б.А. Понур, И.Г. Костенко, Т.В. Зубкова, С.А. Сильченко
Главный военный клинический центр — «ГВКГ», Киев

Ген BRAF (B-type Raf Kinase) локализован в 7-й хромосоме. Мутации в этом гене встречаются в 66% случаях при злокачественных меланом, немного реже при заболеваниях раком толстого кишечника и раком яичников. В гене BRAF дифференцировано более 40 мутаций. Наиболее распространена точечная мутация T1799A. Она приводит к замене аминокислоты в белке (тимидин заменяется на аденин в позиции нуклеотида 1799). Данная мутация составляет более 90% от всех мутаций, которые встречаются в гене BRAF, ко всему, это единственная мутация в этом гене, которая идентифицируется при раке щитовидной железы. В работах зарубежных авторов показано, что в 30–70% случаев при раке щитовидной железы встречалась данная мутация.

На сегодняшний день установление диагноза рака щитовидной железы проводится на основании цитогистологического заключения. После введения в практику метода тонкоигольной пункционной биопсии щитовидной железы в нашем госпитале (в 2005 г.) верифицируется характер изменений в щитовидной железе. Спектр

выявленной патологии щитовидной железы разнообразный: от тиреоидитов, кист до злокачественных опухолей. За год в пункционном материале от 40 больных в пяти случаях (12,5%) выявлена карцинома, что подтверждено гистологическим методом.

Помимо цитологических исследований мы использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью DPO-технологии (новая концепция олиго-технологии).

Нами в работе использовалась тест-система «Seeplex® BRAF V600E ACE Detection». По нашим данным, у больных с клиническим диагнозом «рак щитовидной железы» определялся мутантный ген BRAF в 63% случаев. Незначительное количество исследований на данный момент не позволяет сделать определенные выводы. В то же время уже имеющиеся данные заставляют нас продолжать эти исследования.

Таким образом, диагностика рака щитовидной железы становится высокодостоверной и менее трудоемкой процедурой.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФОРМЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

С.Н. Пчелина^{1, 2}, А.Ф. Якимовский², А.К. Емельянов^{1, 2}, О.Н. Иванова², Т.С. Усенко¹,
А.С. Дроздова¹, А.А. Шварцман¹

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Болезнь Паркинсона (БП) — второе по частоте встречаемости нейродегенеративное заболевание человека после болезни Альцгеймера. Частота встречаемости БП среди лиц старше 60 лет составляет 1–2%. Симптомокомплекс заболевания (тремор, ригидность, брадикинезия и нарушения позы) коррелирует с гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции мозга человека. Механизм нейродегенерации при БП остается неизвестным. В силу этого не существует нейропротекторных препаратов, способных остановить или замедлить процесс нейродегенерации, равно как диагностических тестов, позволяющих проводить дифференциальную диа-

гностику БП и выявлять заболевание на преклинической стадии. Одним из перспективных подходов к выяснению молекулярных механизмов нейродегенерации при БП является изучение моногенных форм заболевания. В настоящее время описано пять генов, мутации в которых приводят к развитию моногенных форм БП. Первые мутации описаны в гене альфа-синуклеина (SNCA). Наиболее распространенной причиной развития семейной БП являются мутации в гене обогащенной лейциновыми повторами киназы 2 (LRRK2). Мутации в гене паркина (PARK2) обнаруживаются при раннем начале заболевания. Нами проведен поиск молекулярной этио-

логии заболевания (поиск мутаций в генах *SNCA*, *PARK2*, *LRRK2*) среди 119 пациентов с семейной формой БП. Мутаций (точечных замен, мультипликаций) в гене *SNCA* не выявлено. Мутации в гене *PARK2* (точечные мутации, делеции экзонов в гетерозиготном состоянии) выявлены у двух пациентов с началом заболевания до 50 лет. Наиболее распространенной причиной развития БП явились мутации в гене *LRRK2*. Частота мутации G2019S *LRRK2* среди семейных форм БП составила 5% (6/119). В одной семье выявлена новая мутация V1613A.

Группа с *LRRK2*-ассоциированной БП (11 человек) была использована как однородная по этиологии заболевания для поиска возможных молекулярных маркеров развития БП, таких как экспрессия альфа-синуклеина и проапоптозных генов в лимфоцитах периферической крови. Выявленное изменение в уровне альфа-синуклеина и экспрессии гена *FAS* может отражать нарушения обменных и клеточных процессов при данной форме заболевания.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *DRD2* С ПОВЕДЕНЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ В ФОРМЕ АЛКОГОЛИЗМА И СОЗАВИСИМОСТИ

Т.М. Рожнова, А.Ю. Асанов, М.Г. Аксёнова

В последние десятилетия наблюдается увеличение количества различных видов расстройств зависимого характера. При этом психические и поведенческие нарушения, характеризующиеся доминантой зависимости, составляют наименее разработанную в теоретическом плане и резистентную к терапии группу. Расстройство поведения, именуемое созависимостью и рассматриваемое, преимущественно, в контексте алкоголизма, в настоящее время представляет собой один из наименее изученных видов патологии и не имеет единой и точной дефиниции. Использование молекулярно-генетических методов исследования позволит более глубоко изучить этиопатогенетические механизмы этого вида расстройств.

Цель. Изучение ассоциации полиморфизма гена *DRD2* с алкоголизмом и созависимостью.

Результаты. Методом ПЦР было обследовано 270 человек из 3 групп изученных семей. Первую группу составили 30 мужчин, больных алкоголизмом, и 30 женщин, страдающих созависимостью и являющихся их женами; вторую группу — супруги из 30 семей нормальной выборки, здоровых в отношении изучаемых

патологий; в третью вошли 75 супружеских пар популяции.

Анализ частот генотипов в каждой из групп и сравнение их друг с другом выявили наличие значимых различий между выборкой из семей супругов больных алкоголизмом мужчин и нормативной группой. Частота генотипа A1/A2 у больных алкоголизмом (0,37) и их созависимых жен (0,43) достоверно выше, чем у супругов (по 0,10) нормативной группы ($p = 0,015$ для мужчин и $p = 0,004$ для женщин).

Результаты оценки распределения частот генотипов гена *DRD2* указывают на наличие связи между генотипом A1/A2 локуса TaqI A гена дофаминового рецептора (*DRD2*) и расстройствами аддиктивного характера в форме алкогольной зависимости и созависимости. Полученные в результате статистического анализа данные об отсутствии неслучайных различий ($p = 0,59$) в полиморфизме гена *DRD2* у больных алкоголизмом и страдающих созависимостью могут свидетельствовать о наличии единых этиопатогенетических механизмов изученных расстройств поведения, что имеет диагностическое и прогностическое значение.

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Н.М. Слозина, Е.Г. Неронова, И.В. Трофимова, О.А. Саблин

ФГУЗ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова»
МЧС России, Санкт-Петербург, e-mail: cytogen@arcerm.spb.ru

Регистрация первичных генетических изменений представляет собой способ ранней диагностики онкологических заболеваний и предраковых состояний. Методами молекулярной цитогенетики патологические клетки могут быть выявлены на столь ранних этапах, когда онкотрансформация еще не проявляется на цитологи-

ческом и гистологическом уровнях. Развитие новых молекулярно-генетических технологий открыло возможность анализа хромосомного комплекса клеток практически на любом материале (секционном, биопсийном и т. д.) и в кратчайшие сроки после получения материала. В настоящее время наибольшее распространение

получил метод флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

В нашем центре метод FISH применяется при обследовании и лечении различных категорий больных. Исследования проводятся в соответствии с международными стандартами качества. Нами производится FISH оценка статуса гена Her-2/neu с целью выбора адекватной терапии (в том числе препаратом Герцептин) при раке молочной железы. Накоплен большой фактический материал по применению метода FISH для первичной диагностики и для выявления рецидивов рака мочевого пузыря (UroVysion тест) [1]. Проведена апробация метода FISH применительно к диагностике онкопатологии желудочно-кишечного тракта (эзофагальный рак и дисплазии Барретта) [2]. Опробована применимость метода FISH для выявления меланомы, онкопатологии легких и бронхов, дифференциальной диагностики заболеваний цитовидной железы.

Мировой опыт, а также результаты нашей работы убедительно свидетельствуют о большом диагностическом потенциале молекулярно-цитогенетических тестов в клинической медицине: их применение способствует ранней диагностике, выбору адекватной терапии и прогнозу течения заболеваний.

Список литературы

1. Слозина Н.М., Никифоров А.М., Неронова Е.Г., Горелов С.И., Пулин И.Л. Молекулярно-цитогенетическая диагностика рака мочевого пузыря // Российский биомедицинский журнал Medline.ru 2007. — Ст. 26. — С. 268–282. <http://medline.ru/public/art/tom8>.

2. Слозина Н.М., Неронова Е.Г., Саблин О.А. Молекулярно-цитогенетический (FISH) анализ — новый диагностический метод в гастроэнтерологии // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. Научно-практический журнал. Материалы 10-го Юбилейного Славяно-балтийского научного форума «Санкт-Петербург-Гастро-2008». — № 2–3/200. — С. М3.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВАРИАНТОВ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА С МОНОЦИТОИДНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКОЙ

И.А. Сухина, В.Ю. Никитин, С.Н. Колюбаева, А.В. Новицкий
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Введение. Миеломонобластный (M4) и монобластный (M5) варианты острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) характеризуются полиморфным иммунофенотипом и экспрессируют антигены, свойственные гранулоцитарной и моноцитарной линиям, что затрудняет их диагностику. Известно, что различные типы опухолей имеют характерные клональные хромосомные аномалии. Выявление aberrантной экспрессии мембранных антигенов опухолевых клеток, а также поиск взаимосвязи между их иммунофенотипом и цитогенетическими аномалиями при M4, M5a и M5b является перспективным для совершенствования диагностики вариантов ОМЛ.

Материалы. Проведен ретроспективный анализ иммунофенотипического и цитогенетического исследований костного мозга у 14 больных ОМЛ-M4 и ОМЛ-M5 (FAB классификация). Окончательный диагноз ОМЛ-M4 был установлен у 4 (29%) пациентов, ОМЛ-M5b — у 9 (64%), ОМЛ-M5a — у 1 (7%). Средний возраст группы ОМЛ-M4 составил $30,3 \pm 5,5$ лет, а ОМЛ-M5b — $44,8 \pm 6,8$ лет.

Методы. Иммунофенотипирование клеток выполнено на проточном цитометре «Cytomics FC500» фирмы «Beckman Coulter», США. Использованы следующие комбинации прямых моноклональных антител той же фирмы: CD45/CD14, IgG1/IgG2/CD45, CD5/CD7/CD45, CD10/CD20/CD45, CD34/CD117/CD45, CD13/CD33/CD45, CD16+56/CD45, CD3/CD19/CD45, HLA-DR/CD11b/CD45, HLA-DR/CD11c/CD45, CD65/CD4/CD45, CD36/CD2/CD45, CD61/CD235a, cyTdT, cyMPO.

Цитогенетический анализ проведен с помощью стандартных методик.

Результаты. В результате исследования были установлены характерные иммунофенотипические черты изученных форм острого миелоидного лейкоза.

Для ОМЛ-M4: CD13⁺⁺⁺/ CD33⁺⁺⁺/ HLA-DR⁺⁺⁺/ CD56⁺/ CD4⁺/ CD34⁺⁺⁺/ CD117⁺⁺⁺/ cyMPO⁺⁺⁺/ CD14⁺/ CD11b⁺⁺⁺/ CD11c⁺⁺⁺/ CD36⁺⁺⁺/ CD65⁺⁺⁺;

для ОМЛ-M5b: CD13⁺⁺⁺/ CD33⁺⁺⁺/ HLA-DR⁺⁺⁺/ CD56⁺/ CD4⁺/ CD34^{+/-}/ CD117^{+/-}/ cyMPO⁺/ CD14⁺⁺/ CD11b⁺⁺⁺/ CD11c⁺⁺⁺/ CD36⁺⁺⁺/ CD65⁺⁺,

где (+/-) — 10–25% позитивных лейкозов; (+) — 25–70%; (++) — 70–90%; (+++) — 90–100% позитивных лейкозов.

Наиболее информативными для дифференциальной диагностики M4 и M5b вариантов острого миелоидного лейкоза оказались CD34, CD117, cyMPO (% позитивных бластов выше у варианта M4), CD11b, CD11c, CD36 (% позитивных бластов выше у варианта M5b).

Эозинофилия наблюдалась у 1 из 2 пациентов с *inv*(16) и у пациента с *t*(16; 16)(p13; q22).

При проточно-цитометрическом иммунофенотипировании клеток костного мозга у пациентов с ОМЛ-M4 и аномальными изменениями 16 хромосомы (*inv*(16)(p13; q22), *t*(16; 16)(p13; q22)) можно было выделить 2 популяции бластов с различной степенью дифференцировки. У пациента с M4 вариантом и делециями в 6-й и 7-й хромосоме лейкозные клетки располагались только в одной области, но экспрессировали как миелоидные, так и моноцитарные маркеры.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ПОЛИМОРФИЗМА А38G ГЕНА СС16 У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

В.С. Тихонова, А.Н. Войтович, Д.С. Коростовцев, В.И. Ларионова

Санкт-Петербургская государственная медицинская педиатрическая академия, Санкт-Петербург

Актуальность. Ген Clara cells 16 (СС16) ответственен за синтез противовоспалительного белка, который продуцируется клетками Clara, расположенными в дистальных отделах легких. В предыдущих исследованиях было обнаружено, что у людей, страдающих бронхиальной астмой (БА), концентрация белка СС16 была существенно ниже, чем у здоровых людей. По данным литературы, полиморфизм А38G гена СС16 взаимосвязан с риском возникновения БА.

Цель исследования. Сравнительный анализ распределения генотипов и аллелей полиморфизма А38G гена СС16 у детей с БА различной степени тяжести и практически здоровых детей.

Пациенты и методы. Группа наблюдения состояла из 136 детей с легкой БА (мальчики — 70, девочки — 10) и тяжелой неконтролируемой БА (мальчики — 41, девочки — 15) в возрасте 2–17 лет (средний возраст — 12,7 лет). Группа контроля состояла из 127 практически здоровых детей (мальчики — 67 и девочки — 47) в возрасте 4–17 лет (средний возраст — 12,5 лет). Анализ полиморфизма А38G гена СС16 проводили методом

ПЦР-ПДРФ (Laing et al., 1998). Статистическую значимость различий в распределениях генотипов между группами определяли с помощью теста Хи-квадрат, различия принимали за достоверные для $p < 0,05$.

Результаты. Распределение генотипов и аллелей полиморфизма А38G в группе наблюдения не отличалось от их распределения в группе контроля. При сравнении распределения генотипов и аллелей внутри групп: легкая БА — тяжелая неконтролируемая БА; легкая БА — группа контроля; тяжелая неконтролируемая БА — группы контроля, достоверных различий выявлено не было. Тем не менее, частота гетерозигот АG среди девочек с БА отличалась от здоровых девочек из группы контроля (72% vs 43%, $\chi^2 = 7,528$, $p = 0,023$, OR = 1,5 95% CI = 1,17–1,95). Кроме того, в группе сравнения девочки с БА против мальчиков с БА частота гетерозигот АG также была достоверно выше у девочек с БА (72% vs 44%, $\chi^2 = 8,414$, $p = 0,015$, OR = 1,5 95% CI = 1,23–1,89).

Выводы. Таким образом, анализ полученных результатов требует дальнейшего изучения значимости полиморфизма А38G гена СС16 в развитии БА у детей.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ IN SITU В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

М.А. Травин, Т.А. Агеева, Е.Г. Тошкая

Региональный центр высоких медицинских технологий, г. Новосибирск, e-mail: gema@hmt.ru

В настоящее время методы исследования молекулярно-генетических основ канцерогенеза прочно входят в практическую медицину. Первые попытки локализации и визуализации генетических последовательностей и участков генов предпринимались в 60–70-х годах прошлого века с помощью меченных радиоактивными изотопами нуклеотидных последовательностей. Однако данная методика была очень громоздкой и опасной для здоровья. Но уже к середине 1980-х был разработан принцип маркировки фиксированного (in situ) субстрата с помощью специфических ДНК-зондов, меченных флуоресцентными красителями. Данная цитогенетическая техника сначала использовалась для решения исследовательских задач, а впоследствии прочно вошла в практическую медицину.

Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH-метод) позволила перейти от изучения морфологии хромосом к анализу последовательностей ДНК как на цитологических, так и на гистологических препаратах. При этом

длина выявляемых последовательностей может быть чрезвычайно мала — от нескольких десятков килобайт, что позволяет считать данный метод высокочувствительным и высокоспецифичным.

В настоящее время FISH-метод широко используется в практической онкологии для выявления генетических аномалий у широкого спектра опухолей, у которых доказана связь с цитогенетическими нарушениями. На базе лаборатории АНО «РЦ ВМТ» создан диагностический комплекс с использованием FISH-метода, проводятся цитогенетические исследования при таких заболеваниях как хронический миелолейкоз (транслокация (9;22)(q34;q11)), фолликулярная лимфома (транслокация (14;18)(q32;q21)), лимфома Беркитта (транслокация (8;14)(q24;q32)), лимфома зоны мангии (транслокация (11;14)(q13;q32)) и ряд других. Также FISH-метод имеет ключевое значение в диагностике солидных опухолей человека, в которых наблюдается амплификация генов, что является «золотым стандар-

том» для назначения таргетной терапии (амплификация Her2/neu при раке молочной железы), и для прогноза заболевания (амплификация N-тус в нейробластомах).

Таким образом, флуоресцентная гибридизация *in situ* является современным и востребованным диагностическим методом в практической медицине.

СОЧЕТАНИЕ МУТАЦИЙ ГЕНА P53 И МЕТИЛИРОВАНИЯ MGMT ПРИ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ

Б.В. Холодов¹, А.С. Белохвостов¹, В.В. Шахтарин¹, Е.Г. Суворова¹, О.В. Горичева¹, А.А. Абрамов¹, А.Р. Зарещкий¹, Е.М. Тарасова¹, С.К. Горельшев², Л.В. Шишкина², А.Г. Притыко¹

¹ НПЦ мед. помощи детям ДЗ г. Москвы

² НИИ НХ им. Н.Н. Бурденко РАМН

Исследования последних лет показывают ярко выраженную зависимость степени ответа опухоли на химиотерапию от статуса ряда генов, в частности метилирования промотора гена MGMT (Stupp et al., 2009; Balana et al., 2003; Silvani et al., 2009; Augustine et al., 2009) и мутационного статуса гена *p53* (Srivenugopal et al., 2001; Daring et al., 2007; Ross and Kaina, 2007).

Изучены мутации гена *p53* и метилирование промотора гена MGMT у 23 детей с глиальными опухолями головного мозга. Методом SSCP и секвенирования были изучены, как наиболее информативные, 5–8 экзоны гена *p53* (GeneAma PCR System 9700, ABI Prism 3130xl). Метилирование промотора гена MGMT исследовали методом метилчувствительной реакции с последующим секвенированием.

Методом SSCP найдено 9 мутаций в исследуемых экзонах гена *p53*, в том числе в 5 экзоне в двух случаях, в 6 экзоне — в двух случаях, в 7 экзоне — в двух случаях и в 8 экзоне в трех случаях. При секвенировании 5–8 экзонов у всех обследуемых больных было установлено 8 мутаций: в 7 случаях установлена миссен-мутация,

в одном случае — стоп-кодон и в одном случае — молчащая мутация. Метилирование промотора гена MGMT установлено у обследуемых больных в 9 случаях.

У обследованных больных наблюдаются следующие сочетания генетических изменений гена *p53* и MGMT:

- мутация гена *p53* и метилирование MGMT — 5 (22%) случаев;
- мутация гена *p53* и неметилированный MGMT — 3 (13%) случая;
- метилированный MGMT с геном *p53* дикого типа в 3 случаях, с учетом незначимой мутации гена *p53* у одного больного, к данной группе относятся 4 (17%) случая;
- неметилированный MGMT и ген *p53* дикого типа — 11 (48%) случаев.

Таким образом, имеются существенные основания для клинического исследования сравнительной эффективности различных схем адьювантной химиолучевой терапии при первичной глиобластоме у пациентов (как взрослых, так и детей) с различным статусом генов *p53* и MGMT.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ECNOS 4A/4B, PON1 Q191R, EDN1 LYS198ASN, ABCA1 C69T У ЖЕНЩИН С КАРДИАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ X И С АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

В.С. Феоктистова, М.Г. Колесниченко, И.А. Леонова, С.А. Болдуева, О.В. Сироткина
СПБГМА им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, e-mail: lerissima@yandex.ru

Клиническая симптоматика ИБС у женщин не всегда определяется наличием и степенью выраженности атеросклероза коронарных артерий, как в случае «кардиального синдрома X». Однако независимо от формы ИБС ведущее место в патофизиологии заболевания отводится эндотелиальной дисфункции. Генетические варианты *ecNOS 4a/4b*, *PON1 Q191R*, *EDN1 Lys198Asn*, *ABCA1 C69T* могут быть задействованы в данном процессе.

Цель исследования: анализ распределения частот аллелей и генотипов генов *ecNOS 4a/4b*, *PON1 Q191R*, *EDN1 Lys198Asn*, *ABCA1 C69T* среди женщин с «кардиальным синдромом X», женщин со значимым атеросклерозом коронарных артерий и женщин соответствующей возрастной группы без клинических проявлений ИБС.

Материалы и методы: исследование генетических вариантов *ecNOS 4a/4b*, *PON1 Q191R*, *EDN1 Lys198Asn*,

ABCA1 C69T выполнено методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом у 135 женщин, из них 12 — с диагнозом «кардиальный синдром X» (53 ± 1 год), 72 женщины (53 ± 1 год) со значимым атеросклерозом коронарных артерий, верифицированным коронарографией, и 51 женщина (50 ± 1 год) без клинических проявлений ИБС.

Результаты: у женщин со значимым атеросклерозом коронарных артерий выявлено следующее распределение *e*NOS — 52, 44 и 4%, в группе с «кардиальным синдромом X» — 92, 8 и 0%, в группе контроля — 66, 32 и 2% для 4b4b, 4a4b и 4a4a генотипов соответственно. При этом отмечалась тенденция к накоплению мутантного аллеля 4a гена *e*NOS у женщин с атеросклеротическим поражением коронарных артерий по сравнению с «кардиальным синдромом X» ($p = 0,08$) и контрольной группой ($p = 0,08$). Кроме того, обнаружено статистически значимое увеличение частоты встречаемости аллеля 4a в группе женщин с атеросклеротическим поражением коронарных артерий и сохраненной менструальной функцией — 36 и 64% для 4b4b и 4a4b+4a4a генотипов *e*NOS в сравнении с контрольной группой — 66% и 34% для 4b4b, 4a4b и 4a4a, соответственно ($p = 0,02$).

В исследуемых группах для Q191R гена PON1 и C69T гена ABCA1 достоверных различий найдено не было. При анализе EDN1 выявлено следующее распределение генотипов: в группе со значимым атеросклерозом коронарных артерий — 70, 25 и 5%, с «кардиальным синдромом X» — 8, 75 и 17%, в контрольной группе — 51, 47 и 2% для генотипов LysLys, LysAsn и AsnAsn соответственно. Было обнаружено статистически значимое увеличение частоты встречаемости мутантного аллеля Asn гена EDN1 (в гетеро- и гомозиготном состоянии) в группе женщин с «кардиальным синдромом X» в сравнении с группой женщин со значимым атеросклерозом коронарных артерий ($p = 0,001$) и контрольной группой ($p = 0,007$).

Выводы: полиморфный маркер 4a/4b *e*NOS может быть задействован в процессе развития атеросклероза коронарных артерий у женщин на фоне сохраненной менструальной функции. Также из проведенного исследования следует, что полиморфный маркер Lys198Asn EDN1 ассоциирован с развитием у женщин «кардиального синдрома X», мультифакториального по своей природе заболевания.

ЧАСТОТА РЕДКИХ АЛЛЕЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ОТЯГОЩЕННЫМ СЕМЕЙНЫМ АНАМНЕЗОМ ПО РАННЕМУ РАЗВИТИЮ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ (ССЗ)

А.П. Хмырова¹, А.Н. Войтович¹, М.А. Богданова¹, О.А. Кононова¹, Л.О. Любашева¹, Т.С. Разоренова², В.И. Ларионова¹

¹ Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

² Военно-медицинский музей при Военно-медицинской академии, Санкт-Петербург

Изучена частота полиморфных вариантов генов 4a4b *e*NOS, I/D *ACE*, W64R *ADRB3*, Q/E27 и G/R16 *ADRB2*, G-75A и C+83T *ApoA1*, Sst *ApoC3*, S19W и T-1131C *ApoA5*, $\epsilon 2/\epsilon/3\epsilon$ 4 *ApoE* среди детей и подростков, имеющих родственников I–II степеней родства, страдающих ССЗ, такими как артериальная гипертензия (АГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), инфаркты миокарда, мозговые инсульты.

Обследовано 100 человек в возрасте от 5 до 17 лет, 68 мальчиков и 32 девочки, имеющих один или несколько конституциональных факторов риска раннего развития атеросклероза (ожирение, дислипидемия, АГ). Популяционную выборку для изучения распределения полиморфных вариантов изученных генов составили 145 детей и подростков, 73 мальчика и 72 девочки сопоставимого возраста.

Методы. Молекулярно-генетическое тестирование 4a4b гена *e*NOS, I/D гена *ACE* проводилось методом PCR. Полиморфизм G-75A, C+83T гена *ApoA1*, SstI гена *ApoC3*, S19W, T-1131C гена *ApoA5*, $\epsilon 2/\epsilon/3\epsilon$ 4 гена *ApoE*,

W64R гена *ADRB3*, Q/E27, G/R16 гена *ADRB2* определяли с помощью PCR-RFLP метода.

Результаты. Анализ распределения аллелей исследованных генов в основной группе и популяционной выборке выявил достоверные различия лишь по Q/E27 гена *ADRB2*. Носители аллеля Q27 встречались чаще в основной группе — 57% против 44% соответственно ($p = 0,02$).

Распределение сочетаний реже встречающихся аллелей: 4a *e*NOS, I *ACE*, R64 *ADRB3*, Q27 и R16 *ADRB2*, A-75 и T83 *ApoA1*, S2 *ApoC3*, W19 и C-1131 *ApoA5*, $\epsilon 2$ и $\epsilon 4$ *ApoE*, в двух группах оказалось следующим. Носительство одного «редкого» аллеля обнаружено у 2% из основной группы против 18% популяционной выборки ($p < 0,001$). Сочетание двух «редких» аллелей выявлено у 17% основной группы против 22% популяционной выборки ($p = 0,417$). Носителями трех «редких» аллелей были 29 и 25% ($p = 0,647$), четырех — 26 и 15% ($p = 0,053$), пяти — 13 и 6% ($p = 0,109$), шести — 12 и 4% ($p = 0,039$), семи — 1 и 0%, восьми — 0 и 1% детей и подростков

из основной группы и популяционной выборки соответственно. Сочетания более восьми редких аллелей не обнаружено. У 9% человек из популяционной выборки в генотипе не было обнаружено ни одного редкого аллеля из исследованных нами генов.

Анализ частоты в зависимости от количества «редких» аллелей в генотипе выявил достоверные различия между обследованными группами. Комбинации, имеющие один-два «редких» аллеля, достоверно чаще выявлены в популяционной выборке, тогда как комбинации

из трех-шести «редких» аллелей достоверно чаще встречались в основной группе ($p < 0,001$).

Выводы. Частота аллелей исследованных генов в основной группе и популяционной выборке достоверно различалась лишь по Q/E27 гена *ADRB2*. Комбинацию из трех-шести «редких» аллелей изученных нами генов среди детей и подростков можно рассматривать в качестве дополнительного критерия риска раннего развития атеросклероза.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАССЕЯННОМУ СКЛЕРОЗУ

А.Н. Хусаинова¹, Т.Р. Насибуллин¹, И.А. Туктарова¹, О.В. Запыхова²,
К.З. Бахтиярова², О.Е. Мустафина¹

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа, e-mail alazbuav@mail.ru

² Башкирский государственный медицинский университет, кафедра неврологии, г.Уфа

Рассеянный склероз (РС) является мультифакторальным заболеванием, развитие которого обусловлено взаимодействием факторов внешней среды и наследственной предрасположенности, реализуемой полигенной системой, включающей особенности иммунного ответа и определенного типа метаболизма [3]. В настоящее время многие исследователи признают, что ведущее значение в развитии иммунопатологического процесса при РС имеет нарушение баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [1, 2]. Целью исследования было установление ассоциаций полиморфных маркеров генов цитокинов и их рецепторов с рассеянным склерозом в этнической группе русских республики Башкортостан.

В группу больных РС было отобрано 133 человека, неродственных между собой, с достоверным диагнозом по критериям McDonald. Группа сравнения была сформирована из 239 человек, неродственных между собой, без признаков РС и других неврологических заболеваний. Генотипирование выполняли с помощью полимеразной цепной реакции с последующей рестрикцией ампликонов.

Анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов цитокинов и их рецепторов с РС позволил выявить следующее: с повышенным риском развития РС связан у мужчин и у женщин генотип -572^*G^*G гена *IL6* (OR = 19,56 CI 2,58–148,12 и OR = 2,14 CI 1,06–4,32), у мужчин генотип 3653^*T^*T гена *IL1R1* (OR = 2,92 CI 1,17–7,3). У мужчин генотип -627^*C^*C гена *IL10* связан с пониженным риском развития РС (OR = 0,12 CI 0,02–0,89). Не выявлена связь РС со следующими полиморфными маркерами: $-511C/T$ и $3953C/T$ гена *IL1B*, $1159A/C$ гена *IL12*, $252A/G$ гена *LTA*. Таким образом, обнаружена ассоциация определенных генотипов исследованных генов с развитием РС.

1. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы. — СПб.: Гиппократ. — 1992. — 256 с.

2. Одинак М.М., Бисага Г.Н., Калинина Н.М. и др. Иммуногенетическая рестрикция цитокинов при рассеянном склерозе // Журн. неврол. и психиатр. — 2001. — Т. 101. — № 9. — С. 39–44.

3. Рассеянный склероз / Под ред. И.Д. Столярова, Б.А. Осетровой. — СПб.: ЭЛБИ-СПб. — 2002. — 176 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНА SCN1A ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКИХ ЭПИЛЕПСИЯХ

В.В. Шахтарин, О.В. Дрозд, Е.М. Рогожина, С.О. Айвазян, М.С. Бачманова, А.Г. Притыко
НПЦ медицинской помощи детям ДЗ г. Москвы

По литературным данным, мутации в гене *SCN1A* при синдроме Драве (тяжелая миоклоническая эпилепсия новорожденных) выявляются в 70–80% случаев, при генерализованной эпилепсии с фебрильными судорогами плюс (GEFS+) в 10–20% случаях, а также наблюда-

ются при синдроме Дузе и других типах идиопатических и криптогенных эпилепсий.

Исследование гена *SCN1A* проведено у 27 пациентов: по 2 пациента с GEFS+, детской абсансной эпилепсией и синдромом псевдо-Леннокса; по 3 с синдромами Дра-

ве и Дузе и 15 пациентов с криптогенной фокальной эпилепсией.

Ген SCN1A состоит из 26 экзонов. Для исследования выбраны 20 экзонов, в которых сосредоточены до 80% от всех описанных мутаций при синдроме Драве. Дизайн праймеров 5-го экзона гена SCN1A осуществлен таким образом, чтобы захватить далеко расположенный интронный полиморфизм rs3812718, для которого показана ассоциация с резистентностью к терапии карбамазепином. Протяженность 26-го экзона составляет 1178 нуклеотидов, и, чтобы прочесть его полную последовательность, он был разбит на 2 перекрывающиеся части. Определенную трудность в дизайн праймеров внесла высокая гомология экзонов гена SCN1A с другими генами натриевых каналов, вследствие этого праймеры на выбранные экзоны выбирались с условием несовпадения как мини-

мум 2 нуклеотидов с 3'-конца для каждого праймера. Двусторонний сиквенс каждого экзона выполнен на анализаторе Applied Biosystems ABI Prism 3130xl.

Методом прямого секвенирования 20 экзонов гена SCN1A обнаружены мутации A1891G, 552delT и G4262A у пациентов с криптогенной фокальной эпилепсией, синдромом Дузе и синдромом Драве соответственно, выявлен полиморфизм rs3812718, ассоциированный с резистентностью к терапии карбамазепином у 7 пациентов.

Результаты работы свидетельствуют о достаточно высокой информативности разработанной методики исследования гена SCN1A для диагностики синдромов Дузе и Драве, а также изучения причин фармакорезистентности.

СОЗДАНИЕ МИКРОПОР НА ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТАХ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В СТОМАТОЛОГИИ

А.И. Яременко¹, В.Н. Матина¹, Е.Г. Кривоуцкая¹, В.В. Кисленков², И.А. Кравцова¹,
К.И. Старковский¹

¹ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова,

² Санкт-Петербургский государственный политехнический университет,
Санкт-Петербург, e-mail: persicorum@mail.ru

Введение

В настоящее время наиболее часто для имплантатов в стоматологии используются изделия из титана. Однако, несмотря на биоинертность титана, не исключены случаи отторжения имплантатов. Присутствие условно-патогенной микрофлоры в полости рта добавляет риск развития воспалительных реакций к явлениям несовместимости имплантатов с тканями организма человека.

Цель

Создание микропор на изделиях из титана для улучшения остеоинтеграции на границе ткань–титан при введении в микропоры антибактериального препарата пролонгированного действия на основе хлоргексидина и метронидазола.

Материалы и методы

На дентальных имплантатах, титановых минирамках, минишурупах созданы сквозные микропоры различного диаметра с помощью метода порошковой металлургии. В просвет микропор при помощи давления 140 мм

рт. ст. введен разработанный антибактериальный препарат пролонгированного действия на основе хлоргексидина и метронидазола. Проведенные экспериментальные и клинические исследования доказали эффективность разработанной композиции. В настоящее время проводятся лабораторные исследования по изучению прочности сцепления антибактериального препарата с поверхностью титановых имплантатов.

Выводы

Разработан метод создания микропор, который позволил ввести антибактериальный препарат пролонгированного действия в изделия из титана.

Список литературы

1. Руководство по хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии / Под ред. В.М. Безрукова, Т.Г. Робустовой. — М.: Медицина, 2005.
2. Робустова Т.Г. Имплантация зубов. Хирургические аспекты. — М.: Медицина, 2003.
3. Петросян А.С. Порошковая металлургия и технология композиционных материалов, 2007.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ НЕЙТРОФИЛОВ У ДЕТЕЙ С АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ

Е.В. Бабунина, А.Е. Кратнов, О.В. Макина
Ярославская государственная медицинская академия

Абдоминальное ожирение признано маркером метаболического синдрома и фактором риска появления сахарного диабета типа 2 (СД) и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), в патогенезе которых показана важная роль окислительного стресса, в развитии которого принимают участие свободные радикалы кислорода, образуемые активированными нейтрофилами (НФ).

Цель исследования — изучение внутриклеточного метаболизма НФ у детей с абдоминальным ожирением.

Материалы и методы. Обследован 61 ребенок в возрасте от 6 до 17 лет. Рассчитывался индекс массы тела (ИМТ), проводилось измерение артериального давления, окружности талии, определение уровня глюкозы, липидов, инсулина, С-пептида, содержания липазы и кортизола в крови, высчитывался гомеостатический индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR). У 44 (72,1%) детей был диагностирован метаболический синдром, у 7 (11,8%) — ожирение III степени (индекс массы тела более 40 кг/м²). Использовался тест восста-

новления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) с НФ, определение в них активности миелопероксидазы, каталазы, глутатионредуктазы, пероксида водорода.

Результаты и обсуждение. У пациентов с крайней степенью ожирения наблюдались достоверно более высокие показатели глюкозы капиллярной крови ($5,5 \pm 1 > 4,5 \pm 10,7$ ммоль/л; $p = 0,004$), НОМА-IR ($5,5 \pm 12,9 > 3,3 \pm 11,7$ у.е.; $p = 0,01$), инсулина ($73,6 \pm 1114,5 > 29,6 \pm 124,3$ мкЕД/мл; $p = 0,04$) и С-пептида ($62,2 \pm 176 > 5,9 \pm 13,2$ нг/дл; $p = 0,002$) через 2 часа после еды. Увеличение риска развития СД и ССД у данных пациентов сопровождалось активацией мембранной НАДФ-оксидазой по данным НСТ-теста ($195,7 \pm 195,4 > 130,5 \pm 170,7$ нмоль восст. НСТ; $p = 0,04$) и снижением активности каталазы ($825,8 \pm 1213,3 < 1240,5 \pm 11056,3$ мкат/л; $p = 0,07$) в НФ.

Заключение. Ожирение III степени у детей, несущее угрозу развития СД и ССЗ, сопровождается активацией кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, т.е. опасностью развития окислительного стресса.

КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПЕРЕЛОМОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

В.А. Гук, А.К. Иорданишвили, Г.А. Рыжак

Изучена эффективность комплексного лечения переломов нижней челюсти у пациентов пожилого и старческого возраста, сочетающего применение минипластин, излучения низкоинтенсивного инфракрасного лазера и антибиотикотерапии с использованием препаратов, обладающих остеотропным действием, у 92 больных в возрасте от 60 до 83 лет. Контрольную группу составили 30 больных в возрасте от 60 до 79 лет, которым остеосинтез проводили костным швом. Для оценки степени эндотоксикоза и биохимической активности репаративного остеогенеза изучена динамика содержания в сыворотке крови щелочной фосфатазы, лимонной кислоты и «пула нуклеиновых кислот» на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки.

О благоприятном действии лазерного излучения на организм пациентов пожилого и старческого возраста

свидетельствуют показатели нормализации общей температурной реакции и гемодинамики, а также сроки улучшения общего состояния. Установлено, что у пациентов обеих сравниваемых групп исходные показатели температуры тела были от 36,3 °С до 38,7 °С, а пульс от 72 до 106 ударов в минуту. Нормализация этих показателей у больных, получавших лазеротерапию, происходила раньше, чем у пациентов контрольной группы. Субъективно эти больные отмечали улучшение общего состояния уже после 2 сеанса лазеротерапии. У больных основной группы отмечено нарастание содержания щелочной фосфатазы, лимонной кислоты и снижение «пула нуклеиновых кислот», что является объективным показателем активизации репаративной регенерации кости. Увеличение содержания лимонной кислоты в сыворотке крови является показателем мобилизации минераль-

ного обмена и синтеза коллагена в зоне перелома. В контрольной группе динамика этих показателей достоверно отличалась от показателей больных основной группы. При неблагоприятном течении патологического процесса (больные контрольной группы) отмечено нарастание «пула нуклеиновых кислот» в течение 7 дней после травмы, что свидетельствует о прогрессировании деструктивных процессов в кости.

Резюмируя изложенное, можно указать, что увеличение пула нуклеиновых кислот и снижение активности

щелочной фосфатазы и лимонной кислоты в динамике у больных с переломами нижней челюсти в процессе их лечения является неблагоприятным прогностическим признаком. Отдаленные результаты лечения показали, что комплексное лечение переломов нижней челюсти с применением минипластин и лазера у пациентов пожилого и старческого возраста позволило в 6 раз снизить количество послеоперационных осложнений.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА Q192R ГЕНА ПАРАОКСОНАЗЫ PON1 С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЛИПИДОГРАММЫ

А.Н. Колбасин, И.А. Урванцева, Н.А. Гильнич

Учреждение Ханты-Мансийского автономного округа

«Окружной кардиологический диспансер «Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии», г. Сургут, e-mail: salamatina@okd.ru

Цель: изучение ассоциации полиморфизма Q192R гена параоксоназы PON1 с показателями липидограммы у больных артериальной гипертензией (АГ) и сахарным диабетом (СД) 2 типа.

Материал и методы. В исследовании участвовало 82 пациента с диагнозом АГ I–II степени, средний возраст — $51,9 \pm 6,7$ лет. В 62,2% АГ сочеталась с СД 2 типа. длительность АГ — $11,3 \pm 2,7$ лет. Определяли: общий холестерин, триглицериды, холестерин липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), холестерин липопротеидов низкой плотности (ЛПНП). Экстракция ДНК проводилась с использованием набора реагентов «ДНК-сорб-Б». Полиморфизм Q192R гена PON1 исследован методом полимеразной цепной реакции на амплификаторе «Rotor Gene 3000».

Результаты. У больных АГ частота генотипа QQ составила 32,2%, RR — 16,2%, QR — 51,6%, у больных АГ и СД — 45,1, 29,4 и 25,5% соответственно. Выявлена ассоциация средних значений липидограммы с геноти-

пами исследуемого гена у пациентов с АГ и СД 2 типа: среди лиц с генотипом RR уровень общего холестерина был в 1,2 раза выше, чем у лиц с генотипом QQ и QR ($6,2 \pm 0,8$ ммоль/л против $5,2 \pm 0,7$ ммоль/л и $5,1 \pm 0,7$ ммоль/л, $p < 0,05$). ЛПНП у больных с генотипом RR в 1,2 раза превышали аналогичный показатель у лиц с QQ-генотипом и были равнозначны показателю у больных с QR-генотипом ($3,4 \pm 0,5$ ммоль/л против $2,9 \pm 0,1$ ммоль/л и $3,3 \pm 0,4$ ммоль/л соответственно, $p < 0,05$). Холестерин ЛПВП у обследованных больных с генотипом RR составил $1,0 \pm 0,08$ ммоль/л против $1,1 \pm 0,1$ ммоль/л у больных с QQ-генотипом ($p < 0,05$) и не отличался от данного показателя у гетерозигот ($1,0 \pm 0,4$ ммоль/л).

Заключение. У пациентов с АГ в сочетании с СД 2 типа генотип RR полиморфизма Q192R гена PON1 можно рассматривать как неблагоприятный в отношении развития атеросклероза.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИКИ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ И В ПЕТРОЗАВОДСКЕ

М.Ю. Мандельштам¹, А.С. Головина¹, Т.Ю. Комарова¹, Б.М. Липовецкий²,
В.О. Константинов³, В.А. Корнева⁴, А.Д. Денисенко¹, В.Б. Васильев¹

¹ Институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург,
e-mail: michail@MM13666.spb.edu

² Институт мозга РАН, Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург

⁴ Петрозаводский государственный университет, г. Петрозаводск

Исследования молекулярной природы семейной гиперхолестеринемии (СГ) в России выявили чрезвычайно высокий уровень гетерогенности заболевания, при котором почти в каждой семье обнаруживается своя собственная мутация гена рецептора липопротеинов низкой плотности. К сожалению, до последнего времени исследования молекулярной природы СГ были ограничены лишь тремя мегаполисами Санкт-Петербурга, Москвы и Новосибирска. В Санкт-Петербурге охарактеризовано 34 мутации гена рецептора липопротеинов низкой плотности. Предполагается, что начатое исследование семейной гиперхолестеринемии в популяции Петрозаводска и Карелии в целом позволит выявить новые этнически-специфичные для русского населения мутации. Первые результаты изучения СГ у жителей Петрозаводска показали, что в этой популяции, как и в

Санкт-Петербурге, не встречается мутация R3500Q в гене *APOB*. Также у больных СГ из Петрозаводска в гене рецептора липопротеинов низкой плотности не было выявлено финской мутации FH-North Karelia, найденной в одной из 43 семей с СГ Санкт-Петербурга, что говорит о преобладании славянского, а не собственно финно-карельского населения в Карелии. У двух из 20 пациентов с СГ из числа жителей Петрозаводска идентифицирована методом анализа конформационного полиморфизма однонитевых фрагментов ДНК однотипная мутация в третьем экзоне, которая в настоящее время секвенируется.

Финансирование исследований, составивших предмет настоящей обзорной статьи, осуществлялось частично из средств Российского Фонда фундаментальных исследований (РФФИ) (проект N 10-04-00563а).

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D И COL1A1 У МУЖЧИН С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ОСТЕОПАТИЯМИ

Н.М. Слозина, Е.Г. Неронова, И.В. Трофимова, О.А. Саблин

ФГУЗ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова»
МЧС России, Санкт-Петербург, cytogen@arcerm.spb.ru

Известно влияние факторов генетической предрасположенности на развитие остеопороза у женщин в менопаузальном периоде. Данные относительно вклада генетической компоненты в развитие остеопороза у мужчин не столь многочисленны и иногда противоречивы.

Целью настоящего исследования явилось выявление возможной связи генов коллагена COL1A1 и гена рецептора витамина D VDR3 с остеопорозом у мужчин в возрасте от 50 до 75 лет (ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС).

Обследовано 80 ликвидаторов мужского пола. Из них 52 человека — (65%) имели метаболические остеопатии: 38 (47,5%) страдали остеопеническим синдромом с потерей минеральной плотности кости от 10 до 20% и у 14 человек (17,5%) имелся остеопороз с потерей минеральной плотности кости от 20 до 46%. У 28 обследованных ликвидаторов (35%) метаболические остеопатии не выявлены.

В этих подгруппах изучены полиморфизмы гена COL1A1 (G-T 1546) и гена рецептора витамина D VDR-3 (Taq I и F/f). Сопоставление результатов генотипирования с данными клинического обследования не обнаружило какого-либо влияния полиморфизмов гена COL1A1 на формирование метаболических остеопатий. Вместе с тем, даже на относительно небольшой выборке больных показана тенденция связи полиморфизма F/f гена рецептора витамина D с развитием остеопороза: среди больных остеопорозом преобладал генотип ff (21,0% по сравнению с 3,7% у лиц без метаболических остеопатий), тогда как среди ликвидаторов, не страдающих остеопатиями, преобладал генотип FF (51,8%).

Результаты проведенной работы свидетельствуют о целесообразности дальнейших исследований в области изучения влияния полиморфизма гена рецептора витамина D на развитие метаболических остеопатий у мужчин.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ОСТЕОПОРОЗА КАК МИШЕНИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

О.В. Фаламеева, А.В. Графов, Ю.В. Храпова, Е.А. Куляев, М.М. Рзаев,
В.Т. Верхотурова, И.В. Плотникова, М.А. Садовой

ФГУ НИИ травматологии и ортопедии Росмедтехнологий, Новосибирск, Россия

В течение последних лет остеопороз рассматривается как одна из проблем медицины, имеющих важное социально-экономическое значение. Несмотря на то, что молекулярно-генетические механизмы нарушений накопления и потери костной плотности в разные возрастные периоды в настоящее время изучаются достаточно широко, многие процессы изучены недостаточно. Анализ литературных данных показывает, что в настоящее время при изучении различных выборок пациентов с остеопорозом выявлены достоверные ассоциации с кандидатными генами, участвующими в процессах костного метаболизма.

Целью настоящей работы являлось изучение роли генов-кандидатов в формировании генетической предрасположенности к остеопорозу у лиц обоего пола и оценка их взаимосвязи с показателями МПК и переломами разной локализации.

В работе проанализирован вклад полиморфизма генов рецептора эстрогена (ЕК), $\alpha 1$ -цепи коллагена 1 типа

(COL1A1), рецептора аполипопротеина E (ApoE), трансформирующего фактора роста (TGF), рецептора чувствительности к кальцию (CASR), семейства генов, необходимых для нормального роста кости, — CCN (WISP1, WISP2, WISP3), гена TNFRSF11B, кодирующего синтез рецептора остеопротегерина (OPG), гена TNFRSF11, ответственного за синтез белка RANKL, гена TNFRSF11A, кодирующего синтез самого рецептора RANKL, гена рецептора кальцитонина (CTR) 300 жителей г. Новосибирска обоего пола в возрасте от 50 до 75 лет. Определены ассоциации показателей относительного риска переломов у больных с аллельными полиморфизмами кандидатных генов и установлены их межгенные взаимодействия.

Таким образом, разработка новых отечественных конкурентоспособных на мировом рынке препаратов для лечения остеопороза на основе использования молекулярных мишеней весьма актуальна в настоящее время.

ОКИСЛИТЕЛЬНО-НИТРОЗИНОВЫЙ СТРЕСС И ЭНДОГЕННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ У БОЛЬНЫХ МУЛЬТИФОКАЛЬНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ В ПРЕД- И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДАХ БИФУРКАЦИОННОГО АОРТО-БЕДРЕННОГО ШУНТИРОВАНИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ АТОРВАСТАТИНОМ

Ю.В. Шукин, А.Н. Вачёв, Е.И. Селезнёв, Е.А. Медведева, Е.А. Суркова, В.А. Дьячков, О.Е. Абашина
ГОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет Росздрава», Самара,
e-mail: elena5583@mail.ru

Цель исследования. Оценить показатели окислительно-нитрозинового стресса (ОНТС) и эндогенного воспаления (ЭВ) у больных мультифокальным атеросклерозом (МА) при выполнении бифуркационного аорто-бедренного шунтирования (БАБШ) с предоперационной терапией аторвастатином (А).

Материалы и методы. Исследовано 130 больных МА, которым планировалось выполнение БАБШ. В 1 группу (гр.) включили 62 пациента, которым в течение 12 дней перед операцией назначался А в дозе 10 мг в сутки, а во 2 гр. — 68 пациентов, получавших 60 мг А. Контрольная группа — 36 человек без признаков МА. ОНТС оценивали по окисляемости ЛПНП (окЛПНП) и содержанию 3-нитротирозина (3-НТ) в крови. Маркером ЭВ являлся СРБ.

Результаты. ОкЛПНП и концентрация 3-НТ у пациентов обеих групп были достоверно повышены. После лечения у пациентов 2 гр. окЛПНП и 3-НТ снизились

соответственно на 18% ($p < 0,01$) и 23,5% ($p < 0,05$), у больных 1 гр. эти показатели изменялись недостоверно. Исходное содержание СРБ у больных обеих групп было достоверно повышено. Высокодозное лечение А привело к снижению СРБ на 38% ($p < 0,05$), у больных 1 гр. значимых изменений не выявлено. В 1 сутки после операции (ПО) у больных 1 гр. наблюдалась активация ОНТС на 68% ($p < 0,01$), увеличение СРБ на 205% ($p < 0,05$) по сравнению с предоперационным уровнем. Во 2 гр. окЛПНП и содержание 3-НТ возросли соответственно на 31% ($p < 0,05$) и 38% ($p < 0,05$). На 5–6 день ПО во 2 гр. показатели ОНТС и ЭВ снижались более значительно, чем у пациентов 1 гр.

Выводы. Активированные процессы ОНТС и ЭВ могут включаться в молекулярные механизмы развития ранних кардиальных осложнений ПО, коррекция которых возможна их ингибитором — А.

СПОРТИВНАЯ ГЕНЕТИКА

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ МИОГЕННОГО ФАКТОРА 6 И α -АКТИНИНА-3, ИХ АССОЦИАЦИЯ С ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ И СТРУКТУРОЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ЧЕЛОВЕКА

А.М. Дружевская, И.В. Астратенкова
Санкт-Петербург, e-mail: a.druzhevskaya@gmail.com

Генетические факторы наряду с эпигенетическими и средовыми играют важную роль в детерминации индивидуальных различий в проявлении физических качеств и адаптационных возможностях человека (Ahmetov, Rogozkin, 2009). Понимание важной роли миогенного фактора 6 (MYF6) и структурного белка α -актинина-3 (ACTN3) для формирования скелетных мышц и поддержания целостности мышечного аппарата у взрослого человека повлияло на выбор генов-кандидатов.

Цель настоящей работы заключалась в изучении ассоциации C964T полиморфизма гена MYF6 и R577X полиморфизма гена ACTN3 с физической активностью и структурой скелетных мышц человека.

Генотипирование образцов ДНК испытуемых проводили при помощи ПЦР, ПДРФ-анализа и ПААГ-электрофореза. Основная контрольная группа (КГ) состояла из 1197 человек, общая спортивная группа — из 942 спортсменов различных специализаций и квалификаций (от КМС до ЗМС). Выборка для исследования с помощью подхода «генотип–фенотип» насчитывала 784 человека; им проводили МРТ мышц бедра, гистоморфологический и иммуногистохимический анализ мышечной ткани.

Обнаружено, что частота ТТ-генотипа и Т-аллеля гена MYF6 выше в группе спортсменов, занимающихся видами спорта с преимущественным проявлением выносливости при сравнении с КГ (ТТ — 42,9% против 31,9%, $P = 0,044$; Т — 64,0% против 57,7%, $P = 0,07$). Частота ХХ-генотипа и Х-аллеля гена ACTN3 оказалась снижена в группе спортсменов, занимающихся скоростно-силовыми видами спорта, при сравнении с КГ (ХХ — 6,4% против 14,2%, $P < 0,0001$; Х — 33,3% против 38,7%, $P = 0,004$) и видами спорта на выносливость (ХХ — 5,7% против 14,2%, $P < 0,0001$; Х — 33,2% против 38,7%, $P = 0,0025$).

Выявлено, что носители ТТ-генотипа по MYF6 обладают большей площадью поперечного сечения мышц и мышечных волокон за счет преобладания медленных волокон. В результате силовой тренировки у носителей генотипа RR по ACTN3 имелась тенденция к более высокой степени гипертрофии отдельных мышц и быстрых мышечных волокон.

Список литературы

Ahmetov I.I., Rogozkin V.A. Genes, athlete status and training. An Overview // Med. Sport. Sci. — 2009: 54 (43–71).

ОЦЕНКА УЗКОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ И ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ТРЕНИРОВОЧНОГО ПРОЦЕССА У ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПОРТСМЕНОВ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОГРАММ

В.М. Егоров¹, О.С. Глотов², А.С. Глотов²

¹ РОО хоккейный клуб СКА Санкт-Петербург, Санкт-Петербург

² НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург,
e-mail: anglotov@mail.ru

Идентификация генетических маркеров, позволяющих прогнозировать развитие физических качеств человека, имеет большое значение для наиболее эффективного профессионального отбора в спорт и последующей индивидуализации тренировочного процесса.

До недавних пор ген ангиотензин-превращающего фермента (ACE) оставался основным генетическим «маркером спортивных результатов». Однако при тренировке высококвалифицированных спортсменов для учета адаптации к нагрузкам, расчета времени восстановления, выбора тактики на дистанции, а при наличии

патологии со стороны сердечно-сосудистой системы — схемы лечения без отстранения от соревновательной и тренировочной практики, требуется системный подход, подразумевающий изучение влияния на физическую активность полиморфизма не только этого гена, но и других генов этой системы и генов других систем.

В ходе исследования нами изучены несколько групп спортсменов: сборной России по велоспорту (трековая мужская сборная); сборной России по плаванию на открытой воде (данные предоставлены врачом сборной Ломазовой Е.В.); профессионального хоккейного клуба

(СКА СПб); дети с различной, по мнению тренера, перспективностью в спорте (СДЮШОР СКА по хоккею). Для оценки влияния генотипа на физическую работоспособность и возможность управления тренировочным процессом были учтены в динамике следующие параметры: АД, ЧСС, лактат и глюкоза крови при выполнении тестовых заданий, АлТ, АсТ, КФК, мочевины, тестостерон, кортизол, СТГ, ЭПО.

В результате проведенных пилотных исследований была прослежена связь генетической архитектуры (панели генов кардиоваскулярной системы, метаболизма углеводов) и спортивного фенотипа, которая позволяет проводить отбор в спорт, индивидуализировать трени-

ровочный процесс и программы восстановления атлетов. Предложен алгоритм оценки генетического тестирования для начинающих и профессиональных спортсменов.

Список литературы

1. Nazarov I.B., Woods D.R., Montgomery H.E., Shneider O.V., Kazakov V.I., Tomilin N.V., Rogozkin V.A. The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes // Eur. J. Hum. Genet., 2001. — V. 9. — P. 797–801.
2. Rogozkin V.A., Астратенкова И.В., Дружевская А.М., Федотовская О.Н. Гены-маркеры предрасположенности к скоростно-силовым видам спорта // Теория и практика физической культуры. — 2005. — № 1. — С. 2–4.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В СПОРТЕ — СТРАТЕГИЧЕСКОЕ НАПРАВЛЕНИЕ СПОРТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

П.И. Лидов

Федеральное медико-биологическое агентство, Москва, Федерация тенниса России,
e-mail: lidov2005@yandex.ru

В рамках программ «Теннис XXI века» и «Генетический паспорт спортсмена» для теннисистов детского возраста разработаны стандарты генетического тестирования показателей здоровья и спортивной предрасположенности. Комбинированный анализ результатов генетического тестирования и комплексного медицинского обследования (анкетирование, тестирование, лабораторная и инструментальная диагностика, консультации профильных специалистов) дает возможность изучать состояние основных анатомо-функциональных систем организма в настоящем и с определенной долей вероятности прогнозировать развитие ряда социально значимых болезней в будущем. Для тренерского состава и родителей разработаны формы заключений и рекомендаций по коррекции тренировочного процесса, изменению образа жизни, характера питания, схемы нутрицев-

тической поддержки. Предлагаемое стандартизированное обследование позволяет оптимизировать спортивный отбор, улучшить показатели здоровья, предотвратить необоснованное прекращение занятия теннисом и ускорить развитие программы «Генетический паспорт спортсмена», в связи с чем может рассматриваться как стратегическая модель будущего развития детской спортивной медицины.

Список литературы

1. Баранов В.С., Иващенко Т.Э., Глотов А.С., Баранова Е.В., Асеев М.В., Глотов О.С., Беспалова О.Н., Демин Г.С., Москаленко М.В., Швед Н.Ю. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В. С. Баранова. — СПб.: «Изд-во Н-Л», 2009. — 528 с.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ, И ПИТАНИЕ ЮНЫХ СПОРТСМЕНОВ

А.А. Топанова¹, Н.Д. Гольберг²

¹ Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, e-mail: topanova@mail.ru

² ФГУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физической культуры, Санкт-Петербург

Рациональное питание является важнейшим условием достижения спортивного успеха и сохранения здоровья спортсмена на протяжении всей спортивной карьеры.

Цель: разработать рекомендации по коррекции питания юных спортсменов для профилактики развития мультифакториальных заболеваний обмена веществ.

В обследовании принимали участие 232 спортсмена (15–19 лет) различных специализаций. Оценивали распределение полиморфизмов генов PPARA, PPARG, UCP2, UCP3, ACE, физическое развитие, биохимические параметры углеводного и липидного метаболизма, фактическое питание.

Результаты: у 42,6% спортсменов была выявлена дисгармоничность развития, 9,5% спортсменов имеют избыточный и 9,6% — недостаточный пищевой статус. При оценке фактического питания обнаружено нарушение режима питания, избыточная энергоценность рационов, нарушение соотношений потребления макро- и микронутриентов, недостаток потребления витаминов

и микроэлементов. Анализ распределения полиморфизмов генов показал, что 4,1% спортсменов имеют CC-генотип по гену PPARA; 69,7% — Pro/Pro по гену PPARG, 22% — Val/Val по гену UCP2, 6,6% — TT по гену UCP3, 24,9% — DD по гену ACE, 33,2% атлетов имеют различные сочетания от 2 до 4 генотипов «предрасположенности».

Был предложен комплекс рекомендаций по индивидуальной коррекции питания юных спортсменов с генетической предрасположенностью к нарушению метаболизма, который реализуется с применением компьютерной программы «Организация питания в ДЮСШ и УОР».

АССОЦИАЦИЯ А/Г ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МЫШЕЧНОЙ КРЕАТИНКИНАЗЫ (СКММ) С ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТЬЮ СПОРТСМЕНОВ

О.Н. Федотовская, И.В. Астратенкова

ФГУ Санкт-Петербургский НИИ физической культуры, Санкт-Петербург,

e-mail: o.fedotovska@mail.ru

Энергообеспечение мышечной деятельности напрямую определяет работоспособность спортсмена. После реализации в 2001 году проекта «Геном человека» поиск генов-маркеров, детерминирующих эффективность работы путей ресинтеза АТФ, является одним из приоритетных направлений спортивной генетики.

Во время интенсивных физических упражнений в скелетных мышцах работает креатинфосфокиназный механизм анаэробного ресинтеза АТФ, при котором происходит перефосфорилирование между креатинфосфатом и АДФ. Специфичная для скелетных мышц изоформа М креатинфосфокиназы кодируется геном СКММ (19q13.2). Показано, что А/Г полиморфизм гена СКММ связан с различным проявлением аэробных возможностей человека [1].

Цель исследования заключалась в выявлении ассоциации А/Г полиморфизма гена СКММ (**rs.8111989**) с физической работоспособностью спортсменов. **Методы** полимеразной цепной реакции и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов определен А/Г полиморфизм гена СКММ у 209 жителей Санкт-Петербурга и 170 профессиональных спортсменов, за-

нимающихся видами спорта на выносливость (академическая гребля, лыжные гонки, биатлон). С помощью эргоспирометрии у всех спортсменов определяли значения максимального потребления кислорода (МПК), порога анаэробного обмена (ПАНО) и критической мощности ($N_{крит.}$) при выполнении ступенчато возрастающей нагрузки на велоэргометре. У 27 спортсменов данные показатели измеряли до и после 4-месячной тренировки на выносливость.

Результаты. Впервые определены частоты встречаемости генотипов и аллелей гена СКММ у жителей Санкт-Петербурга и российских спортсменов. Результаты статистически не отличались в обследованных группах и от значений в Европейской популяции. Показатели МПК, ПАНО и $N_{крит.}$ были выше у спортсменов — носителей G-аллеля по сравнению с AA-гомозиготами ($P < 0,05$). Прирост МПК после тренировки на выносливость был больше у спортсменов с генотипом GG ($P < 0,01$). Таким образом, А/Г полиморфизм гена СКММ ассоциируется с физической работоспособностью спортсмена.

1. Zhou D.Q. et al., *BJSM*, 2006, N 40, pp. 988–991.

ЭТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ

THE IMPACT OF WHOLE GENOME TESTING ON LABORATORY SERVICES IN EUROPE

Ros Hastings

CEQA and UK NEQAS for Clinical Cytogenetics, Oxford

The application of the new genetic technologies that examine the human genome, such as array CGH and whole genome sequencing, will have an impact on both laboratories and clinical/medical genetic services. In order for patients to receive appropriate advice and genetic testing, there will be a need to discuss how best to re-structure the services logistically as well as determine the clinical utility of genetic testing. These new technologies will also have an impact on training, and the current training programmes may not be adequate for the implementation of these technologies. How will laboratories manage the increased workload and increased complexity of cases requiring extensive interpretation? Should there for example be a more inte-

grated Genetic lab or an integrated Pathology service? How reliable are the genetic results for sensitivity and predictive value? Should Clinical Genetic services inform patients and the public at large on pros and cons of testing and clinical utility? Should all genetic information be disclosed to the patient or should it be selective? Accreditation, self-regulation, evidence based medicine – where should they play a role in this new generation of technologies?

This talk explores the multiple implications of these new technologies, and discuss ways forward to improve and adapt the genetic services so that patients receive accurate and relevant information.

ПРОБЛЕМЫ МЕТРОЛОГИИ, СЕРТИФИКАЦИИ И СТАНДАРТИЗАЦИИ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

THE IMPORTANCE OF ACCREDITATION AND EQA TO ASSURE THE PROVISION OF A QUALITY GENETIC LABORATORY SERVICE IN EUROPE

Ros Hastings

CEQA and UK NEQAS for Clinical Cytogenetics, Oxford

The importance and implications of genetic tests place a heavy burden of responsibility on the services that perform them, to ensure that the results are correct.

The qualitative nature of genetic tests, the diversity of tests, the rapid evolution of knowledge and techniques, the necessity for individualized analyses and interpretation of test results, and various ethical, social, and legal issues related to the unique nature of genetic information are specific to genetics. Governmental and international organizations have therefore produced guidelines or regulations assuring the quality of testing in genetics.

Few diagnostic laboratories in Europe are accredited (ISO 15189) since it requires a major investment of effort and money and the benefits often only become evident after a long period of time. As a consequence of the Eurogentest Network the number of laboratories working towards accreditation is growing.

As laboratories become more aware of the need to become accredited, access to EQA (External Quality Assessment) schemes becomes crucial. EQA is educational and aims to improve and validate the overall quality of genetic service to the user. Regular EQA assessment compares laboratory performance against set standards and also allows comparison between laboratories. EQA also provides individual laboratory feedback and participants meetings so that the overall quality of the diagnostic genetic service will improve further.

EQA and accreditation will improve the quality management and provision of genetic services for the benefit of the patient. A regularly audited Quality Management System will minimise the error rate further.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

А.А. Алянский, О.В. Паина, Н.Е. Иванова, А.А. Головачёва, Б.В. Афанасьев

Введение. Для пациентов, нуждающихся в аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и не имеющих совместимого по генам системы главного комплекса гистосовместимости (HLA) родственного донора пациентов, проводится поиск и активация неродственного донора ГСК в международной базе данных, однако для 25–30% пациентов потенциальных доноров в Международной базе данных (BMDW) выявлено не было, что послужило подоплекой к проведению данного исследования.

Материалы и методы. Был проведен анализ распределения и относительной частоты встречаемости гаплотипов и отдельных генов HLA и I и II класса в локусах HLA-A*, -B*, -DRB1* в группе реципиентов, потенциальных доноров Международного регистра (BMDW) и потенциальных доноров локальной базы потенциальных

доноров СПбГМУ. HLA-типирование пациентов проводилось в лаборатории тканевого типирования ИДГиТ им. Р.М. Горбачёвой СПбГМУ методом SSP с использованием реактивов Protrans. Результаты: При определении частоты встречаемости отдельных генов и гаплотипов в анализируемых группах было выявлено, что российские доноры и реципиенты совпадают по частоте встречаемости отдельных гаплотипов (A26-B44; A03-B41; A30-B51; A02-B49; A33-B18; A11-B18; A26-B27; A24-B22; A23-B15; A03-B55; A03-B37; A31-B27; A26-B07). Этой тенденции не наблюдалось при сравнении с донорами, зарегистрированными в BMDW.

Выводы. Получены данные по распространенности вариантов высокополиморфных генов главного комплекса гистосовместимости на территории Российской Федерации.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ТРОМБОЗАМИ, У БОЛЬНЫХ С ОТЯГОЩЕННЫМ АНАМНЕЗОМ

О.В. Бердюгина

ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург,
e-mail: berolga73@rambler.ru

Известно, что существует генетическая предрасположенность индивидуума к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе к тромбозам. Установленным фактом является наследственная патология «ранних», рецидивирующих и нетипично локализованных тромбозов.

Целью данного исследования стало изучение генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии у больных с отягощенным анамнезом.

Материал и методы. Генетические полиморфизмы, ассоциированные с риском развития тромбофилии (FGB-455, F2 20210, F5 1691, SERPINE1-675, ITGA2, ITGB3 1565), изучали у больных с отягощенным анамнезом: наличием тромбоза глубоких вен, ишемического инсульта, присутствием тромботических проявлений у родственников первой линии в возрасте до 50 лет. Выделение ДНК проводили колоночным методом (реагенты фирмы «Protrans», Германия), амплификацию осуществляли с использованием наборов фирмы «ДНК-технология», Россия.

Результаты. Из 16 обследованных пациентов полиморфизмы, ассоциированные с риском развития тромбофилии, были выявлены у 15 больных. Из них ген FGB-455 G > A был обнаружен у 6 больных, т.е. в 38% случаев, ген F2 20210 G > A не был выявлен ни разу, ген F5 (Лейденовская мутация) 1691 G > A встретился у 1 больного, ген ингибитора активатора плазминогена SERPINE1-675 4G/5G был обнаружен у 13 больных, т.е. в 81% случаев. Гены тромбоцитарного звена гемостаза встречались у 16 пациентов: ген ITGA2 807 C/T у 11 больных, т.е. в 69% случаев, и у 5 больных ген ITGB3 1565 T > C, т.е. в 31% случаев.

Встречались следующие сочетания полиморфизмов: 2 полиморфизма — у трех больных (19%), 3 полиморфизма — у 7 больных (44%) и 4 полиморфизма — у 4 больных (25% пациентов).

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать вывод о необходимости дальнейшего изучения полиморфизмов в группе риска для определения прогностических возможностей их использования в клинической практике.

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PRDX5 В ПОПУЛЯЦИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

А.А. Василишина¹, А.Н. Войтович², О.А. Кононова², О.Н. Семенова³,
М.М. Шавловский¹, В.И. Ларионова²

¹ Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования

² Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

³ Лечебно-диагностический, реабилитационный и научный центр для жителей блокадного Ленинграда, Санкт-Петербург; e-mail: vasilishina.a@gmail.com

Пероксиредоксин 5 (PRDX5) — это внутриклеточный антиоксидантный фермент, преимущественно локализующийся в митохондриях. Он нейтрализует перекись водорода и другие пероксиды. Согласно свободнорадикальной теории старения, накопление окислительных повреждений, вызванных активными формами кислорода (АФК) и, главным образом, перекисью водорода, которая постоянно образуется как побочный продукт в электрон-транспортной цепи митохондрий, является причиной старения. Таким образом, PRDX5 может играть роль в процессе старения.

Целью данной работы является изучение связи полиморфизма гена PRDX5 со старением и продолжительностью жизни.

Ген PRDX5 содержит около 30 известных однонуклеотидных полиморфных сайтов (SNPs). Проведено генотипирование 2 групп неродственных жителей Санкт-Петербурга: детей (4–17 лет, n = 103) и пожилых людей (80–106 лет, n = 102) по двум полиморфным сайтам (–540A>C, 1955C>T) методом ПЦР–ПДРФ-анализа.

Различий между группами в частотах аллелей и генотипов по каждому локусу в отдельности не выявлено. Однако обнаружено сцепление изучаемых полиморфных маркеров ($\chi^2 = 82$, $df = 8$, $p < 1 \cdot 10^{-6}$) с частотами

гаплотипов в популяции СПб: –540A/1955C – 0,3; –540A/1955T – 0,35; –540C/1955C – 0,36. Гаплотип 540C/1955T, вероятно, отсутствует в данной популяции. Распределение частот генотипов, учитывающих оба маркера, полностью соответствует распределению Харди–Вайнберга. Различий между группами детей и стариков в частотах гаплотипов и генотипов также не выявлено.

Отсутствие аллеля –540C/1955T в популяции можно объяснить тем, что филогенетически более древним является аллель –540A/1955C, следовательно, для образования аллелей –540A/1955T и –540C/1955C потребовалось по 1 мутации, а для образования –540C/1955T необходимо, чтобы произошло сразу 2 случайные мутации, что маловероятно. Также маловероятно, что –540C/1955T образуется в результате кроссинговера, т.к. маркеры расположены очень близко друг к другу.

Чтобы экспериментально подтвердить отсутствие аллеля –540C/1955T, планируется провести молекулярно-генетический анализ гаплотипов (метод «гнездовой» ПЦР с применением 2 параллель-специфических праймеров) у группы дигетерозигот –540AC/1955CT (50 чел.), поскольку они теоретически могут иметь данный аллель.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ И ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИЯ

А.Н. Гончарова¹, Е.И. Тимошкина¹, С.В. Семенова¹, О.Н. Кузовенкова¹, А.Ю. Постнов²

¹ ГОУВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», г. Саранск, e-mail: glnsm@mail.ru

² ФГУ РКНПК г. Москва, e-mail: anton-5@mail.ru

Изучение молекулярно-генетических основ наследственной предрасположенности к артериальной гипертензии (АГ) и ее осложнений в плане развития тромбозов является одним из перспективных направлений современной кардиологии. В связи с этим целью данной работы явилось изучение полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента (АСЕ) и генов системы гемостаза (гена, кодирующего фактор V свертывания крови, гена ингибитора активатора плазминогена 1 типа, гена протромбина, гена рецептора тромбоцитов — гликопротеин IIb/IIIa и гена MTHFR) у больных АГ Рес-

публики Мордовия в зависимости от пола и национальной принадлежности (эрзя, мокша и русские). Было обследовано 319 больных с установленным диагнозом АГ II–III степени по классификации ВОЗ (2004) и 117 добровольцев с нормальным уровнем АД.

При изучении встречаемости вариантов генотипов гена АСЕ было выявлено преобладание «неблагоприятного» по отношению к развитию АГ генотипа DD гена АСЕ у мужчин АГ мокшанской национальности. Выявлено преобладание сочетаний неблагоприятных генотипов гена PAI-1 у мужчин мокшанской и эрзянской на-

циональностей и преобладание неблагоприятного носительства генотипа СС гена MTHFR в позиции A1298С у мужчин мокшанской национальности, а в позиции С667Т генотипа СТ у больных мокшанской и эрзянской национальностей.

Также выявлено более частое сочетание «неблагоприятных» генотипов генов системы гемостаза и гена ангиотензин-превращающего фермента у больных АГ

мокшанской и эрзянской национальностей по сравнению с русскими больными АГ.

Таким образом, при изучении генов ангиотензин-превращающего фермента и генов системы тромболизиса в Республике Мордовия выявлено носительство неблагоприятных генотипов у больных АГ мордовской национальности по сравнению с больными АГ русской национальности.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА UGT1A6 У ДЕТЕЙ С ЭПИЛЕПСИЕЙ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

О.В. Горючева, А.А. Абрамов, Ю.В. Горючева, С.А. Айвазян, К.В. Осипова,
М.М. Яворская, В.В. Шахтарин, А.Г. Притыко
НПЦ медицинской помощи детям ДЗ г. Москвы

Ферменты системы UGT (уридиндифосфатглюкозилозилтрансферазы) играют ключевую роль в метаболизме вальпроатов — препаратов, широко используемых при лечении эпилепсии.

Целью настоящей работы является изучение частоты встречаемости полиморфизмов A541G и A552C UGT1A6 у детей с эпилепсиями в российской популяции. Указанные полиморфизмы обладают высоким уровнем сцепления (Bock K.W., Köhle, 2005; Krishnaswamy S. et al., 2005).

Были обследованы 122 пациента с различными формами эпилепсии, которые наблюдались в НПЦ Медпомощи детям. Возраст больных колебался от 3 до 22 лет, длительность болезни — от 3 месяцев до 14 лет. Из них 56 больных (45,9%) были чувствительны к терапии антиконвульсантами и 66 (54,1%) — фармакорезистентны.

ДНК выделяли из клеток крови методом фенол/хлороформной экстракции и этанольной преципитации. ПЦР проводили на амплификаторе Applied Biosystems с использованием следующих праймеров: прямой — 5'-TGTGGGGTGATCCTGGCTGAG-3' и обратный

AACAAGGAAGTTGGCCACTCG-3'. Разделение конформеров проводили посредством SSCP-электрофореза в 12% полиакриламидном геле. Результаты подтверждали секвенированием продукта амплификации на 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

В общей группе пациентов определялись следующие частоты генотипов: a541a и a552a — 42 (34,4%), a541g и a552c — 69 (56,6%), g541g и c552c — 11 (9%). Полученные данные отличаются от распределения по генотипу A541G и A552C UGT1A6 в других популяциях (Mayumi Saeki, Yoshiro Saito, Hideto Jinno et al., 2005; Sun Y.P., Tan L., Wang Y., Song J.H., 2007).

В группе больных, чувствительных к фармакотерапии получены следующие данные: a541a и a552a — 20 (35,8%), a541g и a552c — 32 (57,1%), g541g и c552c — 4 (7,1%), для фармакорезистентных — a541a и a552a — 22 (33,3%), a541g и a552c — 37 (56,1%), g541g и c552c — 7 (10,6%).

Анализ частоты встречаемости полиморфизмов A541G и A552C UGT1A6 при разных формах эпилепсии не выявил их достоверных различий.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР РИСКА РАЗВИТИЯ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТИ В РЕЗУЛЬТАТЕ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ ПЛОДА В РОДАХ

С.Г. Журавский^{1,2}, О.В. Гринчик⁴, С.Н. Пчелина^{1,3}

¹ Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова

³ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН, Санкт-Петербург

⁴ Областная клиническая больница, Калининград

Введение. Интранатальная гипоксия является одним из известных этиологических условий развития неврологической патологии новорожденных с широким диапазоном клиники от синдрома ДЦП разной степени тяжести до повреждения только какой-либо одной сен-

сорной системы (зрения, слуха) и легкой малозаметной очаговой симптоматики.

В патогенезе интранатальной травмы ЦНС помимо центральной роли интенсивности острого нарушения кровоснабжения головного мозга нами предполагается

участие эндогенного неспецифического фактора — индивидуальной (генетически детерминированной) повышенной чувствительности нервной ткани к гипоксии.

Цель. Исследовать ассоциацию генетически детерминированной низкой активности антиоксидантной системы с последствиями гипоксической травмы плода в родах.

Материал и методы. Обследовано 77 пациентов в возрасте от 2 до 14 лет с глубокой сенсоневральной тугоухостью — глухотой, 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). Для сравнения с распространенностью исследованных генетических детерминант среди здоровых взяты показатели из исследований, проведенных ранее в Москве и Санкт-Петербурге (Попова С.Н. с со-

авт., 2002; Терещенко С.Н. с соавт., 2009; Chistyakov D.A. et al., 2001).

Результаты. Среди изучаемой группы генетических полиморфизмов от данных сравнения достоверно отличалась только встречаемость аллельного варианта гена SOD2Val(-9), приводящего к изменению структуры лидерного пептида и нарушающего транспорт SOD2 к митохондриям. В нашей клинической группе генотип Val/Val встречался в 10 раз чаще, чем в здоровой популяции Московской области (24,7% vs 2,4%, $p < 0,001$).

Очевидно, что носительство аллельного варианта SOD2 Val(-9) в гомозиготном состоянии является одним из конституциональных условий, предрасполагающих к формированию интранатального гипоксического повреждения ЦНС. Выявленная особенность должна приниматься ко вниманию при разработке программы профилактики гипоксических повреждений ЦНС, а также совершенствования тактики реанимационного пособия в периоде адаптации.

АНАЛИЗ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

Ю.Н. Филиппова, Н.В. Ибрагимова, Н.И. Копейкина, Е.Н. Новикова, Н.М. Слозина
Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России,
Санкт-Петербург

Цель исследования. Изучить эпидемиологические характеристики ВПЧ-инфекции среди женщин репродуктивного возраста, проживающих на территории Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. В скрининге принимали участие женщины, обратившиеся за медицинской консультацией к врачу-гинекологу в период с 2008 по 2009 год. Для ДНК ВПЧ-тестирования использовали соскоб цервикального канала и/или зоны трансформации (эндцервикс/экзоцервикс), выполненный универсальным зондом. Исследование материала проводилось методом ПЦР в форезном формате и режиме «реального времени» на тест-системах ООО «ИнтерЛабСервис» (ЦНИИ Эпидемиологии).

Результаты. Обследовано 1325 женщин в возрасте от 17 до 54 лет. По результатам ДНК-тестирования распространенность ВПЧ составила 26,6%. Анализ полученных данных генотипирования показал, что на долю смешанных инфекций (несколько ВПЧ типов) прихо-

дится 43,2%, моноинфекции (один ВПЧ тип) составили 56,8% от общего числа выявленных ВПЧ. Самым распространенным является ВПЧ 16 типа, который встречался в 21,3% случаев. Далее в порядке убывания распределены ВПЧ 31 (13,5%), 33 (11,3%), 56 и 39 типы (по 10%). Встречаемость остальных типов ВПЧ 35, 52, 18, 51, 45, 66, 58 и 59 варьировала в пределах от 7% до 2,1%. Среди ВПЧ-положительных образцов 73,3% составили образцы с высокой вирусной нагрузкой (значения от 3 lg и выше) и 26,7% — с низкой (до 3 lg), являющейся клинически малозначимой.

Выводы. Распределение генотипов в обследованной популяции женщин Санкт-Петербурга аналогично таковому в РФ. В рамках программы по эпиднадзору и профилактике РШМ при разработке региональных алгоритмов ВПЧ-вакцинации и скрининга необходимо учитывать преобладание наряду с ВПЧ 16 других генотипов — 31, 33, 56 и 39 и высокую распространенность смешанных инфекций.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЕ

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МНОГОМЕРНОЙ СТАТИСТИКИ ПРИ СРАВНИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ДВУХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП

Е.А. Бражникова, В.Г. Дружинин

Кемеровский государственный университет, Кемерово, e-mail: susie@bk.ru

В работе исследована группа подростков двух национальностей — русские и шорцы (47 и 59 человек соответственно). Учет хромосомных aberrаций (ХА) и размеров блоков С-гетерохроматина проводили согласно [1]. Статистический анализ выполнен в среде пакета SAS 9.2. Взаимосвязь признака «Национальность» и цитогенетических параметров изучалась анализом таблиц сопряженности и методом логистической регрессии.

Среди шорцев носителями экстремальных вариантов гетерохроматина (ЭВ) являются 68% детей, среди русских — 38% ($p = 0,0024$; V-Крамера равно 0,29). Частоты aberrаций отличаются незначимо ($4,2 \pm 0,26$ и $4,9 \pm 0,41$ соответственно). При использовании двух цитогенетических признаков перепроверка национальной принадлежности по уравнению логит-регрессии дает совпадение с фактической национальностью в 73% случаев. При анализе мужской половины группы (22 русских и 31 шорец) в 91% случаев верно определяется национальность

при одновременном учете 7 признаков (наличие Yqh+, присутствие qh+ или qh- в хромосоме 9, количество ЭВ на кариотип человека и др.). При анализе 19 человек с установленной заболеваемостью (6 русских и 13 шорцев) была выявлена связь между национальностью (русские) и заболеваниями желудочно-кишечного тракта (33% случаев). Таким образом, логит-регрессия позволяет по национальной принадлежности человека предугадывать его цитогенетический профиль и подверженность определенным заболеваниям. Полученные результаты свидетельствуют о различиях двух этнических групп на цитогенетическом уровне, что является следствием многовекового проживания шорской группы в относительной изоляции.

Список литературы

1. Прокофьева-Бельговская А.А. Система учета размеров гетерохроматиновых участков 1, 9, 16 и Y. — Полиморфизм хромосом человека. — М.: АМН СССР. — 1981. — С. 245–246.

МОДЕРНИЗАЦИЯ ФАКТОРНОГО АНАЛИЗА С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ГРАФИЧЕСКИХ ФОРМ, ИЗОБРАЖАЮЩИХ СХЕМЫ МЕЖКОМПОНЕНТНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ В СЛОЖНЫХ БИОМЕДИЦИНСКИХ СИСТЕМАХ

Н.И. Воробьев

ГНУ ВНИИСХ микробиологии Россельхозакадемии, Санкт-Петербург,
e-mail: vorobyov@arriam.spb.ru

В исследованиях сложных многокомпонентных медицинских биосистем (паразиты–хозяин, симбиозы с микроорганизмами и т.п.) нередко исходные измеряемые характеристики (признаки) являются неортогональными, то есть парные коэффициенты корреляции этих признаков, как правило, отличны от нуля. Это приводит к искажению общей картины межкомпонентных взаимоотношений в биосистеме и к ошибочной интерпретации причинно-следственных связей в ней. Факторный анализ позволяет преодолеть эти трудности путем преобразования исходной неортогональной системы биомедицинских данных к ортогональной системе координат (к системе ортогональных безразмерных факторов) с ранжированным распределением долей общей дисперсии по этим факторам. В результате на первый полученный фактор (Мах-фактор) будет приходиться наибольшая доля общей дисперсии данных, а на последний фактор (Мин-фактор) — наименьшая доля

общей дисперсии. Так как Мин-фактор (как и остальные факторы) является линейной комбинацией исходных признаков и соответствует минимальной доле общей дисперсии, то по значениям и знакам направляющих косинусов этого фактора можно достоверно оценить направленность и интенсивность межкомпонентных взаимодействий в биомедицинской системе и корректно построить направленный граф межкомпонентных взаимодействий в ней. Результирующий граф межкомпонентных взаимодействий дает достоверное и неискаженное представление о структуре и причинно-следственных связях в изучаемой биосистеме. Предлагаемая методика сжатия и преобразования исходной информации на деле оказывается весьма плодотворной, так как создает объективные условия для формирования обоснованных оригинальных гипотез, стратегий и математических моделей в исследованиях сложных биомедицинских систем.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ КЛАСТЕРНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е.Я. Гречанина¹, Ю.Б. Гречанина¹, О.В. Васильева¹,
А.И. Поворознюк², А.Е. Филатова²

¹ Украинский институт клинической генетики Харьковского национального
медицинского университета (УИКГ ХНМУ), Харьков, Украина

² Национальный технический университет «ХПИ», Харьков, Украина

Математическая задача постановки диагноза митохондриального заболевания (МЗ) включает этап построения диагностической модели на основе анализа исходных данных, состоящий в определении информационно значимых признаков этой патологии. Среди них могут быть результаты различных исследований (биохимических, молекулярных и др.), выражающихся в разных условных единицах измерения, что затрудняет возможность сравнения их диагностической значимости для клинициста.

Цель: поиск наиболее информативного математического метода для определения взаимодействий статистически значимых признаков МЗ.

Материалы и методы. При выполнении УИКГ НИР «Всесторонний анализ эпидемиологии и механизмов экспрессии митохондриальных заболеваний в славянских популяциях Восточной Украины» проанализированы результаты молекулярного, биохимического и ультразвукового обследования 186 пациентов с МЗ. Была сформирована исходная база данных, позволяющая выполнять добавление новых признаков и обновление уже существующих без изменения ее структуры.

Результаты. Основным требованием к искомому методу было получение связи одного множества переменных от второго множества и возможность применения метода неполных данных.

В качестве определения связи между множествами переменных использовали метод расположения объектов в многомерном пространстве признаков. Если предположить, что группы признаков связаны между собой, то в многомерном пространстве признаков объекты будут сгруппированы. Поэтому было принято решение использовать методы кластерного анализа (КА) для определения групп объектов, которые позволяют сделать выводы о наличии связей между множествами признаков.

Предложено использовать метод «Слоре» для кластеризации объектов, которые описываются различными подмножествами входного пространства признаков. Основная идея метода состоит в максимизации глобального критерия разбития объектов на кластеры. При этом коэффициент отталкивания регулирует уровень сходства объектов внутри кластера и финальное количество кластеров.

Выводы. В процессе применения метода КА «Слоре» определена его высокая эффективность для предоставления входных данных о пациентах с МЗ, проанализированы клинико-генетические характеристики и обработан результат их взаимодействий. Это дало возможность математического моделирования наиболее распространенных форм МЗ в регионе Восточной Украины.

ПУТИ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ В ХОДЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОНИТОРИНГА МОБ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК

М.В. Загривная^{1, 2}, А. Badbaran², В. Fehse², N. Kruger², A.R. Zander², И.М. Бархатов¹,
Е.И. Дарская¹, Б.В. Афанасьев¹

¹ Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой
ГОУ ВПО СПбГМУ им. академика И.П. Павлова

² Центр трансплантации костного мозга Университетской клиники Эппендорф,
Гамбург, Германия

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) при терапии множественной миеломы (ММ) сопровождается снижением опухолевой массы. В связи с этим представляется актуальной разработка чувствительных и специфичных методов мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ), основанных на детекции клональной перестройки гена

IgH. В связи с реконституцией донорского гемопоэза в ряде случаев результаты исследования могут оказаться неспецифичными из-за появления последовательности IgH, сходной с IgH миеломного клона. Нами разработан алгоритм индивидуального подбора специфичных тест-систем, минимизирующий трудоемкость анализа.

Алгоритм предусматривает:

- сравнение нуклеотидной последовательности клональной перестройки IgH как с герминальными V, D и J последовательностями, так и с рекомбинированными генами IgH;
- индивидуальные отличия и мутации на 3' конце праймеров;
- индивидуальная температура отжига праймеров выше теоретической;
- тестирование праймеров на специфичность не менее чем с 10–20 контрольными ДНК;

- выполнение мониторинга МОБ после завершения активной регенерации.

Подобраны опухолеспецифичные тест-системы:

- для качественного ПЦР (13 пациентов);
- для количественного ПЦР (4 пациента). Подтверждена высокая специфичность и чувствительность разработанного метода исследования, результаты оценки МОБ сопоставимы с данными многоцветного FACS-анализа.

МОНИТОРИНГ ВРОЖДЕННЫХ АНОМАЛИЙ В УЧРЕЖДЕНИЯХ ФМБА РОССИИ

В.В. Никишин¹, С.И. Лизунова¹, П.В. Ижевский², Е.П. Канева³

¹ ФГУЗ КБ № 84 ФМБА России, г. Москва

² ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, г. Москва

³ ФМБА России, г. Москва

Разработка и внедрение мер по первичной профилактике патологии системы репродукции и врожденных аномалий (ВА) требует знания их «фоновых» частот в популяции. В ФМБЦ им. А.И. Бурназяна создан регистр ВА, в регистр ежеквартально поступает информация обо всех ВА, выявленных в МСЧ ФМБА РФ. В Центральном отделении медицинской генетики с консультацией «Брак и семья» ФМБА России получили необходимую консультативную помощь 562 семьи, где впервые выявлены ВПР. Более 80% семей последовали полученным рекомендациям. Наблюдаемая в уч-

реждениях ФМБА России частота ВПР (1,38%) не превышает общероссийские показатели за 2005 год (1,84%). Зарегистрированная по 36 регионам РФ оценка составляет 6,14%, что достоверно выше средней по ФМБА России (4,95‰). Результаты работы показали возможность использования ВА «обязательного учета» в качестве «фоновых» показателей для разработки мер их первичной профилактики и оценки влияния условий труда на оценку риска бесплодия, неблагоприятных исходов беременности и рождения ребенка с маркерными ВА.

НОВАЯ МЕТОДИКА ФЕНОТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450 ЧЕЛОВЕКА

А.А. Филимонова

Казанская государственная медицинская академия, Казань, e-mail: aachichirova@mail.ru

Цитохромы P450 (CYP450) — суперсемейство ферментов, которые катализируют окислительный метаболизм различных химических веществ, включая большинство лекарств. CYP450-опосредованный метаболизм влияет на клиренс лекарств, токсичность и их взаимодействие с другими препаратами. Стандартные методы фенотипирования по активности изофермента CYP 1A2 включают определение концентрации кофеина, являющегося тест-субстратом изофермента цитохрома P450 1A2, и его метаболитов в слюне, плазме и моче [2, 4]. Фенотипирование пациентов по активности CYP 1A2 используется для правильного дозирования лекарств, метаболизирующихся преимущественно в изоферменте

1A2 [1, 2]. В связи с этим целью исследования явилась разработка и апробирование математической модели фармакокинетики кофеина *in vivo* при его внесосудистом введении с вычислением критерия, однозначно связанного с активностью изофермента CYP 1A2.

Нами было обследовано 96 здоровых добровольцев, из них 58 женщин и 38 мужчин, проживающих в г. Казани. Условия отбора образцов проведения высокоэффективного жидкостного хроматографического анализа (ВЭЖХ) и собственно методика проведения ВЭЖХ анализа разработаны нами [3]. Расчет параметров фармакокинетики кофеина проводили с использованием двухкамерной математической модели с всасыванием.

Константу скорости образования параксантина рассчитывали по кинетическим данным по уравнениям математической модели [5].

Таким образом, разработана математическая модель метаболизма кофеина и его первичных метаболитов, позволяющая рассчитывать константы скоростей образования первичных метаболитов кофеина. Предложен специфический маркер активности изофермента цитохрома P450 1A2 — константа скорости I порядка образования параксантина. Предложенный алгоритм определения активности изофермента CYP 1A2 может быть применен для любого изофермента цитохрома P450.

Список литературы

1. Арчаков А.И. Цитохромы P-450, лекарственная болезнь и персонализированная медицина. Часть I / А.И. Арчаков, А.В. Лишица, Н.А. Петушкова, И.И. Карузина // Клиническая медицина. — 2008. — № 2. — С. 4–8.

2. Кулес В.Г. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты. — М.: Издательство «Реафарм», 2004.

3. Филимонова А.А. Улучшенная высокоэффективная жидкостная хроматографическая методика определения кофеина и его первичных метаболитов в слюне и плазме / А.А. Филимонова, Л.Е. Зиганшина, А.А. Чичиров // Клиническая лабораторная диагностика. — 2008. — № 10. — С. 34–36.

4. Филимонова А.А. Возможности фенотипирования пациентов по активности изофермента цитохрома P450 1A2 с использованием кофеина в качестве тест-субстрата / А.А. Филимонова, Л.Е. Зиганшина, А.У. Зиганшин, А.А. Чичиров // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2009. — Т. 72. — № 5. — С. 61–65.

5. Филимонова А.А. Фенотипическое исследование активности изоферментов цитохрома P450 у больных шизофренией с использованием кофеина в качестве тест-субстрата: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Казань, 2009. — 19 с.

ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПАСПОРТИЗАЦИИ

Н.Н. Хромов-Борисов
Санкт-Петербург, Россия,
e-mail: Nikita.KhromovBorisov@gmail.com

Решающими показателями качества любого метода диагностики являются не отношения шансов (*OR*) или отношения рисков (*RR*), но предсказательные вероятности (ценности) положительного и отрицательного результатов диагноза: *PPV* и *NPV*. Пусть распространенность болезни с элементами наследственной предрасположенности (БЭНП) в некоторой популяции равна $P(D^+) = 1\%$. Допустим, что у больных доля носителей генотипа (аллели, гаплотипа) g_1 , предрасполагающего к данной БЭНП, равна $P(g_1|D^+) = 20\%$ и она в 2 раза выше, чем у индивидуумов без этой БЭНП: $P(g_1|D^-) = 10\%$. Этому соответствуют значения $RR = 2$, $OR = 4,4$ и разности рисков $RD = 10\%$. По формуле Бейза вероятность БЭНП у носителя генотипа g_1 примерно в 2 раза превышает ее распространенность: $PPV_1 = P(D^+|g_1) = 1,98\%$. Вряд ли на основе столь малого значения можно делать выводы о наличии или развитии данной БЭНП у конкретного индивидуума.

Допустим теперь, что есть еще другой предрасполагающий к данной БЭНП генотип g_2 с такими же характеристиками. Вероятность БЭНП у носителей обоих генотипов совместно (g_1 и g_2) возрастает по сравнению с носителями каждого из них по отдельности (g_1 или g_2):

$PPV_{1,2} = P(D^+|g_1, g_2) = 3,9\%$. Очевидно, что чем больше в генотипе предрасполагающих аллелей, тем выше вероятность возникновения или развития данной БЭНП у его носителей.

Однако доля носителей таких генотипов в популяции снижается экспоненциально и уже для 6 маркеров составляет 1 на миллион при $PPV_{1,...,6} = P(D^+|g_1, ..., g_6) = 39\%$, которая всего в 10 раз выше, чем для пары генотипов. Для носителей одновременно 9 маркеров вероятность БЭНП достигает 91%, а у носителей 10 таких маркеров — 95%. Но обнаружить таких индивидуумов практически невозможно: их доли в популяции составляют 10^{-9} и 10^{-10} . Фактически это будет один человек на Земле.

Другим показателем несостоятельности клинико-генетической паспорттизации является «количество подлежащих генотипированию» — *NNG* (number needed to genotype). В нашем примере оно равно: $NNG = [RD \times P(D^+)]^{-1} = 1000$. Если цена одного анализа составляет 100 у.е., то затраты на выявление дополнительно одного больного составят 100 тыс. у.е. При генотипировании по k маркерам затраты возрастут в k раз.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ТОКСИКОЗА С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ

И.А. Юнусов, Н.А. Курицына, И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, e-mail: I.V.Zarubina@inbox.ru

Современные медико-биологические исследования требуют привлечения новых методов прогнозирования биологических эффектов с помощью математических моделей. Целью исследования явилось сопоставление биохимических данных по восстановлению показателей при травматическом токсикозе с расчетными данными на основе разработанной нами математической модели с использованием программы Microsoft Access и программного модуля на языке Visual Basic for Application. Данная модель позволяет прогнозировать максимальное отклонение биохимических маркеров травматического токсикоза от нормальных значений и сроки их восстановления, что отменяет выполнение большей части трудоемких биохимических анализов [Зарубина И.В. и др. // БЭБМ, 2005, 140(12), 707–710]. К примеру, расчеты показывают, что активность печеночных фер-

ментов в крови будет отличаться на 5% от исходного уровня лишь на 15 сут., содержание креатинина — на 22 сут., мочевины — на 32 сут. после травмы. Это позволяет рекомендовать данную модель для исследований аналогичной направленности. Кроме того, с помощью данной модели можно оценивать эффективность проводимой фармакотерапии травматического токсикоза, что позволит сэкономить время и материальные средства на проведение исследований. Используя модель и теоретический расчет сроков восстановления биохимических маркеров травматического токсикоза, можно ограничиться проведением традиционных исследований в течение 2 недель с момента травмы. Динамику дальнейшего восстановления показателей в этом случае целесообразно рассчитать с помощью предлагаемой математической модели.

ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО
Всероссийская школа
«ПРОТОЧНАЯ ЦИТОМЕТРИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ»
Санкт-Петербург

Место проведения: Центр лабораторной диагностики
Санкт-Петербургского государственного медицинского
университета им. проф. И.П. Павлова,
197089, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6/8,
immunology.spbgmu@gmail.com, yekaterina.zueva@gmail.com.
Вся информация имеется на сайте www.immunologica.
Оргкомитет ответит на любые Ваши вопросы.
Тел. 8-812-234-3407, факс 8-812-233-9726, моб. 8921-866-6373.
Русанова Екатерина Борисовна, Горчакова Маргарита Валерьевна,
Слободнюк Константин Юрьевич, Зуева Екатерина Евгеньевна

Дорогие коллеги!

Приглашаем вас принять участие в работе всероссийской школы «Проточная цитометрия в клинической лабораторной диагностике».

Лекции и практические занятия организованы в форме повышения квалификации врачей клинической лабораторной диагностики, аллергологов-иммунологов, гематологов, а также врачей других специальностей, научных сотрудников, аспирантов, ординаторов и студентов.

В программу включены:

- ◆ Лекции по диагностической и клинической иммунологии;
- ◆ Практическая работа на проточных цитометрах компании Beckman Coulter FC-500;
- ◆ Клинические разборы типичных и спорных случаев.

Организаторы Школы

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова
Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины
Центр лабораторной диагностики

Лаборатория клинической иммунологии и молекулярной диагностики

Российская ассоциация медицинской лабораторной диагностики

Компания Beckman Coulter

Участие в Школе приравнивается к дополнительному послевузовскому обучению по специальностям «Клиническая лабораторная диагностика», «Аллергология и иммунология» и «Гематология и переливание крови». Всем участникам, оплатившим обучение и приехавшим на Школу, будет выдано государственное свидетельство повышения квалификации по теме «Проточная цитометрия в клинической лабораторной диагностике» и/или продление Сертификата специалиста по клинической лабораторной диагностике.

Основная характеристика курса — практический подход к проточной цитометрии. Основное внимание курса сосредоточено на базовых вопросах технологии проточной цитометрии, на практике оценки состояния иммунной системы, на вопросах диагностики и мониторинга онкогематологических заболеваний, в том числе выявления и количественной оценки минимальной остаточной болезни.

Курс предназначен для операторов и исследователей, для начинающих и опытных пользователей, которые хотят научиться/освежить свои знания в области проточной цитометрии от самых основ до новых приложений.

Данный курс рассчитан на 144 часа, стоимость обучения 12 000 рублей (двенадцать тысяч рублей).

Оплата в размере 2700 рублей за проведение сертификационного экзамена предусмотрена для слушателей, работающих в негосударственных лечебно-профилактических учреждениях.

Внимание участников: наиболее интересные доклады участников будут опубликованы в Ученых записках Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова; просьба подготовить не только доклады, но и статьи, оформленные по правилам для авторов.