МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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

МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНЫЕ АСПЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
VI РОССИЙСКОГО КОНГРЕССА
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ – ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»

Санкт-Петербург

12–17 июля 2022 г.

Под научной редакцией В.И. Ларионовой

ИЗДАТЕЛЬСТВО
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
ЭКОНОМИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА
2022

ББК 28.04
М11

М11 **Мультидисциплинарные** аспекты молекулярной медицины : сборник материалов VI Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное». Санкт-Петербург, 12–17 июля 2022 г. / под науч. ред. В.И. Ларионовой. – СПб. : Изд-во СПбГЭУ, 2022. – 200 с.

ISBN 978-5-7310-5875-9

Сборник содержит доклады и статьи участников VI Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное».

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

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

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

ББК 28.04

Издается при поддержке Комитета по науке и высшей школе

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

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

ISBN 978-5-7310-5875-9

© Коллектив авторов, 2022
© Изд-во СПбГЭУ, 2022

Научное издание

МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНЫЕ АСПЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ VI РОССИЙСКОГО КОНГРЕССА С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ – ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»

Санкт-Петербург

12–17 июля 2022 г.

Под научной редакцией В.И. Ларионовой

Подписано в печать 15.11.2022. Формат 60×84 1/16.
Усл. печ. л. 13,0. Тираж 100 экз. Заказ 1155.

Издательство СПбГЭУ. 191023, Санкт-Петербург,
наб. канала Грибоедова, д. 30-32, лит. А.

Отпечатано на полиграфической базе СПбГЭУ

СОДЕРЖАНИЕ

СТАТЬЯ 10

Ларионова В.И., Васина А.Ю., Никитина А.П., Синицын П.А., Уржумцева Т.Б., Кирсанов И.И.
Оценка риска развития метаболического синдрома у детей и подростков. Клинические, генетические и экономические аспекты применения алгоритмов наблюдения и лечения пациентов с МС. 10

ТЕЗИСЫ 27

Абсалямова М.Т., Муружева З.М.
Содержание аутоантител против нейротензина в крови как прогностический маркер течения болезни Паркинсона 27

Бажанова Е.Д., Литовченко А.В., Забродская Ю.М.
Изменения экспрессии белков воспаления и их роль в патогенезе фармакорезистентной эпилепсии у человека..... 30

Баканова М.Л., Тимофеева А.А., Минина В.И.
Генотоксические эффекты в лимфоцитах периферической крови у жителей Кемеровской области больных раком легкого и раком молочной железы..... 33

Баранова Е.Д., Дружинин В.Г.
Изучение бактериального состава мокроты больных хроническим пылевым бронхитом и его связи с повреждением хромосом в лимфоцитах периферической крови 36

Башарова К.С., Безрукова А.И., Николаев М.А., Милюхина И.В., Байдакова Г.В., Захарова Е.Ю., Пчелина С.Н., Усенко Т.С.
Увеличение активности лизосомных ферментов при селективном ингибированиии LRRK2 в первичной культуре макрофагов пациентов с болезнью Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене *GBA* 39

Безрукова А.И., Башарова К.С., Николаев М.А., Копытова А.Э., Емельянов А.К., Руденок М.М., Шадрина М.И., Сломинский П.А., Усенко Т.С., Пчелина С.Н.
Сравнительный анализ транксриптома черной субстанции головного мозга мышей с МФТП-индуцированным паркинсонизмом и первичной культуры макрофагов пациентов с болезнью Паркинсона с дисфункцией глюкоцереброзидазы 42

Бушуева О.Ю., Шиленок И.В., Белых А.Е., Кобзева К.С., Солдатова М.О., Суровцева А.В., Гуртовой Д.Е., Солдатов В.О., Дейкин А.В.

Однонуклеотидный полиморфизм RS2900262 в гене, кодирующем шаперон Hero C9orf16, ассоциирован с риском ишемического инсульта у женщин 45

Воробьев А.С., Николаев К.Ю., Лифшиц Г.И., Коваленко Л.В., Урванцева И.А., Секисова В.Е., Донников М.Ю.
Генетические детерминанты атеросклеротического поражения коронарных артерий у пациентов с острым коронарным синдромом на Севере 48

Гвоздевич В.Д., Бергер А.Б.
Китайская акупунктура в лечении COVID-19 51

Гвоздевич В.Д., Бергер А.Б.
Китайская медицина в подготовке врача-специалиста..... 54

Григорьева Е.В., Дроздова Е.С., Павлова С.П., Сорогина Д.А., Ибатуллин Ф.М., Емельянов А.К., Байдакова Г.В., Захарова Е.Ю., Пчелина С.Н., Медведев С.П., Закиян С.М.
Клеточная платформа для скрининга *in vitro* фармакологических препаратов для терапии болезни Паркинсона, ассоциированной с мутацией в гене *GBA* 57

Грунина М.Н., Заботина А.М., Насырова Р.Ф., Ершов Е.Е., Крупицкий Е.М., Тараскина А.Е.
Персонализация терапии расстройств шизофренического спектра на основе индивидуальных особенностей нейротрансмиссии 60

Гузева В.И., Гузева О.В., Охрим И.В., Гузева В.В., Касумов В.Р., Ерёмкина Ю.А., Севрук Е.А.
Генетический полиморфизм CYP2C9 и CYP2C19 у детей с эпилепсией: влияние на лечение..... 63

Драчева К.В., Побожева И.А., Анисимова К.А., Хамид З.М., Гараева Л.А., Баландов С.Г., Василевский Д.И., Пчелина С.Н., Мирошникова В.В.
Холестерин экстраклеточных везикул жировой ткани приожирении 66

Дрибноходова О.П., Миронов К.О., Дунаева Е.А., Есьман А.С., Корчагин В.И., Борисова Э.В., Хлявич В.Н., Дауд А.И., Носкова К.К., Колесова Е.Н., Путова М.В., Лёшкина Г.В.
Определение мутаций в генах BRAF, *KRAS*, *HRAS* и *NRAS* в узловых образованиях щитовидной железы 69

Дроздова Е.Л., Быканова М.А., Солодилова М.А., Полоников А.В.
Вовлеченность полиморфизма rs5760492 гена гамма-глутамилтрансферазы в развитие ишемического инсульта 73

Зайцева Г.В., Сафонова Т.Н., Бурденный А.М., Логинов В.И.
Предиктивная значимость генетического анализа у пациентов с синдромом сухого глаза при первичном синдроме Шегрена и ревматоидном артрите..... 76

Захарова И.С., Шевченко А.И., Тмоян Н.А., Елисафенко Е.А., Зубкова Е.С., Слепцов А.А., Назаренко М.С., Ежов М.В., Кухарчук В.В., Парфёнова Е.В., Закиян С.М.
Создание клеточной модели семейной гиперхолестеринемии на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека..... 79

Зубарева Т.С., Леонтьева Д.О., Миронова Е.С., Пустыгина А.В.
Экспрессия белков TOM20 и TOM70 в миокарде крыс при старении.... 83

Иванова Р.Н., Сухомясова А.Л., Голикова П.И., Максимова Н.Р.
Несовершенный остеогенез в Якутии 86

Ингель Ф.И., Кедрова А.Г., Кравченко Г.В., Ахальцева Л.В., Юрцева Н.А., Греян Т.А., Константинова Ю.С., Никитина Т.А.
Эффекты нестабильности генома в системе профилактических осмотров как индикатор риска развития опухолей и других хронических заболеваний 89

Ингель Ф.И., Легостаева Т.Б., Кривцова Е.К., Юрцева Н.А.
Семья как один из факторов модификации эффектов нестабильности генома и адаптации организма детей..... 93

Кожевникова Е.О., Савицкий Д.В., Линькова Н.С., Кветная Т.В.
Профиль синтеза сиртуинов при репликативном старении эндотелиоцитов человека..... 97

Королев Ю.Н., Никулина Л.А., Михайлик Л.В.
Структурно-метаболические изменения в семенниках крыс в условиях развития метаболического синдрома и действия немедикаментозных лечебных факторов 100

Лавринова А.О., Журавлев А.С., Милюхина И.В., Белых Е.А., Тюрин А.А., Беркович О.А., Пчелина С.Н., Емельянов А.К.
Уровень DNMT1 и степень метилирования геномной ДНК в CD45+ клетках крови при болезни Паркинсона..... 103

Леонтьева Д.О., Крылова Ю.С., Кветной И.М., Зубарева А.С.
Буккальный эпителий: новый подход к неинвазивной диагностике саркоидоза 105

Линькова Н.С., Владимирова Е.В., Сухарева М.С., Хавинсон В.Х.
Эффективность применения пептидного препарата тималина при COVID-19: молекулярные аспекты 108

Малахова А.А., Елисафенко Е.А., Павлова С.В., Григорьева Е.В., Медведев С.П., Закиян С.М.
Моделирование наследственных нейродегенеративных заболеваний в культурах клеток 111

Марковский А.В.
Роль генетического индекса при пролиферативных заболеваниях молочной железы 114

Минина В.И., Савченко Я.А., Баканова М.Л., Торгунакова А.В.
Генотоксические эффекты у работников угольных предприятий Кузбасса 117

Миронова Е.С., Дробинцева А.О., До Нгок Хоп, Новак-Бобарыкина У.А.
Роль и значение кисспептинов в молекулярных механизмах патологии дыхательной системы 120

Миронова Е.С., Зубарева Т.С., До Нгок Хоп, Новак-Бобарыкина У.А.
Роль и значение МТ4-ММП в патогенезе опухолевой прогрессии 123

Очнева А.Г., Зоркина Я.А., Павлов К.А., Абрамова О.В., Федосеева Е.Д., Иконникова А.Ю., Емельянов М.А., Грядунов Д.А., Морозова А.Ю., Андрющенко А.В., Андреюк Д.С., Савилов В.Б., Курмышев М.В., Сюняков Т.С., Карпенко О.А., Костюк Г.П.
Ассоциация генетических полиморфизмов с когнитивными нарушениями у пациентов с деменцией и легким когнитивным снижением 126

Писарев В.М., Чумаченко А.Г., Ершова Е.С., Костюк С.В., Тутельян А.В.
Бинарные молекулярные биомаркеры ДНК для персонализированной медицины критических состояний 129

Побожева И.А., Полякова Е.А., Пантелеева А.А., Драчева К.В., Беляева О.Д., Беркович. О.А., Баранова Е.И., Пчелина С.Н., Мирошникова В.В.
Уровень высокомолекулярного адипонектина и его ассоциация с липидным спектром сыворотки крови у пациентов с ишемической болезнью сердца 133

Пчелина С.Н., Усенко Т.С., Емельянов А.К., Рычков Г.Н., Захарова Е.Ю.
Таргетная терапия болезни Паркинсона 136

Рычков Г.Н., Тюрин А.А., Белых Е.А., Николаев М.А., Сорогина Д.А., Пчелина С.Н., Емельянов А.К.
Виртуальный скрининг как подход для поиска потенциальных фармакологических шаперонов глюкоцереброзидазы 139

Савватеева Е. Н., Юкина М. Ю., Нуралиева Н.Ф., Соколова В.В., Филиппова М.А., Трошина Е.А., Грядунов Д.А.
Гидрогелевые биочипы для мультиплексного иммуноанализа биомаркеров аутоиммунных эндокринных патологий 142

Савицкий Д.В., Козлов К.Л., Кожевникова Е.О., Линькова Н.С., Кветная Т.В.
Модель индуцированного воспалительной реакцией старения эндотелия сосудов: перспективы для выявления маркеров атеросклероза..... 145

Сайтгалина М.А., Любимова Н.Е., Останкова Ю.В.
Применение Real-time ПЦР для количественного определения молекул TREC и KREC в периферической крови 148

Сы Хуай Джу
Применение традиционной китайской медицины в России для лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19 151

Тумашова О.С., Муружева З.М.
Когнитивные и аффективные нарушения при постковидном синдроме 154

Улитина А.С., Жиленкова Ю.И., Золотова Е.А., Симакова М.А., Моисеева О.М., Вавилова Т.В., Пчелина С.Н., Сироткина О.В.
Экспрессия микроРНК в микровезикулах плазмы периферической крови у пациентов с посттромбоэмболическим синдромом 157

Федосеева Е., Иконникова А., Антонова О., Сюняков Т., Емельянова М., Зоркина Я., Абрамова О., Андреюк Д., Павлов К., Савилов В., Соловьёва К., Курмышев М., Карпенко О., Андрюшенко А., Костюк Г., Морозова А., Грядунов Д.
Биочип для определения полигенного риска развития болезни Альцгеймера..... 160

Фридман Н.В., Гутоп Е.О., Ивко О.М., Трофимова С.В., Хавинсон В.Х.
Дипептид КЕ нормализует экспрессию цитокинов в сенесцентных фибробластах кожи человека 163

Хорошилов И.Е., Хорошилова А.И.
Микробиом, иммунитет и вакцина против COVID-19 166

Черебилло К.К.
Молекулярно-генетические и клинические особенности церебральной аутосомно-доминантной артериопатии с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ) 169

Шадрина М.И., Власов И.В., Семенова Е.И., Партевян С.А., Новосадова Е.В., Росинская А.В., Гривенников И.А., Сломинский П.А., Алиева А.Х.
Анализ изменения экспрессии генов у монозиготных близнецов, дискордантных по болезни Паркинсона 171

Щугарева Л.М., Петрова В.Д.
KCNQ2 энцефалопатия развития и эпилептическая энцефалопатия 174

Olga A. Vostrukhina, Elena D. Mirlina, Darya N. Khmelkova, Galina M. Butrovich, Alexandra D. Shakhmatova, Yury V. Kil, Yliya L. Polyatskin, Anna S. Artemyeva, Alexey V. Gulyaev and Valery N. Verbenko
A novel pathogenic variant of *MSH6* gene associated with Lynch syndrome 177

КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ 180

Бажанова В.В., Ларионова В.И., Храмцова Е.Г.
Микроцефалия как ключ к диагностике наследственных болезней обмена на примере классической гомоцистинурии (клинический случай) 180

Кароль Е.В., Иванов О.В., Сироткина Л.С., Самсоненко Ю.В., Натарова Н.В., Кузьмина Т.В.
Проблемы медико-социальной экспертизы при редких генетических заболеваниях на примере болезни Штурге-Вебера..... 183

Москвитин Г.Д., Николаева И.А., Голикова П.И., Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р.
Диагностика гипомиелинизирующей лейкодистрофии 7 типа в Якутии: клинический случай 186

Пономарева Н.Ю., Кошелев Р.В., Ямпольская Е.Н., Лазарев В.В., Кочетков А.В., Пузырькова И.А., Никифорова И.В.
Междисциплинарный подход в ведении семьи ребенка с врожденной патологией. Молекулярная диагностика и генетический прогноз. Персонифицированная профилактика..... 189

Романова А.А., Ларионова В.И., Храмцова Е.Г.
Терапевтические возможности лечения миопатии Дюшенна (клинический случай)..... 192

Тимченко А.Е., Ларионова В.И., Храмцова Е.Г.
Клинико-лабораторные показатели для ранней диагностики миопатии Дюшенна (клинический случай) 195
Храмцова А.М., Ларионова В.И.
Фенилкетонурия у женщин репродуктивного возраста 198

СТАТЬЯ

Оценка риска развития метаболического синдрома у детей и подростков. Клинические, генетические и экономические аспекты применения алгоритмов наблюдения и лечения пациентов с МС.

Ларионова В.И., Васина А.Ю., Никитина А.П., Синицын П.А., Уржумцева Т.Б., Кирсанов И.И.*
Академия Молекулярной Медицины, Санкт-Петербург, Россия
*E-mail: vlarionova1@yandex.ru

Risk assessment of developing metabolic syndrome in children and adolescents. Clinical, genetic and economic aspects of the application of algorithms for monitoring and treating patients with metabolic syndrome.

Larionova V.I., Vasina A.Y., Nikitina A.P., Sinitsyn P.A., Urzhumtseva T.B., Kirsanov I.I.*
Academy of Molecular Medicine, St. Petersburg, Russia
*E-mail: vlarionova1@yandex.ru

В настоящее время не вызывает сомнения, что истоки сердечно-сосудистой патологии, ассоциированной с атеросклерозом и его сосудистыми осложнениями, находятся в детском и подростковом возрасте. Поэтому в условиях повсеместного и прогрессирующего роста сердечно - сосудистых заболеваний все большую актуальность приобретает внедрение в практическое здравоохранение системы их первичной профилактики. Развитие и внедрение системы первичной профилактики атеросклероза и ассоциированных с ним заболеваний среди детей, подростков и лиц молодого возраста направлено на управление факторами риска его развития, установленными в результате многочисленных эпидемиологических исследований. Среди них выделяют конституциональные и средовые факторы риска такие как мужской пол, атерогенные нарушения липидного обмена, отягощенную наследственность по сердечно-сосудистой патологии, артериальную гипертензию, избыточную массу тела, сахарный диабет 2 типа, гиподинамию, стресс, курение, несбалансированное питание и их сочетания.

На сегодняшний день, одним из ведущих факторов риска развития

кардиоваскулярной патологии рассматривается метаболический синдром (МС) [1,2].

Данный синдром представляет собой комплекс взаимосвязанных нарушений углеводного и жирового обмена, а также механизмов регуляции артериального давления (АД) и функций эндотелия, развивающихся на фоне абдоминального ожирения (АО) в условиях периферической инсулинорезистентности (ИР). МС объединяет в себе основные факторы риска развития атеросклероза и сахарного диабета 2 типа (СД II типа): АО, ИР и гиперинсулинемию (ГИ), первичную артериальную гипертензию (АГ), дислипидемию, нарушение толерантности к глюкозе, гиперурикемию (ГУ) и подагру, микроальбуминурию, провоспалительную и прокоагуляционную направленность гомео- и гемостаза [3,4,5,6,7].

Среди большого количества компонентов МС, описанных у взрослых пациентов, основным, или синдромообразующим, считается абдоминально-висцеральное ожирение, обладающее выраженными корреляционными взаимосвязями с ведущими обменно-регуляционными расстройствами, присущими МС [1,8.9,10].

В педиатрической практике подобная точка зрения основана на результатах исследований, доказывающих связь избытка массы тела у детей с последующим развитием у них во взрослом периоде жизни МС [11,12,13,14].

Оценка риска развития метаболического синдрома у детей и подростков, особенно имеющих ожирение, является актуальной задачей, так как этот ведущий фактор риска развития синдрома уже приобрёл в данной возрастной группе характер эпидемии [15,16,17,18,19,20,21,22,23,24]

На сегодняшний день не вызывает сомнения, что в развитии комплекса обменных и регуляционных нарушений, характерных для МС, описанного у взрослых, тип ожирения у детей и подростков имеет большое значение. Распространенность метаболического синдрома примерно сопоставима с распространенностью висцерального ожирения. При ожирении происходит накопление триглицеридов в жировой ткани. Известно, что триглицериды могут

накапливаться не только в пределах жировой ткани, но и эктопически - в сердечной мышце, печени, скелетных мышцах. Согласно данным некоторых исследований, у инсулинорезистентных лиц с риском развития диабета 2-го типа отмечается высокое внутримышечное содержание липидов. У лиц, ведущих сидячий образ жизни, высокое внутримышечное содержание липидов сильно коррелирует с инсулинорезистентностью. Высокое содержание свободных жирных кислот, приводит к повышению концентрации промежуточных метаболитов, таких как диацилглицерин. Исследования invitro показали, что этот метаболит может активировать протеинкиназу С, приводя к фосфорилированию участка серин/треонин субстратов инсулинового рецептора (IRS-1 и IRS-2). В результате, снижается способность субстратов инсулинового рецептора активировать фосфатидилинозитол 3-киназу, приводя к сниженной транслокации транспортера глюкозы GLUT 4 в клеточную мембрану и уменьшению инсулин-опосредованного захвата глюкозы [25].

Однако, внутримышечное содержание липидов также высоко у лиц, практикующих регулярные тренировки и имеющих нормальную массу тела, которые, как известно, имеют высокую чувствительность к инсулину. Данное явление получило название «атлетический парадокс». В ходе дальнейших исследований было установлено, что высокое внутримышечное содержание липидов является физиологической адаптацией, обеспечивающей высокие потребности в данном субстрате, и сопровождается высокой окислительной емкостью митохондрий в отношении данного субстрата. Именно, высокая окислительная емкость позволяет поддерживать концентрации свободных жирных кислот низкими, несмотря на наличие избытка липидов в мышцах. На примере ряда исследований было показано, что гиподинамия приводит к снижению митохондриальной функции и тем самым к внутримышечному накоплению липидов, накоплению промежуточных метаболитов, таких как диацилглицерин, ацил-КоА, и инсулинорезистентности скелетных мышц [26].

Известно, что физическая нагрузка может влиять на углеводный и липидный метаболизм через белки семейства PPAR, которые имеют свойство

специфически связываться с PPAR-чувствительными элементами промоторов генов жирового и углеводного метаболизма и регулировать их транскрипцию (десятки разных генов). Известны гены PPARA, PPARG, PPARD, кодирующие соответствующие белки. Белки PPAR представляют собой ядерные рецепторы, которые активируются пролифераторами пероксисом и поэтому так называются [27]. На начальном этапе действия белков PPAR происходит связывание PPAR с лигандом (в качестве лиганда могут выступать насыщенные и ненасыщенные длинноцепочечные ЖК, их производные (эйкозаноиды), синтетические средства (лекарственные препараты: фибраты, тиазолидинедионы, лейкотриены и др.). Лиганды имеют свойство стабилизировать структуру белков PPAR, после чего происходит связывание PPAR-лигандного комплекса с белком-гетеродимером – ретиноидным Х-рецептором (RXR) и с PPAR-чувствительным элементом промотора гена-мишени. Далее происходит освобождение PPAR от корепрессора и связывание с коактиватором (например, PGC-1α) и деконденсация хроматина. Комплекс опознается РНК-полимеразой и происходит инициация транскрипции гена-мишени. PPAR-RXR комплексы активизируются при повышенных запросах в энергообеспечении, в том числе под влиянием физической нагрузки. Семейство коактиваторов PPARγ (PGC) являются ключевыми коактиваторами транскрипции генов индукции биогенеза митохондрий [28]. Известно, что физические тренировки улучшают митохондриальную функцию, через синхронизацию бета окисления жирных кислот и цикла трикарбоновых кислот, улучшая чувствительность к инсулину. Активируемый физической нагрузкой коактиватор транскрипции PGC1 alpha играет ключевую роль в регуляции метаболизма через эти пересекающиеся метаболические пути. PGC-1α коактивирует ряд ядерных рецепторов, в том числе рецептор витамина Д [29].

Новую ступень в понимании прикладной медициной патогенного действия гиподинамии в развитии ожирения и саногенности физической активности открывает сложившаяся в фундаментальной медицине концепция эндокринных функций мышечной ткани.

Исследования последних лет показали, что скелетная мышца (так же, как кардиомиоциты и жировая ткань, а также гепатоциты) является эндокринным органом и вырабатывает миокины – биорегуляторы из группы органокинов (куда также относятся гепатокины, липокины и др.), действующие как паракринно и юкстакринно, так и эндокринно, дистантно — через кровоток. При сокращении, скелетные мышцы выделяют ряд аутакоидов (сигнальных органических молекул короткодистантного беспроводникового действия), среди которых цитокины (и другие пептиды), противодействующие провоспалительным аутакоидам жировой ткани адипокинам. Существует гипотеза, что миокины играют главную роль в регуляции взаимодействия между скелетной мышцей, печенью, клетками поджелудочной железы и жировой тканью [30].

Так, в самое последнее время установлено, что миокины (в частности, ирисин) могут способствовать дифференцировке высокоактивной в отношении митохондриального окисления липидов бурой жировой ткани, липокины которой, в свою очередь, препятствуют изменениям, связанным с метаболическим синдромом. Но продукция самого ирисина в мышцах идет из липоцитарного предшественника и стимулируется лептином [31]. Очевидно, что мышечная и жировая ткань формируют с печенью автономную периферическую саморегулирующуюся сеть, вступающую во взаимоотношения с центральной гипоталамической и панкреатической регуляцией метаболизма [32]. В этой сети миокины играют существенную роль и являются частичными естественными антагонистами адипокинов, частично стимулируются липокинами и взаимодействуют с липокинами и гепатокинами в поддержании оптимальной чувствительности к инсулину и перераспределении энергоресурсов в организме [33].

Миокины обеспечивают защитное протекторное действие физических упражнений в отношении заболеваний, ассоциированных с малоподвижным образом жизни.

К четко охарактеризованным миокинам относятся миостатин, LIF (Leukemia Inhibitory Factor или фактор подавления лейкемии), IL-6, IL-7, BDNF

(Brain-Derived Neurotrophic Factor или нейротрофический фактор мозга), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor или инсулиноподобный фактор роста I, соматомедин C), FGF-1 (Fibroblast Growth Factor или фактор роста фибробластов), FSTL-1 (лиганд фоллистатиноподобного белка), а также иризин.

В самое последнее время этот список пополнили биорегулятор взаимодействия мышц и кожи – ИЛ-15 и биорегулятор взаимодействия мышц и соединительной ткани – протеогликан декорин, известный как фактор ангиогенеза, стимулятор гипертрофии мышц и модулятор активности фиброгенного цитокина ТФРβ, защищающий от формирования келоидных рубцов [34].

Системное действие медиаторов воспаления характеризуется многократным фазовым увеличением в крови концентраций циркулирующих провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, природных антагонистов цитокинов и белков острой фазы, наряду с небольшим увеличением количества нейтрофилов и натуральных киллеров [35]. Эти регуляторы погружают организм в состояние вялотекущего хронического «ответа острой фазы», параллельно формируются условия для хронического стресса. Однако применение *острых* адаптивных механизмов в *хроническом* режиме по определению патогенно [36], что прямо влияет на ключевые моменты патогенеза многих хронических болезней в рамках так называемого «кластера заболеваний физической неактивности». Предполагается, что сеть миокинов выступает в качестве регуляторного аппарата, индуцированного физической нагрузкой и противодействующего провоспалительным адипокинам белого жира. Эта парадигма подводит концептуальную основу, объясняющую множественные последствия «сидячего образа жизни». Если эндокринные и паракринные функции мышцы не стимулируются сокращением, это вызовет дисфункцию ряда органов и тканей тела и повышенный риск развития метаболических нарушений, атеросклероза и его осложнений [37].

Медицинские исследования за последние четверть века выявили, что при метаболических нарушениях, вызванных гиподинамией и перееданием, имеет

место вялотекущая хроническая гиперпродукция медиаторов воспаления, в первую очередь – в жировой ткани [38], а также, по-видимому, в сосудистых стенках, что позволяет ускоряющийся в этих условиях атеросклероз трактовать как аутоиммунно-воспалительный процесс [39]. Следовательно, поиск терапевтических стратегий подавления хронического воспаления, в первую очередь – системного действия его медиаторов, и идентификации молекул, вовлеченных в эти процессы имеет большое значение как для первичной профилактики атеросклероза и ассоциированных с ним заболеваний, так и вторичной профилактики осложнений. ФН оказывает протективный эффект в отношении заболеваний, входящих в «кластер заболеваний физической неактивности», которые входят в симптомокомплекс, получивший название МС.

Таким образом, наличие абдоминального ожирения у детей и подростков, особенно в сочетании с гиподинамией и несбалансированным питанием является фактором высокого риска развития МС и ассоциированных с ним в последующие годы. При этом решающее значение для оценки степени риска развития МС в последующие годы жизни у детей и подростков могут иметь соматотип и конституционально-генетические особенности индивидов. Соматотип можно рассматривать как совокупность генетических и фенотипических маркеров, характеризующих состояние реактивности и профиль индивидуального развития [40]. Конституция включает наследственные признаки, но не является прямым отражением генотипа в силу наличия доминирования, эпистаза, неполной пенетрантности аллелей, порогового действия внешних факторов на экспрессию генов, геномного импринтинга и т.д. По сути, конституция является формой групповой реактивности, сопрягающая телосложение с определенным паттерном функционирования иммунонейроэндокринного аппарата [41]. Оценка физического развития детей и подростков в динамике, анализ значений показателей ИМТ, соотношения параметров окружности талии к окружности бедер являются важнейшим инструментом прогнозирования риска развития МС.

Несмотря на острую необходимость осуществления ранней диагностики и

первичной профилактики, как самого МС, так и управления факторами способствующих его развитию, именно в детском и подростковом возрасте, до сегодняшнего дня в практическое здравоохранение не внедрен четкий алгоритм оценки риска развития МС у детей и подростков с абдоминальным ожирением на основе комплексного клинико-генетического анализа и оценки экономической эффективности этапов маршрутизации.

В результате ранее проведенного клинико-генетического исследования детей и подростков с ожирением авторами был предложен алгоритм выявления детей и подростков, имеющих высокий риск развития МС, который на заключительном этапе завершается индивидуальными рекомендациями по лечению [42,43].

Первый этап – изучение семейного анамнеза и анализ антропометрических показателей (рост, вес, ИМТ, ОТ). Второй этап – оценка среднего уровня АД и проведение лабораторного обследования (липидный, углеводный, пуриновый обмен). Третий этап – проведение молекулярно-генетического тестирования с учётом выявленных в ходе предыдущих этапов клинико-лабораторных особенностей с формированием, по результатам всех исследований, трёх групп риска: низкого, среднего и высокого риска развития МС.

На четвёртом этапе даются рекомендации по дальнейшему ведению пациента, где, в зависимости от группы риска, определяется профилактическая либо изначально патогенетически-симптоматическая лекарственная терапия в сочетании с мерами профилактики.

В данное исследование было включено 148 человек (104 мальчика и 44 девочки) в возрасте от 6 до 18 лет (13,3±0,2 года), обладавших ожирением различной степеней: 30 человек (20,3%: 27 мальчиков и 3 девочки) имели I степень ожирения, 49 (33,1%: 32 мальчика и 17 девочек) - ожирение II степени, 57 человек (38,5%: 38 мальчиков и 19 девочек) обладали III степенью ожирения и 12 детей (8,1%: 7 мальчиков и 5 девочек) страдали IV степенью ожирения. В контрольную группу были включены 46 человек (22 мальчика и 24 девочки) в возрасте от 8 до 16 лет (12,8±0,3 года) с нормальной массой тела. В план

обследования входило: сбор и изучение анамнеза, общий осмотр, оценка антропометрических показателей (рост, масса тела, индекс массы тела (ИМТ), окружность талии (ОТ)), уровня АД, проведение ЭКГ, УЗИ щитовидной железы, почек и надпочечников. Лабораторная часть включала: биохимический анализ крови (липидный спектр, показатели углеводного обмена и обмена мочевой кислоты (МК)), оценку гормонального профиля (иммунореактивный инсулин (ИРИ), С-пептид, общий кортизол, свободный тестостерон, эстрадиол, свободный тироксин, тиреотропный гормон). 83 произвольно отобранных пациента основной группы прошли генетическое обследование с определением варианта полиморфизма генов, влияющих на регуляцию АД, уровень массы тела и обмен углеводов, а также группы генов, модулирующих обмен триглицеридов (ТГ) и липопротеидов высокой плотности (ЛПВП): I/D гена ACE, S19W гена ApoA5, G-75A гена ApoA1, SstI гена ApoC3, E2/E3/E4 гена ApoE, Trp64Arg (W/R) гена ADRB3 методом ПДРФ (полиморфизм длины рестрикционного фрагмента). [42.43].

Изучение динамики прибавки массы тела в основной группе показало, что чем старше были дети, тем большим избытком массы тела они обладали ($r=0,47$, $p<0,01$), и чем значительнее был этот избыток, тем в более раннем возрасте он начинал формироваться ($r=-0,35$, $p<0,05$) и, следовательно, более продолжительным был период его наращивания ($r=0,42$, $p<0,01$).

В результате оценки типов распределения подкожной жировой клетчатки у детей основной группы было установлено явное преобладание маркерной для МС абдоминальной формы ожирения (у 98,0% - 145 человек).

В результате оценки семейного анамнеза было установлено, что неблагоприятную наследственность по избыточной массе тела имели 86,5% детей (128 человек) основной группы, у 72,3% пациентов (107 человек) прослеживалась отягощённость по АГ, у 48,6% (72 пациента) - по ишемической болезни сердца (ИБС) и у 42,0% (62 ребёнка) - по нарушениями обмена углеводов. При этом у 54,5% детей наследственность была отягощена по двум и более диагностическим критериям МС, количество которых возрастало по мере

увеличения степени ожирения ребёнка ($p<0,05$). В контрольной группе отягощённую наследственность по факторам риска развития сердечно-сосудистых заболеваний имели: 17,4% - по ожирению ($p<0,001$), 19,6% - по АГ ($p<0,01$), 17,4% - по ИБС ($p<0,01$) и 8,6% - по нарушениям метаболизма углеводов ($p<0,001$), но никто не обладал сразу несколькими из перечисленных компонентов.

Уровень АД не превышал возрастной нормы только у 48,0% (71 человек) детей основной группы. Пограничные значения в виде высокого нормального АД имели 16,2% (24 ребёнка) обследованных. Более 1/3 детей (35,8% - 53 человека) имели повышенное АД в виде: лабильной АГ – у 8,1% и стабильной АГ – у 27,7%, что является одним из признаков МС. В результате анализа отмечено, что у детей основной группы, страдавших АГ, имелась прямая пропорциональная зависимость ($r=0,52$, $p<0,001$) между уровнем АД, степенью ожирения и ОТ ($p<0,01$). В группе контроля у 95,6% (44 ребёнка, $p<0,01$) детей АД было нормальным, и только 4,4% (2 человека) обладали высоким нормальным АД. [42.43].

По данным лабораторного обследования было отмечено, что нарушения липидного обмена достоверно чаще встречались ($p<0,001$) у детей основной группы (74,3% - 110 человек), при этом на долю типичных для МС вариантов приходилось 47,4%: 4,7% - гипо-α холестеринемия, 19,0% - гипертриглицеридемия (ГТГ) и 23,7% - сочетание ГТГ и низкого ХС ЛПВП, частота встречаемости и выраженность которого возрастала при увеличении степени ожирения и уровня АД ($p<0,05$). При этом была определена положительная связь ($r=0,5$, $p<0,01$) между уровнем ТГ и степенью ожирения и сильная отрицательная зависимость ($r=-0,81$, $p<0,001$) между концентрациями ТГ (возрастала) и ХС ЛПВП (снижалась), которая значимо изменялась ($p<0,03$) с нарастанием избытка массы тела. В то время как в группе контроля только 8,7% (4 человека) имели незначительное повышение общего холестерина.

При комплексном анализе результатов антропометрии, АД и биохимических показателей детей основной группы нами установлено, что

угрожаемыми по развитию МС (АО+1 дополнительный критерий: углеводный или липидный маркеры, либо АГ) были 29,1% (43 ребёнка). Неполный вариант МС (АО+2 дополнительных критерия) имели 20,3% (30 детей). Полный МС (АО+3 и более дополнительных критериев) был диагностирован у 16,9% (25 человек). Следует, также, отметить, что увеличение количества диагностических компонентов МС с формированием его полного варианта зависело от продолжительности накопления и степени выраженности избытка массы тела.

Анализ S19W полиморфного маркера гена ApoA5, модулирующего обмен ТГ и ЛПВП, показал, что у детей, обладавших избытком массы тела, отмечалось достоверное снижение частоты SS варианта генотипа по мере нарастания степени ожирения ($p<0,01$). А среди носителей 19W аллеля данного гена (в гетерозиготном состоянии), который связывают с нарушением обмена ТГ и ХС ЛПВП [25], патологические изменения уровней ТГ и/или ХС ЛПВП встречались достоверно чаще ($p=0,036$) по сравнению с гомозиготами 19S гена ApoA5.

Оценка генотипирования на SstI полиморфный маркера гена ApoC3, ответственного за синтез и функциональную активность одноименного апопротеина, показала, что среди детей с ожирением - гетерозигот по S2 аллелю данного гена, 53,0% обладали липидными нарушениями (ГТГ и/или гипо-α холестеринемия). При этом, более чем в половине случаев (56,0%) изменения касались сразу двух показателей - ТГ и ХС ЛПВП [42,43].

Не вызывает сомнения, что прогнозирование развития МС у детей и подростков с висциральным ожирением требует не только оценки клинических и биохимических маркеров, но и использования более широкого спектра метаболических и молекулярно-генетических маркеров. Своевременное использование результатов генетического тестирования у детей и подростков, позволяет реализовать принцип превентивности в персонализированной медицине, основанный на разработке комплекса профилактических мер, направленных на предотвращение развития МС и его осложнений.

В результате применения технологий секвенирования на сегодняшний день стало возможным выявить молекулярные механизмы развития заболеваний и

разработать план персонализированной профилактики и лечения с учетом ведущих патогенетических механизмов.

Бурное развитие персонализированной медицины, подтверждается прогнозом увеличения объема ее рынка, который к 2023 г. достигнет 87,7 млрд. долларов США [44]. Этому способствовала разработка и внедрение новых молекулярно- генетических методов исследования, прежде всего секвенирования нового поколения (NGS).

Принцип формирования группы риска развития МС у детей и подростков, имеющих абдоминальное ожирение, и тактика дальнейшего ведения пациентов нуждается в модернизации с учетом внедрения молекулярных технологий в практическое здравоохранение.

Объективная оценка риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с клиническими и лабораторными признаками МС у детей и подростков из семей с отягощенной наследственностью по атеросклерозу и ассоциированным с ним заболеваниями возможна только на основе комплексного анализа устойчивых сочетаний конституциональных, метаболических и молекулярно-генетических факторов.

По нашему мнению система профилактических осмотров в поликлиниках, детских дошкольных и школьных учреждениях на первом этапе позволяет своевременно выявлять абдоминальное ожирение у детей и подростков как ведущее звено МС, а также все его клинические и лабораторные признаки, за счет средств территориальных программ государственных гарантий системы здравоохранения. Оценка физического развития, информация об отягощенном семейном анамнезе по атеросклерозу и ассоциированным с ним заболеваниям, а также исследование рутинных биохимических показателей, таких как глюкоза, общий холестерин, ХС ЛПВП, ТГ, ЛП (а), мочевая кислота, гликированный гемоглобин, С- реактивный протеин и других лабораторных показателей, оценка статуса питания и физической активности должна проводится в поликлиниках за счет средств территориальных программ государственных гарантий. Безусловно, требуется модернизация рабочего места специалистов первичного звена путем

внедрения специализированных программ и алгоритмов, позволяющих оценивать все показатели в динамике и своевременно выявлять пациентов с МС или формировать группу высоко риска его развития.

На втором этапе, при выявлении детей и подростков с абдоминальным ожирением в сочетании в артериальной гипертензией, дислипидемией, нарушением толерантности к глюкозе, гиперурикемией, микроальбуминурией, провоспалительной и прокоагуляционной направленностью гомео- и гемостаза, необходимо продолжать обследование в медицинских учреждениях, оказывающих высокотехнологичную медицинскую помощь, в том числе и в научно-исследовательских центрах. На этом этапе требуется **использование результатов генетического тестирования как для прогнозирования течения выявленных клинических и лабораторных изменений в группах высокого риска, так и для персонализированного лечения.** Назначение лекарственного препарата, выбранного на основе индивидуальных генетических вариантов, будет способствовать повышению его терапевтической эффективности и безопасности у конкретного пациента [45].

Для координации вышеуказанных действий необходима четкая межведомственная кооперация.

Литература:

1. Козлова Л.В., Бекезин В.В., Козлов С.Б., Козлова И.С., Пересецкая О.В., Коваленко О.М. Метаболический синдром у детей и подростков с ожирением: диагностика, критерии рабочей классификации, особенности лечения.// Педиатрия.-2009- Том 88-. № 6., стр. 142-146
2. Вёрткин А.Л., Зайратьянц О.В., Звягинцева Е.И., Адонина Е.В. и др. Место метаболического синдрома в сердечно-сосудистом континууме.// Лечащий врач.- 2008.- №3.- С. 71-74.
3. Старкова Н.Т., Дворяшина И.В. Метаболический синдром инсулинорезистентности: основная концепция и следствие (обзор) Тер. Архив.- 2004.- №10.- С. 54-58.
4. Всероссийское научное общество кардиологов.// Кардиоваскулярная терапия и профилактика.- 2007.- №6 (приложение 2).- С. 6-12.
5. Подзолков В.И. Новое в диагностике и лечении артериальной гипертензии: по материалам последних рекомендаций ESH/ESC.// Фарматека.- 2007.- №19.- С. 28-38.

6. Болотова Н.В., Лазебникова С.В. Аверьянов А.П. Особенности формирования метаболического синдрома у детей и подростков.// Педиатрия.- 2007.- Том 86.- № 3.- С. 35-39.
7. Плотникова И.В., Суслова Т.Е., Желтоногова Н.М., Трушкина И.В., Ковалёв И.А. Маркеры метаболического синдрома у подростков с артериальной гипертензией.// Педиатрия.- 2007.- Том 86.- № 3.- С. 39-43. 5-9
8. Zimmet P., Alberti KG, Kaufman F. at al. IDF Consensus Group. The metabolic syndrome in children and adolescents – an IDF consensus report.// Pediatric Diabetes.- 2007.- Vol.8(5).- P. 299-306.
9. Сметник В.П. Значение жировой ткани в формировании гормонального статуса у женщин.// Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии.- 2007.- №4.- С. 6-13.
10. Мамедов М.Н., Оганов Р.Г. Необходимо ли определение инсулинорезистентности в клинической практике?// Кардиология.- 2005.- №4.- С. 92-97.
11. Мкртумян А.М., Бирюкова Е.В. Меридиа – эффективное средство для снижения веса и нормализации метаболических нарушений при ожирении и сахарном диабете 2 типа.// Эффективная фармакотерапия в эндокринологии.- 2007.- №2.- С. 16-20.
12. Завьялова Л.Г., Симонова Г.И., Денисова Д.В., Рагино Ю.И., Потеряева О.Н. Избыточная масса тела и другие компоненты метаболического синдрома в подростковой популяции Сибири.// Педиатрия.- 2009.- Том 87.- №2.- С. 147-151.
13. Wang Y., Lobstein T. Worldwide trends in childhood overweight and obesity.// International Journal of Pediatric Obesity.- 2006.- Vol.1.- P. 11-25.
14. Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты.// Под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. М.: ООО «Медицинское Информационное Агентство», 2006; 44с. 13-16].
15. Миняйлова Н.Н., Сундукова Е.Л., Ровда Ю.С. Гиперлептинемия и её клинико-метаболические ассоциации при синдроме инсулинорезистентности у детей и подростков.// Педиатрия.- 2009.- Том 88.- № 6.- С. 6-13.
16. Болотова Н.В., Лазебникова С.В. Аверьянов А.П. Особенности формирования метаболического синдрома у детей и подростков.// Педиатрия.- 2007.- Том 86.- № 3.- С. 35-39
17. Сметник В.П. Значение жировой ткани в формировании гормонального статуса у женщин.// Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии.- 2007.- №4.- С. 6-13
18. Мкртумян А.М., Бирюкова Е.В. Меридиа – эффективное средство для снижения веса и нормализации метаболических

нарушений при ожирении и сахарном диабете 2 типа.// Эффективная фармакотерапия в эндокринологии.- 2007.- №2.- С. 16-20.
19. Weiss R., Dziura J., Burgert T.S. et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents.// N. Engl. J. Med.- 2004.- Vol.350.- P.2362-74.
20. Lobstein T., Baur L., Uauy R. IASO International Obesity Task Force. Obesity in children and young people: a crisis in public health.// Obes. Rev.- 2004.- Vol.5(Supl. 1).- P. 4-104.
21. The International Diabetes Federation (IDF) consensus definition of the Metabolic Syndrome in children and adolescents.// © International Diabetes Federation.- 2007.- P. 1-22.
22. Бирюкова Е.В., Маркина Н.В. Глюкофаж – настоящее и будущее в фармакотерапии метаболического синдрома.// Эффективная фармакотерапия в эндокринологии.- 2007.- №3.- С. 12-17.
23. Одуд Е.А., Бородина О.В., Тимофеев А.В. Метаболический синдром у детей и подростков с ожирением: возможности диагностики, профилактики и лечения.// Фарматека.- 2006.- Том8(71).- С. 54-59.
24. С.И. Малявская, И.В. Дворяшина, В.А. Терновская. Метаболический инсулинрезистентный синдром: диагностика, клиническое значение, педиатрические аспекты: Монография.- Архангельск: Северный государственный медицинский университет, 2004.- 224с
25. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. Yu C, Cline GW, Zong H, Wang Y, et al. J Biol Chem 2002;277:50230-6
26. Desordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. Savage DB, Petersen KF, Shulman Gl.Physiol Rev 2007:87:507-520
27. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors: Nuclear Control of Metabolism. Desvergne B, Wahli W., End Rev, 2011
28. Abnormal glucose homeostasis in skeletal muscle–specific PGC-1α knockout mice reveals skeletal muscle–pancreatic β cell crosstalk. Spiegelman B.M., Handchin K., Choi C.S. The journal of clinical investigations, 2007
29. Mechanisms governing the health and performance benefits of exercise. D Bishop-Bailey. Br J Pharmacol. 2013 Nov; 170(6): 1153–1166
30. Pedersen B.K., Febrrario M.A. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6// Physiol Rev. 2008. Vol. 88. P. 1309–1406.

31. Raschke S., Eckel J. Adipo-Myokines: Two Sides of the Same Coin—Mediators of Inflammation and Mediators of Exercise // Mediators of Inflammation. 2013. Vol. 2013. P. 1–16.
32. The Impact of Organokines on Insulin Resistance, Inflammation, and Atherosclerosis. Kyung Mook Choi. Endocrinol Metab (Seoul). 2016 Mar; 31(1): 1–6. Published online 2016 Mar 16.doi: 10.3803/EnM.2016.31.1.1 PMCID: PMC4803543
33. Brant C., Pedersen B.K. The role of exercise induced myokines in muscle homeostasis and the defence against chronic diseases // Journal of Biomedicine & Biotechnology 2010. P. 1.
34. Skeletal muscle as a gene regulatory endocrine organ. Karstoft K1, Pedersen BK Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2016 Jul;19(4):270-5.
35. Brant C., Pedersen B.K. The role of exercise induced myokines in muscle homeostasis and the defence against chronic diseases // Journal of Biomedicine & Biotechnology 2010. P. 1.
36. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Общая патофизиология с основами иммунопатологии. СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2008. 656 с.
37. Pedersen B.K. The diseasome of physical inactivity — and the role of myokines in muscle-fat cross talk // J. Physiol. 2009. Dec. 1. P. 5559–5568
38. The Impact of Organokines on Insulin Resistance, Inflammation, and Atherosclerosis. Kyung Mook Choi. Endocrinol Metab (Seoul). 2016 Mar; 31(1): 1–6. Published online 2016 Mar 16.doi: 10.3803/EnM.2016.31.1.1 PMCID: PMC4803543
39. Role of myokines in the maintenance of whole-body metabolic homeostasis. Kostrominova TY1. Shoenfeld Y, Harats D, Wick G. (Editors). Atherosclerosis and Autoimmunity. Elsevier Publ. Amsterdam-Lausanne- New York- Shannon- Singapore-Tokyo, 2001. 370 P.
40. Никитюк Б.А. Конституция человека // Итоги науки и техники. ВИНИТИ. Сер. Антропология. 1991. № 4. 149 с.
41. Чурилов Л.П. Конституция организма как важнейшая форма групповой реактивности / Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Общая патофизиология с основами иммунопатологии. 4-е изд. СПб., 2008. С. 84–97.
42. Метаболический синдром у детей и подростков. Клинико-генетические параллели: монография / П.А. Синицын, М.Ю. Щербакова, В.И. Ларионова - Saarbrücken, LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, 2011. - 160с.
43. Щербакова М.Ю., Синицын П.А., Порядина Г.И., Хмырова А.П., Ларионова В.И., Петряйкина Е.Е., Пронина Л.А., Фомина В.Л. Генетические основы формирования обменных нарушений у детей с ожирением. // Вестник РНИМУ - 2011. - №4 - С. 26 - 31.

44. Newswire, P. Precision Medicine Market Size to Exceed $87 Billion by 2023: Global Market Insights Inc. Available at: https://www.prnewswire. com/news-releases/precision-medicine-market-size-to-exceed-87-billionby-2023-global-market-insights-inc-599454691.html. Available data 05/23/2021.
45. Malsagova K.A., Butkova T.V., Kopylov A.T. et al. Pharmacogenetic Testing: A Tool for Personalized Drug Therapy Optimization / K. A. Malsagova [et al.] // Pharmaceutics. – 2020. – Vol. 12, № 12: 1240. (116)

ТЕЗИСЫ

Содержание аутоантител против нейротензина в крови как прогностический маркер течения болезни Паркинсона

Абсалямова М.Т., Муружева З.М.*
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
*E-mail: absalyamova.mt@edu.spbstu.ru

The content of autoantibodies against neurotensin in the blood as a prognostic marker for the course of Parkinson's disease

Absalyanova M.T., Muruzheva P.V.*
Institute of experimental medicine, St. Petersburg, Russia
*E-mail: absalyamova.mt@edu.spbstu.ru

Введение: Нейротензин (NT) – это нейропептид, состоящий из 13 аминокислот, обнаруживаемый в центральной нервной системе и на периферии, в особенности в желудочно-кишечном тракте и лимфоцитах. Подобно многим другим нейропептидам, NT действует как нейромодулятор. Наиболее подробно изучены функциональные и анатомические взаимодействия между NT и дофаминергической системой. Показано, что с помощью NT может модулироваться трансмиссия дофамина. Поэтому высока вероятность того, что нейротензинергическая система может быть вовлечена в патогенез заболеваний, для которых характерно нарушение регуляции дофаминергической передачи, в частности, в патогенез болезни Паркинсона (БП).

Известно, что концентрация NT в плазме крови существенно выше у пациентов с БП, не подвергавшихся лечению, по сравнению с пациентами, получавшими терапию препаратами леводопы, и с контролем. Таким образом, предполагается, что измерения NT могут представлять собой легко определяемый дополнительный показатель для прогнозирования течения БП. Также диагностическим потенциалом может обладать показатель количества антител против NT. В связи с этим, целью данной

работы являлось определение содержания IgG против NT в плазме крови пациентов с БП.

Материал и методы: Использован протокол для проведения иммуноферментного анализа с вторичными антителами [doi: 10.1007/978-1-61779-310-3_19], позволяющий определение общего содержания антител и содержание свободных IgG против NT. Проанализированы 48 образцов крови пациентов с БП в возрасте от 44 до 87 лет (20 мужчин и 28 женщин), со стадией заболевания от 1.0 до 3.0 по шкале Хен и Яра, и 48 неврологически здоровых добровольцев, подобранных по возрасту и полу. Пациенты с БП поделены на три подгруппы в зависимости от дозы амантадина: 1) БПА0, не принимавшие амантадин (n = 27); 2) БПAL, принимавшие амантадин в малых (100–200 мг/сутки) дозах (n = 8); 3) БПАН, принимавшие амантадин в высоких (300–400 мг/сутки) дозах (n = 13). Значимость различий устанавливали с помощью критерия Стьюдента; вычисляли коэффициент корреляции Спирмена, уровень статистической значимости различий: $p < 0{,}05$.

Результаты: Показано, что содержание как общих, так и свободных IgG против NT в контроле выше, чем у пациентов с БП (t = 4.63, $p = 0{,}0001$ для общих и t = 5.83, $p = 0.0001$ для свободных). Отношение уровня общих к уровню свободных антител также было ниже у пациентов с БП (t = 5.53, $p = 0{,}0001$). Статистически значимая связь между уровнями IgG и возрастом не обнаружена ни у пациентов с БП (R = - 0,09), ни в контроле (R = - 0,11). В обеих группах не обнаружены половые различия в уровне IgG (t = - 0.03 при БП и t = 0.05 в контроле).

Также изучена связь между уровнем IgG и приемом противопаркинсонических лекарственных средств. Пациенты с БП были поделены на три подгруппы в зависимости от дозы леводопы: 1) $БП_{L\text{-}dopa0}$, не принимавшая леводопу (n = 16); 2) $БП_{L\text{-}dopa\ L}$, принимавшая леводопу в

малых (187,5–600 мг/сутки) дозах (n = 15); 3) $БП_{L\text{-}dopa\ H}$, принимавшая леводопу в высоких (600–1200 мг/сутки) дозах (n=17). Обнаружено, что использование леводопы влияет на уровни как общих (F[2;45] = 13.1, p = 0.0003), так и свободных (F[2;45] = 14.86, p = 0,0001) IgG, но не на отношение между ними (F[2;45] = 1.7, p = 0.19). Множественное сравнение показало, что у всех пациентов, принимавших леводопу в дозах 600 мг/сутки и более, содержание общих IgG против NT выше, чем у пациентов, принимавших лекарство в меньших дозах или не принимавших вовсе ($БП_{L\text{-}dopa\ L}$ *vs.* $БП_{L\text{-}dopa\ H}$, p = 0,018 и $БП_{L\text{-}dopa0}$ *vs.* $БП_{L\text{-}dopa\ H}$, p = 0,0001 соответственно). Уровни свободных IgG также значимо выше у пациентов, принимавших высокие дозы леводопы ($БП_{L\text{-}dopa0}$ *vs.* $БП_{L\text{-}dopa\ H}$, p = 0,0001, $БП_{L\text{-}dopa0}$ *vs.* $БП_{L\text{-}dopa\ L}$, p = 0,04 и $БП_{L\text{-}dopa\ L}$ *vs.* $БП_{L\text{-}dopa\ H}$, p = 0,02 соответственно).

Было обнаружено, что использование амантадина существенно влияет на уровни как общих (F[2;45] = 10,14, p = 0,0002), так и свободных (F[2;45] = 10,06, p = 0,0002) IgG, но не на отношение между ними (F[2;45] = 0,28, p = 0,76). Множественное сравнение показало, что у принимавших амантадин пациентов уровни как общих, так и свободных IgG выше, чем у пациентов, не принимавших лекарство вовсе ($БП_{A0}$ *vs.* $БП_{AL}$, p = 0,001 и $БП_{A0}$ *vs.* $БП_{AH}$, p = 0,008 соответственно для общих IgG; $БП_{A0}$ *vs.* $БП_{AL}$, p = 0,001 и $БП_{A0}$ *vs.* $БП_{AH}$, p = 0,006 соответственно для свободных IgG).

Заключение: Показано, что развитие БП сопровождается снижением уровня антител против NT в плазме крови, причем при приеме амантадина и высоких доз леводопы данный показатель значимо повышается. Таким образом, уровень содержания антител IgG против нейротензина в плазме крови пациентов с болезнью Паркинсона может рассматриваться как прогностический маркер прогрессирования данного заболевания.

Изменения экспрессии белков воспаления и их роль в патогенезе фармакорезистентной эпилепсии у человека

Бажанова Е.Д.[1,2,3], Литовченко А.В.[2], Забродская Ю.М.[1,4,5]*
[1] Научно-клинический центр токсикологии им. С.Н. Голикова, Санкт-Петербург, Россия,
[2] Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия,
[3] Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия,
[4] Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. А.Л. Поленова – филиал ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия
[5] Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия
[*]E-mail: bazhanovae@mail.ru

Changes in the expression of inflammatory proteins and their role in the pathogenesis of drug-resistant epilepsy in humans

Bazhanova E.D.[1,2,3], Litovchenko A.V.[2], Zabrodskaya Yu.M.[1,4,5]*
[1] Golikov Research Center of Toxicology, St. Petersburg, Russia;
[2] Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia;
[3] Astrakhan State University, Astrakhan, Russia; [4] Polenov Neurosurgical Institute, Almazov National Medical Centre, St. Petersburg, Russia; [5] Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russia
[*]E-mail: bazhanovae@mail.ru

Введение: Эпилепсия - одно из самых распространенных заболеваний нервной системы, характеризующееся повторными относительно стереотипными припадками [1]. Число пациентов с диагностированной фармакорезистентной формой эпилепсии (ФРЭ), требующей хирургического лечения, составляет 30% от общего числа больных и только в 60% случаев приводит к положительному результату [2]. Эти данные подтверждают острую необходимость в поиске новых патогенетических механизмов эпилепсии. Наличие нейровоспаления показано у больных с другими нейродегенеративными заболеваниями.

Определение биомаркеров нейровоспаления и нейродегенерации является перспективным направлением в диагностике ФРЭ [3].

Цель: Выявление молекулярных механизмов нейровоспаления в патогенезе фармакорезистентной эпилепсии у человека.

Материалы и методы: В исследовании приняли участие 42 пациента с ФРЭ. Материалом для исследования служила кровь от больных эпилепсией и контрольной группы (здоровые добровольцы, n=15), проведено количественное определение цитокинов, хемокинов и факторов роста человека в сыворотке крови на аппарате MagPix, Merck (Millipore). Для проведения иммуноблоттинга были взяты образцы височной коры и белого вещества этих же пациентов, полученные интраоперационно. В качестве группы сравнения использовались образцы тканей коры и белого вещества височной доли 12 пациентов без эпилепсии, полученные интраоперационно.

Результаты и обсуждение: В исследуемых образцах содержание провоспалительного IL-1β и его антагониста антиконвульсанта IL-1RA не отличалось от содержания их у здоровых людей. Выявленный дефицит IL-2, а также повышенное содержание TNF-α свидетельствуют о нейровоспалении. Обнаруженное увеличение в системной циркуляции пациентов с ФРЭ содержания провоспалительных TNFα, IL-7 с компенсаторным увеличением концентрации противовоспалительного IL-4, вероятно, отражает реакцию клеток врожденного иммунитета и эпителия, ассоциированную с повреждением тканей головного мозга. Интенсивный синтез IL-5 и умеренная эозинофилия может говорить об аутоиммунном ответе вследствие контакта с антигенами мозга. Выявлено наличие высокого уровня воспалительного маркера TNFα у больных ФРЭ непосредственно в тканях мозга (как в коре, так и в БВ), а также FAS-L и его рецептора FAS. Эти провоспалительные медиаторы участвуют помимо

воспаления в запуске программы апоптоза. Однако дополнительный процесс активации NF-kB p65 в очаге, который запускает экспрессию антиапоптотических белков, приводит не к апоптозу в эпилептическом очаге, а к развитию воспаления. В перифокальной зоне, наоборот, преобладают апоптотические процессы.

Заключение: Интенсивная экспрессия TNF-α, FAS-L и FAS-R в головном мозге свидетельствуют о нейровоспалении, которое может являться причиной апоптоза в очаге эпилепсии и, как следствие, снижения числа нейронов. Нейровоспаление влияет на прогрессирование эпилепсии, создавая условия для развития и поддержания патологии. Создание цитокинового профиля пациента с ФРЭ может помочь в ранней диагностике развития лекарственной резистентности.

Список литературы:

1. Gromov SA. Resolved epilepsy: an updated insight. Epilepsy and paroxysmal conditions 2019, 11:21-26
2. Hader WJ. Complications of epilepsy surgery: A systematic review of focal surgical resections and invasive EEG monitoring. Epilepsia 2013, 54:840–847
3. Löscher W. Structural, Molecular, and Functional Alterations of the Blood-Brain Barrier during Epileptogenesis and Epilepsy: A Cause, Consequence, or Both? International journal of molecular sciences 2020, 21:591

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-015-00127).

Генотоксические эффекты в лимфоцитах периферической крови у жителей Кемеровской области больных раком легкого и раком молочной железы

Баканова М.Л.[1,2,3], Тимофеева А.А.[1], Минина В.И.[1,3]*
[1] Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук, Кемерово, Россия
[2] Кемеровский Государственный медицинский университет Минздрава России, Кемерово, Россия
[3] Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия
[*]E-mail: mari-bakano@ya.ru

Genotoxic effects in blood cells of lung and breast cancer patients of the Kemerovo region

Bakanova M.L. [1,2,3], Timofeeva A.A.[1], Minina V.I. [1,3]*
[1] Federal State Budget Scientific Institution «The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences»,
[2] Kemerovo State Medical University,
[3] Kemerovo State University
[*]E-mail: mari-bakano@ya.ru

Введение: Рак представляет собой сложное генетическое и эпигенетическое заболевание. Распространенными онкопатологиями являются рак легкого (РЛ) и рак молочной железы (РМЖ). Подтвержденным биомаркером генотоксического воздействия, отражающим индивидуальную чувствительность к воздействию факторов окружающей среды является частота хромосомных аберраций (ХА) в периферических лимфоцитах человека [1].

Цель работы: изучение хромосомной нестабильности в клетках периферической крови у больных РЛ и РМЖ.

Материалы и методы: Обследованы первично обратившиеся для диагностики и лечения в ГБУЗ Кузбасский клинический онкологический диспансер 98 женщин (диагноз РМЖ, средний возраст - 59 лет), 1114 человек (диагноз РЛ, 973 мужчин, 141 женщина, 882 курящих, средний возраст - 59 лет) и 711 (353 мужчины, 358 женщин, 218 курящих, средний

возраст - 50 лет) здоровых доноров Кемеровского областного центра крови. Материалом для исследования послужила цельная периферическая кровь. Культивирование лимфоцитов крови для получения препаратов хромосом осуществляли по стандартному полумикрометоду [2]. Статистическая обработка материала проводилась с использованием «Statistica 10.0» (StatSoft, Inc., USA).

Результаты и обсуждение: Установлено, что средняя частота ХА у больных РЛ значимо выше, чем у группы сравнения (3.18±0.06% против 2.00±0.08%, p=0.000001), как по уровню аберраций хроматидного типа (1.97±0.49% против 1.60±0.07 %, p=0.00004), так и по уровню аберраций хромосомного типа (1.51±0.13% против 0.42±0.03%, p=0.003765). Анализ уровня ХА обследованных в зависимости от пола и курения также выявил значимые отличия у мужчин (3.24±0.07% против 1.98±0.10%, p=0.000001), у женщин (2.75±0.15% против 2.10±0.16%, p=0.006), у курящих (3.29±0.07% против 2.07±0.12%, p=0.000001), у некурящих (2.27±0.13% против 1.94±0.12, p=0,000001). При этом достоверных различий по уровню цитогенетических повреждений внутри обеих группах выявлено не было. Полученные результаты согласуются с данными литературы. Повышенная частота хромосомных повреждений у онкобольных была обнаружена в ряде исследований [3-5].

Далее были проанализированы цитогенетические показатели у больных РМЖ. Установлено, что у больных РМЖ чаще, чем у здоровых, регистрировались аберрации хроматидного (1.96±1.64% против 0.94±1.29%, p=0.000002) и хромосомного (1.96±1.64% против 0.94±1.29%, p=0.000002) типов.

Полученные данные о накоплении ХА у больных РМЖ согласуются с результатами выполненных ранее цитогенетических исследований.

Например, Vodenkova et al. выявили связь аберраций хромосомного и хроматидного типов у больных РМЖ [3].

Заключение: Таким образом, накопление повреждений хромосом разных типов в лимфоцитах периферической крови онкологических больных отражает высокую интенсивность мутационного процесса.

Список литературы:

1. Бочков Н. П., Чеботарев А. Н., Катосова Л. Д. и др. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных аберраций в культуре лимфоцитов периферической крови человека. Генетика. 2001, .37(4): 549-557.
2. Bucton K. E., Evans H. J. Methods for the analysis of human chromosome aberrations // WHO. Geneva, 1993. 66 p.
3. Vodenkova S., Polivkova Z., Musak L. et al. Structural chromosomal aberrations as potential risk markers in incident cancer patients. Mutagenesis 2015, 30(4): 557-563.
4. Исламов ЗС, Гильдиева МС, Усманов РХ. Анализ цитогенетических изменений и их роль в ранней диагностике ретинобластомы. Практическая медицина. 2015; 1: 137-139.
5. Vodicka P, Polivkova Z, Sytarova S et al. Chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes of newly diagnosed cancer patients and healthy controls. Carcinogenesis. 2010. 31: 1238-1241.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания № ГЗ 0286-2022-0008

Изучение бактериального состава мокроты больных хроническим пылевым бронхитом и его связи с повреждением хромосом в лимфоцитах периферической крови

Баранова Е.Д.[*], *Дружинин В.Г.*
Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия
[*]E-mail: laveivana@mail.ru

The study of the bacterial composition of the sputum of patients with chronic dust bronchitis and its relationship with chromosome damage in peripheral blood lymphocytes

Baranova E.D.[*], *Druzhinin V.G.*
Kemerovo State University, Kemerovo, Russia
[*]E-mail: laveivana@mail.ru

Введение: Хронический пылевой бронхит (ХПБ) является профессиональной патологией, возникающей у шахтеров угледобывающих предприятий в результате длительного вдыхания угольно-породной пыли в повышенных концентрациях. Угольная пыль является основной производственной вредностью, работники угольной индустрии подвергаются вдыханию обширного комплекса токсических веществ угольной пыли, таких как полициклические ароматические углеводороды, радон и продукты его распада, диоксид кремния, оксид углерода, фенол, сероводород, бензол и др. Вещества угольной пыли в легких поглощаются макрофагами; погибая, макрофаги выделяют в межклеточный матрикс активные формы кислорода (АФК) и литические ферменты. АФК реагируют с белками, липидами и ДНК, что приводит к ряду патологических состояний, в частности, к воспалению дыхательных путей. Свой вклад в процесс воспаления может вносить бактериальный микробиом, к настоящему времени описаны механизмы индукции окислительного стресса, мутагенного действия бактериальной микробиоты, включая прямое повреждение ДНК в клетках хозяина, задержку репликации и снижение эффективности репарации [1].

Цель исследования состояла в изучении связи между составом микробиома мокроты и уровнем повреждений хромосом в лимфоцитах периферической крови пациентов с ХПБ.

Материал и методы: Бактериальный состав мокроты и уровень хромосомных повреждений изучен у 22 действующих шахтеров (мужчины, средний возраст 56.9 ± 7.76 лет) со стажем работы не менее 17 лет, что может быть свидетельством того, что заболевание ХПБ было получено во время работы на шахте. В качестве группы сравнения были выбраны 22 мужчины, сходных по возрасту (средний возраст 56.4 ± 5.04 лет), никогда не имевших профессиональных вредностей и заболеваний дыхательных путей.

Микроядерный тест (МЯ) и анализ хромосомных аберраций (ХА) проводили согласно классическим протоколам [2, 3]. Образцы бактериальной ДНК экстрагировали с помощью набора FastDNA Spin Kit For Soil (MP Biomedicals). Амплификацию и секвенирование региона V3-V4 16S рРНК проводили согласно протоколу Illumina «Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System».

Результаты: Микробиом мокроты пациентов с ХПБ, по сравнению с контрольными донорами, имел статистически значимое снижение альфа-разнообразия согласно индексу Шеннона (H = 9.795, p = 0.0017). Также были обнаружены статистически значимые различия в структуре бактериальных сообществ (бета-разнообразие), в образцах мокроты больных ХПБ и здоровых лиц с использованием матрицы различий построенной по методу Bray-Curtis, (псевдо-F = 2.11, p = 0.002). В мокроте больных ХПБ обнаружено статистически значимое увеличение численности рода *Streptococcus* по сравнению с контрольной группой (29.97±3.03 против 18.78±2.47, p = 0.003). Результаты цитогенетического анализа показали статистически значимое увеличение доли аберрантных

метафаз у больных ХПБ по сравнению с контролем (3.41 ± 0.44% против 1.84 ± 0.28%, p <0.01), и отсутствие различий по частоте лейкоцитов с МЯ между исследуемыми группами (1.28±0.14% против 1.11±0.12%). Корреляционный анализ показал значимую прямую связь между частотой ХА и содержанием в мокроте пациентов с ХПБ представителей рода *Bacteroides* (p <0.04).

Заключение: По итогам исследования таксономический состав бактериальной микробиоты мокроты больных хроническим бронхитом, возникшим в результате длительной профессиональной экспозиции угольной пылью, имеет свои особенности, отличающие его от микробиома здоровых доноров. Эти особенности заключаются в снижении альфа-разнообразия и статистически значимым различием бета-разнообразия бактериальных сообществ. Обнаружена прямая связь между содержанием в мокроте представителей типа *Bacteroidetes и* рода *Bacteroides* и частотой структурных повреждений хромосом в лейкоцитах крови пациентов с ХПБ.

Список литературы:

1. Lemercier C. When our genome is targeted by pathogenic bacteria. Cell Mol Life Sci 2015, 72:2665
2. Fenech M. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. Mutat Res 2003, 534: 65
3. Hungerford PA. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl. Stain Techn 1965, 40:333

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ №18-14-00022п.

Увеличение активности лизосомных ферментов при селективном ингибированиии LRRK2 в первичной культуре макрофагов пациентов с болезнью Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене *GBA*

Башарова К.С.[1], Безрукова А.И.[1], Николаев М.А.[1,2], Милюхина И.В.[2,3], Байдакова Г.В.[4], Захарова Е.Ю.[4], Пчелина С.Н.[1,2], Усенко Т.С.[1,2]*

[1] Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

[2] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

[3] Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург, Россия

[4] Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия

[*]E-mail: kbasharova@yandex.ru

An increase in lysosomal enzyme activities upon selective inhibition of LRRK2 in the primary culture of macrophages from patients with Parkinson's disease associated with mutations in the *GBA* gene

Basharova K.S.[1], Bezrukova A.I.[1], Nikolaev M.A.[1,2], Miliukhina I.V.[2,3], Baydakova G.V.[4], Zakharova E.Y.[4], Pchelina S.N.[1,2], Usenko T.S.[1,2]*

[1] Petersburg Nuclear Physics Institute na B.P. Konstantinov of NRC «Kurchatov Institute», Molecular and radiation biophysics division, Gatchina, Russia

[2] Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Researcher center, St. Petersburg, Russia

[3] Institute of the Human Brain RAS, Department of neurology №2, St. Petersburg, Russia

[4] Research Center for Medical Genetics, Laboratory of Hereditary Metabolic Diseases,
Moscow, Russia

[*]E-mail: kbasharova@yandex.ru

Введение: На сегодняшний день механизм гибели дофаминергических нейронов при болезни Паркинсона (БП) остается неизвестным. Как следствие, не существует нейропротекторных препаратов. Наиболее перспективной для разработки тагретной терапии БП считается форма БП, ассоциированная с мутациями в гене *GBA* (GBA-БП), - самая

распространенная форма БП с известной этиологией. Мутации в гене *GBA*, кодирующем фермент глюкоцереброзидаза (GCase), приводят к снижению активности GCase. В недавнем исследовании было показано, что ингибирование киназной активности LRRK2 ингибитором MLi-2 при гетерозиготном носительстве мутаций в гене *GBA* приводит к снижению уровня фософрилированного белка Rab10, который является субстратом LRRK2, и к увеличению активности GCase [1].

Цель настоящего исследования заключалась в оценке влияния ингибитора киназной активности LRRK2 MLi-2 на активность лизосомных ферментов в первичной культуре макрофагов пациентов с GBA-БП и неврологически здоровых индивидуумов.

Материалы и методы: В исследование были включены 3 пациента с GBA-БП и 3 индивидуума контрольной группы. Мононуклеарные клетки, полу культивировали с колоние-стимулирующим фактором макрофагов М-КСФ (Sigma-Aldrich, USA) в конечной концентрации 10 нг/мл в присутствии и без селективного ингибитора MLi-2 (Abcam, UK) в конечной концентрации 100 нм/мл. Эффективность действия MLi-2 на активность LRRK2 оценивали по соотношению нефосфориллированного к фосфориллированному белку Rab10 методом вестерн блоттинга с использованием антител MJF-R23, MJF-R21 (Abcam, UK). Активность лизосомных ферментов (альфа-галактозидаза (GLA), кислая сфингомиелиназа (ASMase), кислая альфа-глюкозидаза (GAA), альфа-L-идуронидаза (IDUA), галактозилцереброзидазы (GALC)) оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) в крови.

Результаты и обсуждение: Было показано, что при культивировании первичной культуры макрофагов пациентов с GBA-БП в присутствии MLi-2 активность GCase увеличивается в 2.26 раза по сравнению с

культивированием без ингибитора, что соответствует ранее опубликованным исследованиям [1]. В то же время, мы впервые показали увеличение активностей ферментов GALC в 2.04 раза, GAA в 1.4 раза, GLA в 1.86 раза, IDUA в 1.68 раз при культивировании первичной культуры макрофагов пациентов с GBA-БП в присутствии MLi-2. Однако, данное изменение активности лизосомных ферментов не наблюдалось в присутствии MLi-2 в контроле. Нами также было показано дозозависимое увеличение активности как GCase, так и других исследуемых ферментов при культивировании первичной культуры макрофагов в присутствии ингибитора MLi-2 на фоне увеличения уровня белка Rab10 и в то же время снижения уровня его фосфорилированной формы.

Заключение: В данном исследовании мы впервые показали влияние ингибитора киназной активности LRRK2 MLi-2 не только на активность GCase, но и на активность других лизосомных ферментов в первичной культуре макрофагов периферической крови пациентов с GBA-БП. Также была показана эффективность действия и дозозависимое увеличение активности как GCase, так и других лизосомных ферментов при культивировании первичной культуры макрофагов периферической крови человека в присутствии ингибитора MLi-2.

Литература:

1. Ysselstein D, Nguyen M, Young TJ, Severino A, Schwake M, Merchant K, Krainc D. LRRK2 kinase activity regulates lysosomal glucocerebrosidase in neurons derived from Parkinson's disease patients. Nat Commun. 2019 Dec 5;10(1):5570.

Исследование поддержано грантом РНФ №22-25-00501.

Сравнительный анализ транксриптома черной субстанции головного мозга мышей с МФТП-индуцированным паркинсонизмом и первичной культуры макрофагов пациентов с болезнью Паркинсона с дисфункцией глюкоцереброзидазы

Безрукова А.И.[1], Башарова К.С.[1], Николаев М.А.[1,2], Копытова А.Э.[1], Емельянов А.К.[1,2], Руденок М.М.[3], Шадрина М.И.[3], Сломинский П.А.[3], Усенко Т.С.[1,2], Пчелина С.Н.[1,2]*

[1] Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

[2] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

[3] Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

[*]E-mail: bz.nastya96@gmail.com

Comparative transcriptome analysis of substantia nigra in brain of mice with MPTP-induced parkinsonism and in peripheral blood monocyte-derived macrophages of patients with Parkinson's disease with glucocerebrosidase dysfunction

Bezrukova A.I. [1], Basharova K.S.[1], Nikolaeva M.A. [1,2], Kopytova A.E. [1], Emelyanov A.K. [1,2], Rudenok M.M. [3], Shadrina M.I.[3], Slominsky P.A.[3], Usenko T.S. [1,2], Pchelina S.N. [1,2]*

[1] Petersburg Nuclear Physics Institute Named by B.P. Konstantinov of National Research Center "Kurchatov Institute", Gatchina, Russian Federation

[2] Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia

[3] Institute of Molecular Genetics of National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

[*]E-mail: bz.nastya96@gmail.com

Введение: Мутации в гене *GBA*, кодирующего лизосомный фермент β-глюкоцереброзидаза (GCase), являются фактором высокого риска распространенного нейродегенеративного заболевания, болезни Паркинсона (БП), в основе патогенеза которого лежит накопление и агрегации белка альфа-синуклеина и, как следствие, гибель дофаминергических нейронов черной субстанции (ЧС) головного мозга п [1]. БП, ассоциированная с мутациями в гене *GBA* (GBA-БП), является самой распространенной формой БП с известной этиологией, причем молекулярные механизмы GBA-БП остаются неизвестными. Более того, БП

развивается только у 19% носителей мутаций в гене *GBA* к возрасту 80 лет (GBA-носители) [2]. Таким образом, выявление биомаркеров GBA-БП является актуальным.

Цель исследования: Провести сравнительный анализ транскриптома клеток ЧС головного мозга мышей с МФТП-индуцированной моделью паркинсонизма с дисфункцией GCase, вызванной посредством инъекции кондуритол-бэта-эпоксида (CBE), селективного ингибитора GCase, и макрофагов периферической крови пациентов с GBA-БП.

Материалы и методы: Для проведения данного исследования был собран банк первичной культуры макрофагов 5 пациентов с GBA-БП, 4 GBA-носителей и 4 индивидуумов контрольной группы, а также клетки ЧС головного мозга 16 мышей линии C57BL/6, которые были разделены на 4 группы в зависимости от введенного интраперитонеально препарата: с инъекцией 0.9% раствора хлорида натрия (NaCl) (контроль), с инъекцией МФТП (12мг/кг), с инъекцией CBE (100 мг/кг) и с одновременной инъекцией МФТП/CBE. Секвенирование тотальной РНК клеток ЧС мышей и макрофагов периферической крови всех индивидуумов, включенных в исследование, проводили на приборе HiSeq1500 (Illumina, США). После выравнивания прочтений на референсный геном мыши (GRCm39) и человека GRCH38 (hg38) был проведен анализ дифференциальной экспрессии генов с использованием пакета DESeq2 (v.1.30.1) в среде R (v.4.0.3). Дифференциально экспрессирующиеся гены (ДЭГ) были выбраны на основе порога кратности изменения экспрессии FoldChange (FC)>|1.5| и порогового значения $p_{adjusted} < 0.05$.

Результаты и обсуждение: Мы сопоставили дифференциальную экспрессию генов в указанных группах и выявили снижение экспрессии генов, связанных с нейрогенезом, таких как *JUNB, NR4A2, EGR1,* у пациентов с GBA-БП по сравнению с контролем, и активацию гена *Hoxb5*

в группах мышей с МФТП-индуцированным паркинсонизмом, независимо от дисфункции GCase. В тоже время как в группе пациентов с GBA-БП (*TRIM13*, *BCL6*), так и в группе мышей с МФТП-индуцированным паркинсонизмом с дисфункцией GCase (*Pdk4, Sgk, Ppp2r3d*), была выявлена активация генов, вовлеченных в PI3K-Akt-mTOR сигнальный путь, участвующий в регуляции аутофагии.

Заключение: Мутации в гене *GBA* могут приводить к дисфункции процесса аутофагии, что в свою очередь влечет за собой нарушение деградации альфа-синуклеина в клетке и развитию БП. Воздействие на PI3K-Akt-mTOR сигнальный путь может быть рассмотрено как потенциальный подход к терапии БП у носителей мутаций в гене *GBA*.

Список литературы:

1. Balestrino R., Schapira A.H.V. Parkinson disease. European Journal of Neurology 2020, 27: 27–42.
2. Balestrino R., Tunesi S., Tesei S., et al. Penetrance of Glucocerebrosidase (GBA)
   Mutations in Parkinson's Disease: A Kin Cohort Study. Journal of Movement Disorder 2020, 35: 2111–2114.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ N19-15-00315

Однонуклеотидный полиморфизм RS2900262 в гене, кодирующем шаперон Hero C9orf16, ассоциирован с риском ишемического инсульта у женщин

Бушуева О.Ю.[1], Шиленок И.В.[2], Белых А.Е.[1], Кобзева К.С.[1], Солдатова М.О.[1],*
Суровцева А.В.[1], Гуртовой Д.Е.[1], Солдатов В.О.[2], Дейкин А.В.[2]
[1] Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия
[2] Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Курск, Россия
[3] Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
Белгород, Россия
[*]E-mail: olga.bushueva@inbox.ru

Single nucleotide polymorphism RS2900262 in the gene encoding chaperone Hero C9orf16 IS associated with ischemic stroke risk in women

Ivanov A.A.[1], Petrov A.M.[1], Belov S.S.[2], Bushueva O.Yu.[1], Shilenok I.V.[2], Belykh A.E.[1], Kobzeva K.S.[1], Soldatova M.O.[1], Surovtseva A.V.[1], Gurtovoy D.E.[1], Soldatov V.O.[2], Deykin A.V.[2]*
[1] Kursk State Medical University, Kursk, Russia
[2] Kursk Emergency Hospital, Kursk, Russia
[3] Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia
[*]E-mail: olga.bushueva@inbox.ru

Введение: Несмотря на значительные усилия, предпринимаемые мировым медицинским сообществом в области профилактики и лечения ишемического инсульта (ИИ), это заболевание остается второй по значимости причиной смерти во всем мире и ведущей причиной инвалидности и снижения когнитивных функций. Одним из наиболее перспективных направлений в области исследований ИИ является изучение белков-шаперонов. Каскады ишемических и реперфузионных повреждений головного мозга, связанных в первую очередь с накоплением поврежденных ферментов и структурных белков, приводят к некрозу или запрограммированной гибели клеток. Основная функция шаперонов заключается в восстановлении третичной и четвертичной структуры поврежденных белков.

Целью исследования являлся анализ SNP rs2900262 в гене *C9orf16*, кодирующем шаперон семейства Hero, с риском развития ИИ.

Материалы и методы: В исследование были включены 1929 неродственных русских индивидуумов (861 больных ИИ и 1068 здоровых) популяции Центральной России. Исследование было одобрено Региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета. Диагноз ИИ устанавливали в остром периоде и подтверждался компьютерной томографией и/или магнитно-резонансной томографией головного мозга. Контрольную группу составили здоровые добровольцы без клинических проявлений кардио- и цереброваскулярных заболеваний и не принимающие антигипертензивные препараты. Генотипирование было выполнено методом ПЦР в режиме «реального времени» с дискриминацией аллелей с помощью Taq-Man зондов. Ассоциации генотипов с риском развития заболевания анализировали с помощью программы SNPStats, доступной онлайн (https://www.snpstats.net/start.htm). Для анализа пользовались аддитивной моделью. Ресурс GTExportal (http://www.gtexportal.org/) был применен для анализа связывания SNP с локусами количественных признаков экспрессии (eQTL).

Результаты и обсуждение: Мы не обнаружили значимых ассоциаций данного SNP с развитием ИИ в общей группе пациентов. Однако последующий анализ в зависимости от пола выявил, что данный генетический вариант связан с развитием ИИ у женщин: OR=1.69, 95% CI=1.06–2.71, p=0.028). Анализ влияния rs2900262 *C9orf16* на клинические проявления ИИ выявил, что у носителей генотипов C/T-T/T ИИ манифестирует в среднем на 2 года раньше, чем у носителей генотипа C/C (Difference = -1.82, 95% CI = -3.38 - -0,26, p=0.015).

C9orf16 (также известный как *BBLN*) не исследован в аспекте связи с риском ИИ. Однако в предыдущем исследовании было обнаружено изменение экспрессии этого гена в крови пациентов с болезнью Паркинсона, что указывает на возможную значимую роль этого гена в нейропротекции [1]. Использование ресурса GTEx Portal и поискового запроса eQTL Calculator показало, что протективный аллель C влияет на повышение экспрессии *C9orf16* в сосудах. Данный аллель также ассоциирован с повышением экспрессии *C9orf16* в двух отделах головного мозга: базальных ганглиях и мозжечке, предполагая значимую cis-eQTL-опосредованную регуляцию данного гена в патогенетически значимых для ИИ тканях. Обнаруженные полоспецифичные эффекты rs2900262 *C9orf16* относительно развития ИИ могут быть связаны с влиянием женских половых гормонов на регуляцию экспрессии *C9orf16*. Исследователями уже было показано, что экспрессия *C9orf16* может отрицательно регулироваться эстрадиолом [2].

Заключение: В данном исследовании впервые обнаружена связь rs2900262 *C9orf16* с риском ИИ и установлены полоспецифичные эффекты в проявлении ассоциации.

Список литературы:

1. Pantaleo E, Monaco A, Amoroso N, et al. A Machine Learning Approach to Parkinson's Disease Blood Transcriptomics. Genes (Basel). 2022;13(5):727.
2. Smith LC, Moreno S, Robertson L, et al. Transforming growth factor beta1 targets estrogen receptor signaling in bronchial epithelial cells. Respir Res. 2018;19(1):160.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект № 22-15-00288).

Генетические детерминанты атеросклеротического поражения коронарных артерий у пациентов с острым коронарным синдромом на Севере

Воробьев А.С.[1], Николаев К.Ю.[2], Лифшиц Г.И.[3], Коваленко Л.В.[1], Урванцева И.А.[1], Секисова В.Е.[1], Донников М.Ю.[1]*

[1] БУ ВО ХМАО – Югры «Сургутский государственный университет», Сургут

[2] НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

[3] ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

[*]E-mail: a.s.vorobyov@gmail

Genetic determinants of coronary atherosclerotic lesions in patients with acute coronary syndrome, living in the North

Vorobyov A.S.[1], Nikolaev K.Yu.[2], Lifshits G.I.[3], Kovalenko L.V.[1], Urvantseva I.A.[1], Sekisova V.E.[1], Donnikov M.Yu.[1]*

[1] Surgut State University, Surgut, Russia

[2] Research Institute of Therapy and Preventive Medicine RAS, Novosibirsk, Russia

[3] Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine RAS, Novosibirsk, Russia

[*]E-mail: a.s.vorobyov@gmail.com

Введение: В связи с тем, что распространенность клинически значимых полиморфизмов генов изофермента CYP2C19 цитохрома P450 и рецептора II типа фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2) варьирует среди различных этнических групп и различается в городах России [1, 2], представляется актуальным изучение ассоциации аллельных вариантов генов CYP2C19 и VEGFR2 с атеросклеротическим поражением коронарных артерий у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) на Севере (г. Сургут).

Цель исследования: Оценка ассоциаций аллельных вариантов гена CYP2C19 (CYP2C19*2, CYP2C19*3 и CYP2C19*17) и VEGFR2 rs2305948 с особенностями коронарного атеросклероза у пациентов с ОКС на Севере (г. Сургут).

Материалы и методы: В клиническое исследование последовательно включены 113 пациентов при поступлении в Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии Сургута. Всем пациентом была выполнена в экстренном порядке коронароангиография с последующей ангиопластикой и стентированием инфаркт-зависимой коронарной артерии. Также всем пациентам проводилось генетическое исследование: определение аллелей генов CYP2C19 и VEGFR2 методом полимеразной цепной рекции в реальном времени на приборе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, США). Статистический анализ ассоциации между признаками проводили с использованием коэффициента корреляции Спирмена (r). Межгрупповое сравнение по распределению качественных признаков проводилось с помощью критериев χ^2 Пирсона и Фишера. Для многофакторного анализа применялась бинарная логистическая регрессия. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости для отклонения нулевой статистической гипотезы (p) принимался равным 0,05. Для статистической обработки использовался пакет программ Statistica 12.0.

Результаты и обсуждение: У пациентов с ОКС, проживающих на Севере России, аллельный вариант CYP2C19*17 (*17 / *17) положительно ассоциирован с тяжестью поражения ствола левой коронарной артерии (ЛКА) ($\chi^2 = 9.81$, $p = 0.002$), а также с ее стенозом не менее 50%, значимым стенотическим поражением одной из трех основных коронарных артерий (СПКА) более 70%, либо поражением ствола ЛКА более 50% ($\chi^2 = 6.52$, $p = 0.011$), и ранее перенесенным инфарктом миокарда ($\chi^2 = 8.15$, $p = 0.004$). Регрессионный анализ продемонстрировал, что у сургутских пациентов с ОКС только аллельный вариант CYP2C19*17 (*17 / *17) коррелировал со стенозом ствола ЛКА не менее 50% (Exp (B): 11,623, 95% доверительный интервал (ДИ): 1.893 – 71.342, $p = 0.008$), а с мужским полом, возрастом,

курением и сахарным диабетом не коррелировал в отличие от данных других авторов по когортам пациентов с ОКС, проживающих в городах Сибирского Федерального Округа (СФО) – Новосибирск, Иркутск, Кемерово [1]. У больных ОКС, проживающих на Севере, аллельный вариант VEGFR2*CC прямо связан с СПКА более 70% ($\chi2 = 4.68$, $p = 0.031$), СПКА или стенозом ствола ЛКА более 50% ($\chi2 = 7.02$; $p = 0.008$. Сочетание аллельного варианта VEGFR2*CC с гиперхолестеринемией (ГХС) прямо влияет на СПКА более 70% или наличие стеноза ствола ЛКА более 50% у сургутских пациентов с ОКС (Exp (B) = 4.441, 95% ДИ 1.351 – 14.601, p = 0.014). Подобные данные продемонстрированы и у лиц с ОКС из городов СФО (Exp (B): 4.460, 95% ДИ 1.306 – 15.236. p = 0.017) [2].

Заключение: Полученные результаты свидетельствуют о наличии прямых ассоциаций аллелей CYP2C19*17 и VEGFR2*CC и выраженным стенотическим поражением коронарных артерий у пациентов с ОКС, проживающих на Севере (г. Сургут).

Список литературы:

1. Николаев К.Ю., Урванцева И.А., Батуева К.Ю., Апарцин К.А., Горохова А.В., Ганюков В.И., Кочергин Н.А., Зеленская Е.М., Лифшиц Г.И. Региональные аспекты ассоциаций полиморфизма гена CYP2C19 с коронарным атеросклерозом при остром коронарном синдроме. Российский кардиологический журнал. 2018. № 23 (10). С. 61 – 65.
2. Николаев К.Ю., Урванцева И.А., Батуева К.Ю., Апарцин К.А., Горохова А.В., Ганюков В.И., Кочергин Н.А., Зеленская Е.М., Лифшиц Г.И. Региональные аспекты связей полиморфизма гена VEGFR2 с атеросклерозом коронарных артерий при остром коронарном синдроме. Российский кардиологический журнал. 2017. №10 (150). С. 28 – 32.

Китайская акупунктура в лечении COVID-19

Гвоздевич В.Д., Бергер А.Б.*
Уральский институт китайской медицины, Екатеринбург, Россия
*E-mail: vdgvozdevich@mail.ru

Chinese acupuncture in the treatment of COVID-19

Gvozdevich V.D., Berger A.B.*
Ural Institute of Chinese Medicine, Yekaterinburg, Russia
*E-mail: vdgvozdevich@mail.ru

Интерес к методам традиционной китайской медицины (ТКМ) со стороны врачей объясняется успехами Китая в борьбе с данной патологией. В общей сложности в Китае 91,5% пациентов с коронавирусной пневмонией лечились с использованием методов традиционной китайской медицины. В 90% случаев это дало положительный результат.

На 08.06.2022 в Китае выявлено всего за всю пандемию COVID-19 случаев заражения: 2 101 049 человек, при этом умерли 14 615 человек, то есть смертность составила 0.7%. На данный момент Китай занимает 43 место среди стран по количеству случаев заражения и 56 место по случаям смерти.

При лечении COVID-19 требуется комплексное сочетание западной и китайской традиционной медициной. По классификации традиционной китайской медицины (ТСМ) для улучшения лечебной эффективности заболевание COVID-19 делят на раннюю, среднюю и восстановительную стадии. Заболевание изначально относится к синдрому «Жар-Флегма» легких. В связи с лихорадкой рекомендуются периодические холодовые и тепловые процедуры.

На ранней стадии заболевание имеет два основных типа: «мокрые легкие» и «внешний холод и внутренний жар». Основные точки акупунктуры подразделяются на 3 группы:

(1) точки элемента «Вода» - меридиана мочевого пузыря на спине - BL12, BL13, BL20;

(2) точки элемента «Металл» - толстая кишка и легкие - LI4, LI11, LU5, LU10;

(3) точки переднего срединного меридиана, меридиана элемента «Земля» - желудок – селезенка -CV6, ST36, SP6.

Дополнительные точки добавляются в зависимости от индивидуальных симптомов.

Средняя стадия характеризуется «периодическим холодом и жаром». На средней стадии сосуществуют холод, влажность и тепло, относящиеся к «смеси холод-жар» в терминах ТСМ. При этом следует применять как холодовую, так и тепловую терапию. Согласно теории ТСМ, жар следует лечить препаратами от простуды. Но лекарства от простуды ухудшают состояние энергии «Янь» и приводят к образованию холодной селезенки и желудка, а также смеси холод - жар в среднем обогревателе Цзяо. Поскольку симптомы у пациентов с COVID-19 часто наблюдается в виде «холод-жар», терапия «холод-жар» лучше, чем другие подходит для лечения.

Стадия восстановления характеризуется «дефицитом «энергии Ци» в селезенке-легком». Основные точки включают - PC6, ST36, CV12, ST25, CV6. При недостаточности Ци легких и селезенки (одышка, усталость, плохой аппетит и рвота, вздутие желудка, жидкий стул, слегка опухший язык с белым жирным налетом) применяются точки CV17, BL13, LU1, CV13, SP9. Если выражены симптомы легких, такие как стеснение в груди, одышка, добавляют точки CV17, BL13, LU1. Если выражены симптомы селезенки и желудка, такие как нарушение пищеварения, диарея, добавляют CV13, SP9. Вышеупомянутые точки можно стимулировать с

помощью иглоукалывания, прижигания, инъекций, массажа и т. д. по ситуации.

При иглоукалывании используют техники мягкого усиления и ослабления, иглы оставляются на 20-30 минут. Прижигание выполняется в течение 10-15 минут. Лечение проводится один раз в день.

В домашних условиях пациентам рекомендуется самостоятельно для профилактики и восстановления:

• Прогревание: ST36, PC6, LI4, CV8, CV6, CV4, SP6. По 10 мин. на каждую точку.

• Аппликация раздражающих кремов, паст, пластырей: ST36, PC6, CV6, CV4, BL13, BL12, BL20, GV14.

• Массаж меридианов Легких, Сердца, Селезенки и Желудка ниже колена — акупрессура, разминание, растирание, похлопывание.

В Уральском институте китайской медицины при лечении постковидного синдрома для усиления энергии Ци широко применяется метод электромагнитной стимуляция области мин-мэн «Врата жизни» в течение 60 минут.

Вывод: Только комплексное сочетание западной и китайской традиционной медицины позволит получить положительный результат в лечении больных с COVID-19.

Китайская медицина в подготовке врача-специалиста

Гвоздевич В.Д.[*], *Бергер А.Б.*
Уральский институт китайской медицины, Екатеринбург, Россия
[*]E-mail: vdgvozdevich@mail.ru

Chinese medicine in the training of a medical doctor

Gvozdevich V.D.[*], *Berger A.B.*
Ural Institute of Chinese Medicine, Ekaterinburg, Russia
[*]E-mail: vdgvozdevich@mail.ru

Сегодня интерес к методам оздоровления традиционной китайской медицины (ТКМ) возрастает как со стороны врачей, так и населения России. Ее выдающиеся результаты пропагандируют СМИ, китайские клиники и фармацевтические фирмы открыты во всех российских мегаполисах. Можно сказать, что тема ТКМ сегодня «у всех на слуху». При этом общественные оценки, - да и само понимание ТКМ в России, - самые противоречивые, от панегирических восхвалений до полного отрицания.

Китай же продолжает ускоренными темпами развивать ТКМ, улучшая образование и наращивая финансовую поддержку и интеграцию ТКМ и западной медицины. Согласно циркуляру, выпущенному Генеральной канцелярией Госсовета КНР, медицинские работники и связанные с медициной департаменты должны получить опыт работы с традиционной китайской медициной, а также продвигать всестороннее и скоординированное развитие традиционной и западной медицины в Китае. Циркуляр также предлагает несколько конкретных проектов, направленных на ускорение развития ТКМ, с упором на такие аспекты, как повышение квалификации врачей, создание исследовательских платформ и улучшение сырья для медицины.

Правительство Китая опубликовало новый пятилетний план развития ТКМ. Согласно плану, опубликованному Генеральной канцелярией Госсовета КНР, к 2025 году потенциал медицинских услуг,

предоставляемых ТКМ, будет значительно расширен, в то время как политика и система для высококачественного развития ТКМ будут совершенствоваться, а ее уникальные преимущества в построении здорового Китая будут полностью реализованы.

В плане изложены ключевые задачи, которые необходимо выполнить в течение этого периода, такие как создание надежной системы обслуживания ТКМ, подготовка специалистов в области ТКМ и разработка высокоуровневой системы наследования, защиты и инноваций в ТКМ. В плане также подчеркивается необходимость сочетания ТКМ и современной науки и интеграции китайской и западной медицины для лучшей защиты здоровья людей.

Китайская традиционная медицина и западная медицина - абсолютно разные дисциплины. При этом китайская медицина основана на принципе строения человека из трех тел: физического, энергетического, психического и движении трех энергий - цзин, ци, шень. Западная медицина основные усилия сосредоточила на изучении физического тела. В 21 веке пришло понимание уровней материи китайской медицины и западной медицины

Механизмы реализации приемов традиционной китайской медицины объясняются законами квантовой физики, - элементарные частицы (фотон, электрон, электромагнитные поля и т.д.), - тогда как западная медицина в основном опирается на классическую физику Ньютона (атом, молекула, клетка, орган и т.д.). Отсюда и разная методология этих дисциплин.

В китайской традиционной медицине имеются понятия Инь и Ян, энергия Ци, теория Цзан и Фу органов, теория У-син, паттерны, понятия жар-холод,избыток-недостаток энергии,пустота-полнота и т.д. Этих понятий нет в западной медицине. Более того, никогда не изучающие китайскую медицину, западные врачи называют ее псевдонаукой.

В обучении китайской традиционной медицины принята определенная последовательность в овладении теоретическими и практическими знаниями. В Уральском институте китайской медицины на основе программы Пекинского университета китайской медицины с 2015 гола разработаны и внедрены 2 программы дополнительной подготовки российских врачей традиционной китайской медицины.

Одна программа рассчитана на пять лет и включает обязательное изучение китайского языка и прохождение практики в Китае. Другая программа (без китайского языка) - годовая и рассчитана на 10 модулей. Она включает изучение методологии китайской медицины, анатомию китайской медицины, диагностику, паттерны, китайскую фармацию и методы лечения. Для слушателей без западной медицинской подготовки, согласно международной программе ВОЗ, обязательным является прохождения модулей по анатомии западной медицины-системной анатомии и клинической топографической анатомии. В результате такой подготовки слушатели получают возможности провести оценку состояния пациента с помощью дополнительных методов-пульсовая диагностика, диагностика по языку и т. д.

Кроме того, в арсенале врача появляются достаточно простые методы восстановления здоровья пациента: акупунктура, прижигания, банки, кровопускания и т.д.

Сочетание китайской акупунктуры с китайской фармацией, цигун и другими оздоровительными приемами позволит существенно усилить достижения западной медицины в увеличении продолжительности жизни российских граждан.

Клеточная платформа для скрининга *in vitro* фармакологических препаратов для терапии болезни Паркинсона, ассоциированной с мутацией в гене *GBA*

Григорьева Е.В.[1], Дроздова Е.С.[1,2], Павлова С.П.[1], Сорогина Д.А.[1,2], Ибатуллин Ф.М.[3], Емельянов А.К.[3], Байдакова Г.В.[4], Захарова Е.Ю.[4], Пчелина С.Н.[3], Медведев С.П.[1], Закиян С.М.[1]*

[1] Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;

[2] Новосибирский государственный научно-исследовательский университет, Новосибирск, Россия;

[3] Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Россия;

[4] Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

[*]E-mail: evlena@bionet.nsc.ru

Cellular platform for *in vitro* screening of pharmacological agents for the therapy of Parkinson's disease associated with *GBA* gene mutation

Grigoreva E.V.[1], Yarkova E.S.[1,2], Pavlova S.P.[1], Sorogina D.A.[1,2], Ibatullin F.M.[3], Emelyanov A.K.[3], Baydakova G.V.[4], Zakharova E.Y.[4], Pchelina S.N.[3], Medvedev S.P.[1], Zakian S.M.[1]*

[1] Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

[2] Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;

[3] Petersburg Nuclear Physics Institute na B.P. Konstantinov of National Research Center «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia;

[4] Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

[*]E-mail: evlena@bionet.nsc.ru

Введение: Такое нейродегенеративное заболевание, как болезнь Паркинсона, является результатом гибели дофаминергических нейронов чёрной субстанции. Одной из причин гибели нейронов являются гетерозиготные мутации в гене *GBA*, вызывающие снижение активности фермента глюкоцереброзидазы (GCase), что приводит к накоплению в лизосомах сфинголипидов, способствующих формированию телец Леви. Перспективной терапией этого заболевания является использование фармакологических шаперонов (ФШ), стабилизирующих конформацию GCase и повышающих её активность.

Цель исследования: Разработка клеточной модели на основе пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток и их нейральных производных для тестирования фармакологических препаратов для терапии болезни Паркинсона, вызванной мутацией в гене *GBA*.

Материалы и методы: Мононуклеарные клетки периферической крови двух пациентов, несущих мутацию c.1226A>G (p.N370S, rs76763715) в гене *GBA*, были подвергнуты репрограммированию с помощью трансфекции на приборе Neon Transfection System эписомными векторами, экспрессирующими факторы репрограммирования (OCT4, KLF4, L-MYC, SOX2, LIN28, Trp53). Из индивидуальных колоний клеток получены линии ИПСК и проведена их детальная характеристика (кариотипирование, иммунофлуоресцентное окрашивание на маркёры плюрипотентных клеток и дифференцированных производных трёх зародышевых листков, ПЦР в реальном времени на маркёры плюрипотентности). С помощью ростовых факторов и ингибиторов проведена направленная нейрональная дифференцировка полученных ИПСК и ИПСК от условно здоровых пациентов, в узкоспециализированные дофаминергические нейроны. Оценку эффективности дифференцировки осуществляли иммунофлуоресцентным анализом экспрессии специфических маркёров (TH, LMX1A). На полученных нейральных производных, несущих мутацию в гене *GBA,* и нейронах от условно здоровых пациентов методом ПЦР в реальном времени исследовали уровень экспрессии фермента GCase. В течение 21 дня провели культивирование нейральных производных в присутствии ФШ, таких как амброксол и NCGC00241607. В данных клетках до и после сокультивирования с ФШ была проведена оценка активности GCase методом жидкостной хроматографии совместно с тандемной масс-спектрометрией (LC-MC/MC) с использованием

субстратов и внутренних стандартов Centers for Disease Control and Prevention (Atlanta, GA, USA).

Результаты и обсуждение: Экзомное секвенирование выявило двух пациентов с мутацией p.N370S в гене *GBA*, мононуклеарные клетки которых были репрограммированы к плюрипотентному состоянию, в результате чего получены линии ИПСК. В процессе культивирования выбраны по 3 линии от каждого пациента и проведена их детальная характеристика. Клетки имеют нормальный кариотип. Иммунофлуоресцентный анализ, кПЦР и тест на спонтанную дифференцировку подтверждают плюрипотентность линий. В результате направленной дифференцировки полученных линий ИПСК с мутацией в гене *GBA* и контрольных линий ИПСК получены нейральные производные. Иммунофлуоресцентная окраска подтвердила наличие в культуре релевантных типов клеток – дофаминергических нейронов.

Заключение: Показано, что уровень экспрессии и активность GCase в нейральных производных, полученных из ИПСК пациентов с мутацией в гене *GBA* статистически значимо снижены по сравнению с контрольными линиями. Однако культивирование в присутствии фармакологических шаперонов вызывает повышение активности фермента, что говорит об исправлении патологии в мутантных клетках и перспективности использования данных препаратов в терапии болезни Паркинсона. Таким образом, получена перспективная клеточная модель GBA-ассоциированной формы болезни Паркинсона, на которой можно проводить скрининг потенциальных медицинских препаратов.

Работа поддержана грантом РНФ №19-75-20063

Персонализация терапии расстройств шизофренического спектра на основе индивидуальных особенностей нейротрансмиссии

Грунина М.Н.[1], Заботина А.М.[1,2], Насырова Р.Ф.[3], Ершов Е.Е.[4], Крупицкий Е.М.[3], Тараскина А.Е.[1,2,3]*

[1] Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

[2] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

[3] Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева, Санкт-Петербург, Россия

[4] Санкт-Петербургская городская психиатрическая больница №1 им. П.П. Кащенко, с. Никольское, Гатчинский район, Ленинградская область, Россия

[*]E-mail: by2306@mail.ru

Therapy personalization for schizophrenic spectrum disorders based on individual features of neurotransmission

Grunina M.N.[1], Zabotina A.M [1, 2], Nasyrova R.F.[3], Ershov E.E.[4], Krupitsky E.M.[2,3], Taraskina A.E.[1,2,3]*

[1] Petersburg Nuclear Physics Institute named by na B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Leningrad Region, Russia

[2] I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

[3] V.M. Bekhterev National Medical Research Centre of Psychiatry and Neurology, St. Petersburg, Russia

[4] P.P. Kashchenko St. Petersburg Psychiatric Hospital No. 1, Village Nikolskoe, Gatchina District, Leningrad Region, Russia

[*]E-mail: by2306@mail.ru

Введение: Расстройства шизофренического спектра (РШС) характеризуются высоким распространением в популяции, сложностью симптоматики и требуют фармакотерапии антипсихотическими препаратами [1]. Целый комплекс генетических, физиологических причин и факторов окружающей среды влияет на эффективность лечения каждого

пациента [2]. Персонализированный анализ биомаркеров заболевания позволит прогнозировать ответ пациента, индивидуально подбирать лекарственные средства и снижать частоту побочных эффектов, используя легкодоступный биоматериал - кровь и культуру мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) до начала лечения [3].

Цель исследования: Охарактеризовать показатели уровня мРНК генов и количества белка рецепторов нейротрансмиссии в МКПК и определить их роль в клиническом ответе пациентов на проводимую терапию антипсихотическими препаратами.

Материалы и методы: В исследование включены 112 пациентов мужского пола с первым эпизодом острого психоза, случайным распределением отнесенные к одной из двух групп монотерапии: оланзапин и галоперидол. Материалом служили МКПК, полученные из венозной крови пациентов в градиенте плотности Фиколла (Ficoll-Paque PLUS). Кровь для оценки показателей брали в двух временных точках: 0 и 28 день лечения. Клетки культивировали *in vitro* 72 часа в присутствии антипсихотика терапии. Уровень мРНК генов *HTR2A*, *HRH1*, *ADR1B*, *DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4*, *DRD5* определяли методом ПЦР в реальном времени с использованием флуорогенного зонда TaqMan. Количество белка дофаминовых рецепторов определяли с помощью иммуноферментного анализа (ELISA). Эффективность ответа на лечение оценивали психометрическим обследованием (0 и 28 день лечения; шкала PANSS).

Результаты и обсуждение: При культивировании МКПК в присутствии антипсихотика уровень мРНК генов *ADR1B* и *HRH1* (при терапии оланзапином) и *HTR2A* (при терапии галоперидолом) статистически значимо различался (p = 0.038 и 0.039, соответственно) между пациентами с различным по эффективности ответом на терапию. Показатели уровня мРНК всех указанных генов рецепторов на

мононуклеарных клетках статистически значимо положительно коррелировали между собой с коэффициентом более 0.8 ($p < 0.001$). При терапии галоперидолом у пациентов с РШС в МКПК наблюдали статистически значимое
снижение количества белка дофаминовых рецепторов D1 и D3 ($p = 0.001$ и 0.083, соответственно). Обнаружена статистически значимая ассоциация генетического варианта гена *DRD2* с увеличением массы тела более 7% на 28 день терапии, который может быть рассмотрен в качестве биомаркера прогноза набора массы тела при лечении антипсихотиками. Показана ассоциация снижения количества белка рецептора дофамина D1 с развитием симптомов паркинсонизма на 28 день терапии.

Заключение: Показатели уровня мРНК генов и количества белка рецепторов нейротрансмиссии МКПК, культивируемых в присутствии антипсихотического препарата, отражает ответ пациента на соответствующую терапию, и такие культуры МКПК можно использовать в качестве модели прогноза эффективности и безопасности антипсихотической терапии.

Список литературы:

1. Howes OD and Murray RM. Schizophrenia: an integrated sociodevelopmental-cognitive model. Lancet. 2014, 383(9929): 1677–1687.
2. Kaar SJ, Natesan S, McCutcheon R, Howes OD. Antipsychotics: Mechanisms underlying clinical response and side-effects and novel treatment approaches based on pathophysiology. Neuropharmacology. 2019, 172:107704
3. Levite M. Dopamine and T cells: dopamine receptors and potent effects on T cells, dopamine production in T cells, and abnormalities in the dopaminergic system in T cells in autoimmune, neurological and psychiatric diseases. Acta Physiol. 2016, 216(1):42–89.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 14-15-00904

Генетический полиморфизм CYP2C9 и CYP2C19 у детей с эпилепсией: влияние на лечение

Гузева В.И., Гузева О.В., Охрим И.В., Гузева В.В., Касумов В.Р., Ерёмкина Ю.А., Севрук Е.А.*
Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия
*E-mail: ochrim@yandex.ru

CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphism in children with epilepsy: impact on treatment

Guzeva V.I., Guzeva O.V., Okhrim I.V., Guzeva V.V., Kasumov V.R., Eremkina Yu.A., Sevruk E.A.*
St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia
*E-mail: ochrim@yandex.ru

Введение: Генетический полиморфизм во многом определяет вариабельность фармакокинетики и фармакодинамики антиконвульсантов. Его анализ и выявление ассоциаций полиморфных аллелей генов с ответом на противоэпилептическую терапию позволяет разрабатывать подходы к прецизионной медицине. Различия в скорости метаболизма противоэпилептических препаратов позволяют выделить группы индивидуумов, различающиеся по активности того или иного изофермента метаболизма. Предполагается, что определение аллелей в генах, участвующих в метаболизме противоэпилептических препаратов позволит учитывать индивидуальную чувствительность, уменьшить число резистентных форм и нежелательных эффектов у детей с эпилепсией [1,2]. Исследование полиморфизма гена цитохромов CYP2C9 и CYP2C19 (локусы 10q24/1-24/3) имеет важное значение в изучении метаболизма антиконвульсантов [3].

Цель исследования: На основании клинико-генетического исследования, включающего определение частоты полиморфизма генов детоксикации CYP2C9 и CYP2C19, усовершенствовать диагностику и персонализацию терапии эпилепсии у детей.

Материалы и методы: Гены детоксикации CYP2C9 и CYP2C19 системы P450 изучались у 86 детей с тяжелыми формами эпилепсии. Среди обследованных детей 46 (53.5%) мальчиков и 40 (46.5%) девочек. При генотипировании использовалась ПЦР и проводился анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов с разделением фрагментов в полиакриламидном геле.

Результаты и обсуждение: Заболевание считалось резистентным у 56 (65.1%) обследованных детей. Полиморфизм исследованных генов обнаружен у 43 (50%) детей с эпилепсией. Ген *1/*1 выявлен в генотипе CYP2C9 в 56 случаях (65.1%), в генотипе CYP2C19 - в 65 случаях (75.6%), ген *1/*2 выявлен в генотипе CYP2C9 в 14 случаях (16.3%), в генотипе CYP2C19 - в 20 случаях (23.3%), ген *1/*3 выявлен в генотипе CYP2C9 в 15 случаях (17.4%) и отсутствует в генотипе CYP2C19, ген *2/*2 в генотипе CYP2C9, как и в генотипе CYP2C19, выявлен только в 1 случае (1.2%).

Монотерапия вальпроатами проводилась у 67 детей (77.9%), политерапия с участием вальпроатов - у 10 детей (11.6%), лечение другими АЭП осуществлялось у 9 детей (10.5%). Лечение 39 детей (45.35% - 45.35%) с полиморфизмом исследованных генов проводилось вальпроатами, 33 из этих детей (84.6% - 38.4%) имели резистентную форму эпилепсии, 6 (15.4%) – нерезистентную. Условная средняя суточная доза вальпротов у детей, имеющих полиморфные гены CYP2C9 и CYP2C19 (30,56 мг/кг), превышала среднюю суточную дозу вальпротов у детей, не имеющих полиморфизма этих генов (27,91 мг/кг).

У 9 из обследованных детей (10.5%) установлена эпилептическая энцефалопатия (синдромы Веста и Леннокса-Гасто). Лечение всех детей проводилось вальпроатами. Полиморфные гены CYP2C9 и CYP2C19 обнаружены у 3 детей с синдромом Веста, (42.9%) и у обоих детей с синдромом Леннокса-Гасто.

Таким образом, в 50% случаев у детей с тяжелыми формами эпилепсии выявляется полиморфизм генов CYP2C9 и CYP2C19 системы P450, и значительно чаще - у детей с резистентной формой заболевания и имеющих побочные эффекты от проводимой терапии. Эти данные необходимо учитывать при назначении лечения детей с тяжелыми формами эпилепсии, и в случаях резистентности заболевания проводить генетическое обследование детей.

Заключение: Фармакорезистентность и индивидуальная непереносимость некоторых противоэпилептических препаратов в ряде случаев ассоциируется с наличием полиморфизма генов детоксикации. Подбор фармакотерапии с учетом результатов генетического исследования, определяющего наличие или отсутствие полиморфных генов CYP2C9 и CYP2C19, позволяет повысить эффективность фармакотерапии, делая ее менее токсичной и персонифицированной.

Список литературы:

1. Шнайдер Н. А., Дмитренко Н.А., Пилюгина М.С. Фармакогенетика антиэпилептических препаратов. Бюл. сибир. Медицины. 2008, 4:111-119.
2. Klotz, U. The role of pharmacogenetics in the metabolism of antiepileptic drugs: pharmacokinetic and therapeutic implications. Clin. Pharmacokinet. 2007, 46 (4): 271-279.
3. Гузева О.В. Оптимизация диагностики и обоснование персонифицированной терапии эпилепсии у детей: дисс. …докт.мед.наук, СПб, 2014.

Холестерин экстраклеточных везикул жировой ткани при ожирении

Драчева К.В.[1,2], Побожева И.А.[1,2], Анисимова К.А.[1], Хамид З.М.[1], Гараева Л.А.[2], Баландов С.Г.[1], Василевский Д.И.[1], Пчелина С.Н.[1,2], Мирошникова В.В.[1,2]*

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

[2] Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, Национальный Исследовательский Центр «Курчатовский институт», г. Гатчина, Орлова роща, Россия

[*]E-mail: fatal-ks@mail.ru

Cholesterol of extracellular vesicles of adipose tissue in obesity

Dracheva K.V.[1,2], Pobozheva I.A.[1,2], Anisimova K.A.[1], Hamid Z.M.[1], Garaeva L.[2], Balandov S.G.[1], Vasilevsky D.I.[1], Pchelina S.N.[1,2], Miroshnikova V.V.[1,2]*

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

[2] Petersburg Nuclear Physics Institute National Research Centre "Kurchatov Institute", Gatchina, Orlova roshcha, Russian Federation

[*]E-mail: fatal-ks@mail.ru

Введение: Жировая ткань (ЖТ) является основным источником экстраклеточных везикул (ЭВ) плазмы крови, количество которых увеличивается при ожирении [1]. Экстраклеточные везикулы ЖТ могут быть вовлечены в процессы метаболизма липидов и регуляции чувствительности тканей к инсулину [2]. Было показано, что ЭВ обогащены холестерином по сравнению с секретирующей их клеткой [3], поэтому возникло предположение, что ЭВ в плазме крови могут быть альтернативным переносчиком холестерина и тем самым участвовать в его транспорте. ЖТ играет значимую роль в накоплении и обмене холестерина, однако неизвестно, как меняется содержание холестерина в ЭВ ЖТ и как оно ассоциировано с дислипидемией при ожирении.

Цель исследования: Оценка содержания холестерина в ЭВ подкожной и висцеральной жировой ткани (ПЖТ и ВЖТ) при ожирении.

Материалы и методы: Образцы ПЖТ и ВЖТ были получены в ходе оперативных вмешательств от 20 человек (средний возраст 48,8±12,2 лет):

16 пациентов с ожирением (индекс массы тела (ИМТ) > 35) и 4 пациента без ожирения (контрольная группа, ИМТ < 30). Экспланты ПЖТ и ВЖТ культивировали в течение 12 часов. ЭВ выделяли из культуральной среды методом ультрацентрифугирования с использованием центрифуги Optima L-90K (Beckman coulter, США). Определение концентрации холестерина в образцах проводили с использованием набора реагентов Amplex Red Cholesterol Assay Kit (Invitrogen), концентрации общего белка - с помощью набора Micro BCA™ Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific), согласно инструкции производителя. Содержание холестерина в ЭВ выражали в нг на мкг общего белка. Статистическая обработка данных выполнена в среде R-Studio с использованием встроенных пакетов R версии 3.6.2.

Результаты и обсуждение: Содержание холестерина было выше в ЭВ ВЖТ по сравнению с ЭВ ПЖТ ($p < 0.05$). Содержание холестерина в ЭВ ВЖТ было выше у лиц контрольной группы по сравнению с пациентами с ожирением ($p < 0.05$) и отрицательно коррелировало с показателем ИМТ ($r = -0.547$, $p = 0.019$). При этом у пациентов уровень холестерина в ЭВ ВЖТ отличался сильной вариабельностью по сравнению контрольной группой: 30.7 (5.4 – 86.0) vs 68.5 (49.8 – 84.1) нг холестерина на мкг общего белка. В то же время содержание холестерина в ЭВ ПЖТ не отличалось у пациентов с ожирением и у лиц контрольной группы. Также не были выявлены различия по содержанию холестерина в ЭВ ПЖТ и ВЖТ в зависимости от наличия у пациентов с ожирением сахарного диабета 2 типа. Не была показана корреляция содержания холестерина в ЭВ ЖТ с показателями липидного спектра плазмы крови.

Заключение: ЭВ ВЖТ отличаются более высоким количеством холестерина (из расчета на мкг общего белка) по сравнению с ЭВ ПЖТ. При ожирении, то есть с увеличением ИМТ, количество холестерина в ЭВ ВЖТ снижается.

Список литературы:

1. Stepanian, Alain, et al. "Microparticle increase in severe obesity: not related to metabolic syndrome and unchanged after massive weight loss. Obesity (Silver Spring) 2013, 21:2236-2243.
2. Huang Z., Xu A. Adipose Extracellular Vesicles in Intercellular and Inter-Organ Crosstalk in Metabolic Health and Diseases. Frontiers in Immunology 2021, 12:463.
3. Pfrieger, Frank W., and Nicolas Vitale. Cholesterol and the journey of extracellular vesicles. Journal of lipid research 2018, 59: 2255-2261.

Исследование поддержано грантом РФФИ (а 20-015-00502).

Определение мутаций в генах BRAF, *KRAS*, *HRAS* и *NRAS* в узловых образованиях щитовидной железы

Дрибноходова О.П.[1], Миронов К.О.[1], Дунаева Е.А.[1], Есьман А.С.[1], Корчагин В.И.[1], Борисова Э.В.[1], Хлявич В.Н.[2], Дауд А.И.[2], Носкова К.К.[3], Колесова Е.Н.[3], Путова М.В.[3], Лёшкина Г.В.[1]*

[1] Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

[2] ИУКП «МедАрт», Минск, Республика Беларусь

[3] ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логинова, Москва, Россия

[*]E-mail: dribnokhodova@cmd.su

The detection of mutations in BRAF, *KRAS*, *HRAS* and *NRAS* genes in thyroid nodules

Dribnokhodova O.P.[1], Mironov K.O.[1], Dunaeva E.A.[1], Esman A.S.[1], Korchagin V.I.[1],*

Leshkina G.V.[1], Borisova E.V.[1], Daoud A.I.[2], Khlyavich V.N.[2], Noskova K.K.[3], Kolesova E.N.[3],

Putova M.V.[3]

[1] Central research institute of Epidemiology of The Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, Moscow, Russia; [2] FUCE «MedArt», Republic of Belarus;

[3] GBUZ Moscow Clinical Scientific Center named after Loginov MHD, Moscow, Russia.

[*]E-mail: dribnokhodova@cmd.su

Введение: Соматические мутации в гене *BRAF* выявляют в 6-8%, а в генах *KRAS*, *HRAS* и *NRAS* – в 20-30% всех солидных опухолей. Мутации в 600 кодоне гена *BRAF* характерны для папиллярного рака (ПР) щитовидной железы (ЩЖ), а K601E и мутации в генах RAS – для фолликулярных опухолей (ФО) и фолликулярного варианта ПР. Определение мутаций может применяться для уточнения заключения при тонкоигольной аспирационной биопсии (ТАБ) и прогнозирования риска рецидива. Метод пиросеквенирования позволяет точно идентифицировать любые мутации в изучаемом участке в количественном формате.

Цель исследования: Апробация разработанного в ЦНИИЭ комплекса методик [1, 2] для выявления мутаций в генах *KRAS*, *HRAS* и *NRAS* методом пиросеквенирования.

Материалы и методы: Исследованы 292 образца от 280 пациентов, для 154 диагноз имел гистологическую верификацию, для 126 использовали цитологическое заключение. 288 образцов получены при ТАБ (89 – смывы с иглы, 193 – цитологические препараты, 6 – ТАБ в консервирующей среде), 4 – операционный материал. Тестирование проводили с использованием ранее разработанного комплекса методик и алгоритма анализа [1, 2] на приборе «PyroMark Q24». На мутации в гене *BRAF* протестированы 292 образца, *KRAS* – 104, *HRAS* – 87 и *NRAS* – 69.

Результаты и обсуждение: Выявлены 124 образца от 119 пациентов с мутациями *BRAF* (123 V600E и 1 V600_K601> E), 2 G12D в *KRAS*, 4 Q61K и 1 Q61R в *HRAS*, 3 Q61R и 1 Q61K в *NRAS*. Доля мутантных аллелей составила от 4.9 до 51%. Из 119 пациентов BRAF(+) у 78 гистологически подтвержден ПР, у 4 – NIFTP, у 1 – коллоидный зоб, у 25 цитологическое заключение Bethesda VI, у 10 – BV и у 1 – BIII. Мутации *BRAF* были выявлены у 78 из 107 пациентов с подтвержденным ПР, 4 из 7 NIFTP, 1 из 9 с доброкачественными образованиями, 25 из 33 с BVI, 10 из 19 BV, 1 из 21 BIII, у пациентов с ФО, BIV и BII мутации *BRAF* не обнаружены. Из 11 пациентов с мутациями в генах RAS у 1 подтвержден фолликулярно-солидный вариант ПР, у 1 – фолликулярный вариант ПР, у 2 – ПР неуточненный, у 1 – аденоматозный узел, по 2 с заключениями BIV и BV и по 1 с BVI и BIII. В одном образце BVI одновременно выявлены мутации *BRAF* V600E (30%) и *NRAS* Q61R (6.6%). Диагностическая чувствительность определения мутаций в гене *BRAF* в узловых образованиях ЩЖ составила 91%, специфичность – 69%.

В 65 образцах с цитологическими заключениями BIII, IV и V с установленной гистологией выявлены 20 мутаций V600E (16 при BV и 4 при BIII, из них ПР подтвержден у 18, NIFTP и коллоидный зоб – 1) и 1 Q61K в *HRAS* при BIV (гистологически определен фолликулярный вариант

ПР). В 2 случаях ПР мутация обнаружена и в первой и в повторной ТАБ, в NIFTP – в повторной ТАБ. В образцах без мутаций: ПР – 7, NIFTP – 4, ФО – 26, доброкачественное образование – 7. Относительный риск выявления рака ЩЖ для образцов BIII, IV и V при обнаружении мутации в гене *BRAF* составил RR=5.06 (ДИ: 2.66-9.65, $p < 1*10^6$). Диагностическая эффективность составила 84.6%, PPV – 90%, PNV – 82.2%.

Для образцов разных узлов ЩЖ от одного пациента в 1 случае мутация V600E найдена в обоих образцах, для обоих установлен ПР; во 2 – мутации не обнаружены, ФО; в третьем V600E обнаружена в одном узле, ПР и ФО. Для пар ТАБ узла ЩЖ и ЛУ в трех случаях в обоих образцах обнаружена V600E, из них для 2 поставлен диагноз ПР, для 1 определен цитологически анапластический рак. В 1 паре V600E обнаружена в образце ЩЖ, диагноз – фолликулярный вариант ПР без метастазов в ЛУ. В 2 парах мутации не выявлены, ПР и ФО.

Заключение: Разработанный комплекс методик позволяет определять клинически значимые мутации в 592-601 кодонах *BRAF*, 12 и 13 кодонах *KRAS*, 12, 13 и 61 кодонах *HRAS* и *NRAS* и выявлять мутации при низкой доле аллеля. Для анализа можно использовать остаточный материал ТАБ, что позволяет провести дифференциальный диагноз до операции. Определение мутаций в образцах Bethesda III-V может помочь избежать повторных диагностических вмешательств и ускорить установление диагноза.

Список литературы:

1. Dribnokhodova O.P., Esman A.S., Korchagin V.I., et al. A Complex of Pyrosequencing-Based Methods for Detection of Somatic Mutations in Codons 600 and 601 of the BRAF Gene. Sovremennye tehnologii v medicine 2022; 14(2): 41–50.
2. Дрибноходова О. П., Есьман А. С., Дунаева Е. А. и др. Определение соматических мутаций в генах KRAS, HRAS и NRAS методом пиросеквенирования. Молекулярная диагностика и биобезопасность-

2022: сборник материалов конгресса с международным участием. 2022, с. 197.

Вовлеченность полиморфизма rs5760492 гена гамма-глутамилтрансферазы в развитие ишемического инсульта

Дроздова Е.Л., Быканова М.А., Солодилова М.А., Полоников А.В.*
Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия
*E-mail: drozdovael@kursksmu.net

Involvement of the rs5760492 polymorphism of the gamma-glutamyltransferase gene in the development of ischemic stroke

Drozdova E.L., Bykanova M.A., Solodilova M.A., Polonikov A.V.*
Kursk State Medical University, Kursk, Russia
*E-mail: drozdovael@kursksmu.net

Введение: Проблема острой сосудистой патологии головного мозга во всём мире. Ежегодно 15 миллионов людей на планете переносят инсульт, из них 5 миллионов умирают, 5 миллионов остаются инвалидами, нуждающимися в помощи своих близких. В развитых странах до 5% бюджета всего здравоохранения идет на помощь больным с острыми нарушениями мозгового кровообращения, это огромное финансовое бремя. [1, 2]. Для эффективной борьбы с инсультом необходимо изучение всех звеньев этиопатогенеза, в том числе и наследственных факторов заболевания, что позволит совершенствованию диагностики и лечения. [3]. Одно из важных мест в развитии ишемического инсульта принадлежит метаболизму глутатиона в клетке. Выявление молекулярно-генетических аспектов метаболизма глутатиона у пациентов с ишемией мозга способствует созданию более полной системы первичной профилактики и лечения цереброваскулярных патологии в целом.

Цель исследования: Провести анализ вовлеченности полиморфизма rs5760492 гена гамма-глутамилтрансферазы (GGT1) в развитие ишемического инсульта. Задачи исследования: 1. Исследовать частоты аллелей полиморфного локуса rs5760492 гена GGT1.

2. Провести анализ ассоциаций полиморфизма rs5760492 гена GGT1 с предрасположенностью к инфаркту мозга.

Материалы и методы. Обследованы 600 пациентов с ишемическим инсультом, находившихся на стационарном лечении в неврологическом отделении РСЦ Курской ОКБ (330 мужчин и 270 женщин, средний возраст 61.09±9.77 лет,). У исследуемых производился забор цельной венозной крови. В качестве контрольной группы использовался ДНК 688 человек биобанка Научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии (НИИ ГМЭ), без соматической патологии, средний возраст которых составил 60.84±7.45лет, из них 366 мужчин и 322 женщин. Выделение ДНК из образцов крови производилось стандартным двухэтапным методом фенольнохлороформной экстракцией и преципитацией этанолом. Генотипирование полиморфных вариантов проводилось с помощью ПЦР в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов. Для опроса применялась анкета по изучению инсультов, разработанная на кафедре биологии, медицинской генетики и экологии КГМУ. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью программы Statistica 8.0 фирмы StatSoft Inc и MS Excel.

Результаты: Анализ частот аллелей полиморфного локуса rs5760492 гена GGT1 в исследуемой выборке жителей ЦР показал, что генотип G/G обнаруживался в контрольной группе у 216 пациентов (41.2% случаев) и у 104 больных ишемическим инсультом (33.3% случаев), OR (95% CI)2 = 1.00. Генотип G/A обнаруживался в контрольной группе у 298 пациентов (56.9% случаев) и у 197 больных ишемическим инсультом (61.3% случаев), OR (95% CI)2 = 1.37(1.02-1.84). Генотип A/A обнаруживался в контрольной группе у 10 пациентов (1.9% случаев) и у 11 больных ишемическим инсультом (3.5% случаев), OR (95% CI)2 =2.28 (0.94-5.55), p2=0.014.

Проведен анализ кодоминантной модели ассоциаций между полиморфным локусом rs5760492 гена GGT1 и риском развития инфаркта

мозга. В результате анализа полученных данных все из изученных генотипов полиморфного локуса rs5760492 гена GGT1 не ассоциировались с высоким риском развитием ишемического инсульта. Частота аллеля G в контрольной группе составляла 0.697, у пациентов с ишемическим инсультом – 0. 649 (OR (95% CI) =1.24 (1.01-1.53), p2= 0,050), что свидетельствует об отсутствии влияния на риск развития острой ишемии мозга у носителей этого аллеля.

Выводы: В результате проведенного исследования установлено, что изученные генотипы G/G, G/A, A/A полиморфного локуса rs5760492 гена GGT1 не ассоциированы с высоким риском развитием ишемического инсульта. Аллель G полиморфизма rs5760492гена GGT1 также не ассоциирована с высоким риском ишемического инсульта.

Список литературы:

1. Ишемический инсульт у лиц молодого возраста. Особенности этиопатогенеза и вторичной профилактики / Никишин В.О., Голохвастов С.Ю., Бобков А.В.// Известия Российской Военно-медицинской академии. -2020. -Т. 1., № S1. -С. 102-105.
2. К вопросу диагностики и лечения ишемического инсульта. Клинический случай / Куташова Л.А., Куташов Д.В. //Вселенная мозга. -2021. -Т. 3., № 2 (9). -С. 46-48.
3. Нейрометаболическая терапия больных, перенесших ишемический инсульт / Кузнецов В.В., Шульженко Д.В., Романюк Т.Ю., Довгопола Т.М. // The Journal of Neuroscience. - 2016. -Т. 4., № 3. - С. 69-75.

Предиктивная значимость генетического анализа у пациентов с синдромом сухого глаза при первичном синдроме Шегрена и ревматоидном артрите

Зайцева Г.В.[1], Сафонова Т.Н.[1], Бурденный А.М.[2], Логинов В.И.[2]*
[1] НИИ глазных болезней, Москва, Россия
[2] НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия
[*]E-mail: privezentseva.galya@mail.ru

Predictive value of genetic analysis in patients with dry eye syndrome in primary Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis

Zaitseva G.V.[1], Safonova T.N.[1], Burdenny A.M.[2], Loginov V.I.[2]*
[1] Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia
[2] Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russia
[*]E-mail: privezentseva.galya@mail.ru

Введение: Способ определения полиморфных маркеров генов *THBS1, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22*, основанный на методе анализа кривых плавления ДНК, позволяет прогнозировать развитие синдрома сухого глаза (ССГ) у больных с первичным синдромом Шегрена (ПСШ) и ревматоидным артритом (РА) при отсутствии офтальмологических проявлений. Выявленный риск развития и прогрессирования ССГ у такой категории больных поможет снизить частоту лимфопролиферативных заболеваний (ЛПЗ) и летальность при условии назначения базисной терапии.

Цель исследования: Определение предиктивной значимости генетического анализа у пациентов с ССГ при ПСШ и РА.

Материалы и методы: Обследованы пациенты с ПСШ (n=35) и РА (n=42) без признаков ССГ. Группа контроля - 82 добровольца без аутоиммунных заболеваний (АИЗ) и ССГ. Выполнен поиск и анализ мутаций в генах *THBS1, GTF2I, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22* методом анализа кривых плавления ДНК: ген STAT4 rs7574865 G>T (TT) и rs7582694 G>C (GG), ген PTPN22 rs2476601 C>T (TT) и rs33996649 G>A (AA); ген THBS1 rs1478604 T>C (CC), rs2292305 A>G (GG) и rs2228262A>G (AA); ген TRIM21 rs1478604 T>C (TT), rs2292305 A>G (TT)

и rs4144331 A/C (AA); ген MUC1 rs4072037 A/G (GG) [1, 2]. Офтальмологическое обследование: тест Ширмера I, II, пробу Норна, тесты с витальными красителями на сроках наблюдения 1, 2, 3, 4, 5 лет. Всем пациентам проводились динамические осмотры офтальмолога и ревматолога в течение 5 лет. Ежегодно выполнялось стандартное и дополнительное офтальмологическое обследование. В группе контроля клинико-функциональные показатели находились в пределах нормы у 76 добровольцев, у 6 человек развился ССГ. Статистическую обработку результатов проводили в Statistica 6.1 RUS с использованием логистической регрессии, отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (CI) с уровнем значимости 0.05.

Результаты и обсуждение: Установлен риск развития ССГ в группе пациентов с ПСШ, имеющим предрасполагающие генотипы по генам *THBS1, GTF2I, MUC1, TRIM21, STAT4, PTPN22* (ОШ=33.333, 95% ДИ=4.773–232.794). В группе пациентов с РА выявлены предрасполагающие генотипы и высокий риск развития ССГ (ОШ=14.063, 95% ДИ=2.892– 68.379). При расчете ОШ в группе контроля, установлено отсутствие риска развития ССГ (ОШ=58.333, 95% ДИ=5.829–583.735). В литературе не представлена динамика ССГ и отдаленные исходы заболевания [3,4]. ССГ развивался у большинства пациентов через 3 года с момента начала наблюдения. Для объяснения этого факта проводится работа для выявления корреляции с иммунологическим статусом и степенью активности системного заболевания данных пациентов.

Заключение: Полученные результаты дают основание для включения данных локусов в качестве маркеров в диагностический алгоритм исследования пациентов с ПСШ и РА для прогнозирования развития ССГ. Это особенно актуально у пациентов с вероятным ПСШ, у которых отсутствуют офтальмологические клинико-функциональные нарушения.

Генетические методы исследований являются способом ранней малоинвазивной диагностики ССГ, который в последующем может стать основой для персонализированного подхода к терапии заболевания и снизить частоту развития ЛПЗ и летальность пациентов.

Список литературы:

1. Сафонова Т.Н., Зайцева Г.В., Сурнина З.В., Лукина С.С., Логинов В.И., Бурденный А.М. Ассоциация полиморфных вариантов генов THBS1, GTF2I, STAT4, PTPN22 с развитием сухого кератоконъюнктивита при ревматоидном артрите и первичном синдроме Шегрена. *Патогенез.* 2020;18(2):71–78 https://doi.org/10.25557/2310-0435.2020.02.71-78
2. Сафонова Т.Н., Зайцева Г.В., Бурденный А.М., Логинов В.И. Панель генетических маркеров для прогнозирования риска развития синдрома сухого глаза различной этиологии. *Медицинский Совет*. 2021;(12):366-373. https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-12-366-373
3. J. S. Cullor, M. J. Mannis, C. J. Murphy, W. L. Smith, M. E. Selsted, T. W. Reid. In vitro antimicrobial activity of defensins against ocular pathogens. *Arch. Ophthalmol.* 1990;108(6):861-4. https://doi.org/10.1001/archopht.1990.01070080105044.
4. R I Fox, Y. Konttinen, A Fisher. Use of muscarinic agonists in the treatment of Sjögren's syndrome. Clin Immunol. 2001;101(3):249-63 https://doi.org/10.1006/clim.2001.5128

Создание клеточной модели семейной гиперхолестеринемии на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека

Захарова И.С.[1], Шевченко А.И.[1], Тмоян Н.А.[2], Елисафенко Е.А.[1], Зубкова Е.С.[2], Слепцов А.А.[3], Назаренко М.С.[3], Ежов М.В.[2], Кухарчук В.В.[2], Парфёнова Е.В.[2], Закиян С.М.[1]*

[1] Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, РФ;

[2] Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии им. Е.И. Чазова, Москва, РФ;

[3] Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, РФ

[*]E-mail: zakharova.is@gmail.com

Creation of a cellular model of familial hypercholesterolemia based on induced human pluripotent stem cells

Zakharova I.S.[1], Shevchenko A.I.[1], Tmoyan N.A.[2], Elisafenko E.A.[1], Zubkova E.S.[2], Sleptsov A.A.[3], Nazarenko M.S.[3], Ezhov M.V.[2], Kukharchuk V.V.[2], Parfenova E.V.[2], Zakian S.M.[1]*

[1] Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia;

[2] National Medical Research Center for Cardiology na E.I. Chazov, Moscow, Russia;

[3] Tomsk National Research Medical Center RAS, Tomsk, Russia

[*]E-mail: zakharova.is@gmail.com

Введение: Одной из серьезных проблем мирового общественного здравоохранения является семейная гиперхолестеринемия (СГХС). Это моногенное заболевание (MIM#143890), приводящее к атеросклеротическому поражению артерий, высокому и зачастую раннему риску сердечно-сосудистых патологий, обусловливающее до 10% всех случаев повышенного содержания холестерина в плазме крови человека. При этом заболевании регистрируется высокий уровень холестерина липопротеинов низкой плотности и прослеживается семейный анамнез, но на сегодняшний день не существует единого международного критерия для диагностики СГХС. Вопросы о диагностике, эффективном лечении и отсутствии релевантных моделей СГХС остаются актуальными до сих пор. В основе большинства случаев заболевания – патологические варианты в гене рецептора липопротеинов низкой плотности *LDLR*. Несмотря на

понимание важности исследований семейной гиперхолестеринемии в лечении и профилактике атеросклероза, помощь пациентам далека от оптимальной. Отсутствие общедоступного эффективного лечения, разнообразие патологических вариантов в гене *LDLR*, а также в других реже затрагиваемых генетических локусах требуют разработки модельных систем, воспроизводящих молекулярно-генетические особенности патофизиологии заболевания.

Цель работы: Получение эндотелиальных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) пациентов с семейной гиперхолестеринемией.

Материалы и методы: Репрограммирование мононуклеарных клеток крови пациентов с СГХС в ИПСК; доставка эписомных векторов с помощью нуклеофекции в мононуклеарные человека; культивирование ИПСК человека; секвенирование по Сенгеру; направленная дифференцировка ИПСК пациентов с СГХС в эндотелиальные производные; магнитный иммуносортинг; выделение геномной РНК и ДНК; проведение количественной ПЦР в режиме реального времени; проточная цитометрия; иммунофлуоресцентное окрашивание клеток; анализ способности клеток метаболизировать липопротеин низкой плотности.

Результаты и обсуждение: В результате репрограммирования мононуклеарных клеток крови трех пациентов, являющихся компаундными гетерозиготами по патологическим аллельным вариантам гена *LDLR* (c.530C>T, c.1054T>C; c.2141-966_2390-330del, c.1327T>C; c.1246C>T, c.940+3_940+6del), получены ИПСК, демонстрирующие свойства плюрипотентности и нормальный кариотип. Наличие аллельных вариантов в ИПСК подтверждено секвенированием по Сенгеру. Две линии ИСПК использованы для получения эндотелиальных производных путем

направленной дифференцировки. В полученных клеточных популяциях более 90% составляют клетки, позитивные по эндотелиальному маркеру VE-cadherin. Для обогащения клеток эндотелиальной популяцией на финальном этапе дифференцировки проведен магнитный сортинг по эндотелиальному маркеру CD31. Полученные дифференцированные эндотелиальные производные ИПСК пациентов с СГХС имеют сниженную способность поглощать ЛПНП, что является функциональным подтверждением воспроизведения патологического фенотипа заболевания.

До сих пор в мире не существуют клеточные модели СГХС, отражающие комплекс взаимодействий разных клеточных типов, вовлеченных в проявление заболевания. Существует менее десятка 2D-моделей, представленных только одним типом клеток, вовлеченных в заболевание, – гепатоцит-подобными клетками. Однако такие дифференцированные гепатоцит-подобные производные ИСПК функционально являются незрелыми – паттерн их генной экспрессии напоминает клетки эмбриональной печени. В то же время 3D-васкуляризированные органоиды с гепатоцитами-производными ИПСК напоминают зрелые гепатоциты. Таким образом, адекватной моделью заболеваний в трансляционной медицине, учитывающей трехмерное взаимодействие релевантных типов клеток, и зрелый, а не эмбриональный, паттерн генной экспрессии, являются васкуляризированные органоиды. Однако для СГХС, несмотря на наличие небольшого количества линий ИПСК, в настоящее время в мире не существует ни эндотелиальных производных, ни клеточных органоидов. Решению этой проблемы будет посвящена данная научно-исследовательская работа.

Заключение. В результате данной работы получены эндотелиальные производные ИПСК, необходимые для создания васкуляризированных

печеночных органоидов пациентов с СГХС, которые станут основой для разработки более эффективной терапии СГХС и атеросклероза.

Работа поддержана грантом РНФ № 21-15-00065.

Экспрессия белков TOM20 и TOM70 в миокарде крыс при старении

Зубарева Т.С.[1,2], Леонтьева Д.О.[1,2], Миронова Е.С.[1,2], Пустыгина А.В.[1]*
[1] Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия
[2] Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия
[*]E-mail: molbiom-niif@yandex.ru

Expression of TOM20 and TOM70 proteins in rat myocardium during aging

Zubareva T.S.[1.2], Leontieva D.O.[1.2], Mironova E.S.[1,2], Pustygina A.V.[1]*
[1] St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russia
[2] St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia
[*]E-mail: molbiom-niif@yandex.ru

Введение: Митохондрии являются одними из наиболее важных клеточных органелл, так как помимо выработки и обеспечения клетки энергией, осуществляют целый ряд биологически значимых функций – от участия в клеточном обновлении до осуществления эндогенных механизмов реализации клеточного иммунитета. Структуры митохондрий, в частности мембрана, экспрессируют большое количество сигнальных молекул, которые выполняют важную регуляторную роль в их активном функционировании. Митохондриальный канал образуется комплексом белков внешней мембраны, получившим название TOM-комплекс (транслоказа внешней мембраны митохондрий). Комплекс TOM на внешней мембране митохондрии служит общими входными белковыми воротами. hTom40 образует пору транслоказы, в то время как hTom20, hTom22 и hTom70 функционируют как рецепторы. hTom22 играет дополнительную роль в сборке TOM комплекса. hTom5, hTom6 и hTom7 регулируют динамику и сборку комплекса.

Tom20 отвечает за распознавание и перемещение цитозольно синтезированных митохондриальных препротеинов. Tom70 служит местом

стыковки цитозольных белков-шаперонов и ко-шаперонов и таким образом участвует в поглощении недавно синтезированных белков-шаперонов в митохондриальном биогенезе. Кроме того, Tom20 конкурирует за связывание Tom70. Тем не менее блокирование антителами Tom20 не увеличивает эффективность Tom70-зависимого импорта препротеина; вместо этого оно нарушает путь импорта Tom70 в дополнение к пути Tom20.

Известно, что на функцию митохондрий оказывают влияние половые гормоны. Эстрогены, путем активации своих рецепторов ERα и ERβ, взаимодействуют с митохондриальной ДНК, изменяя ее транскрипцию. Прогестерон изменяет митохондриальную активность через сигнальный рецептор митохондриальной локализации (MLS). Тестостерон оказывает защитное действие на митохондрии, увеличивая уровень активированной AMP-киназы, регулирующей клеточный энергетический гомеостаз. Ключевым процессом, связанным как с угасанием митохондриальной функции, так и со снижением уровня половых гормонов, является старение. Изучение половых различий митохондриальных маркеров при старении организма может определить таргетные мишени для лечения возрастассоциированных заболеваний как связанных с полом, так и характерных для общем для человека.

Цель работы: Определение уровней экспрессии митохондриальных белков Tom20 и Tom70 в миокарде пожилых самок и самцов крыс.

Материалы и методы: Исследование проведено на 17 крысах линии Вистар (9 самок и 8 самцов), возраста 18 месяцев. В миокарде крыс методами иммуногистохимии оценены уровни экспрессии митохондриальных белков Tom20 и Tom70. Микрофотографии получены с использованием микроскопа Olympus IX73, обработка микрофотографий проводилась с помощью программы ImageJ.

Результаты и обсуждение: Морфологическая картина миокарда была представлена типовыми изменениями миокарда, ассоциированными с возрастом. Уровень относительной экспрессии Tom20 в миокарде самцов составлял 61.6±7.6%, в миокарде самок – 74.4±2.3%. Уровень относительной экспрессии Tom70 в миокарде самцов составлял 65.1±1.8%, в миокарде самок – 71.6±3.8%. Сниженный уровень белков семейства Tom в миокарде самцов, по сравнению с уровнем в миокарде самок, подтверждает данные литературы о различии характеристик митохондрий между полами. Более низкий уровень экспрессии Tom20 и Tom70 у самцов свидетельствует о снижении функционирования митохондрийвследствие более медленного импорта белков-предшественников в митохондрии.

Заключение: Влияние половых гормонов на состояние митохондрий играет важную роль, поэтому функциональные изменения митохондрий, возникающие при различных патологиях, будут различны у каждого пола. При исследовании митохондриальных белков в патогенезе различных заболеваний, необходимо отдельно оценивать экспрессию белков у представителей разных полов в силу различия вклада механизмов регуляции, связанных с половыми гормонами.

Несовершенный остеогенез в Якутии

Иванова Р.Н.[1,2], Сухомясова А.Л.[1,2], Голикова П.И.[1], Максимова Н.Р.[1]*
[1] СВФУ им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия
[2] ГАУ РС(Я) РБ№1-НЦМ, Якутск, Россия
[*]E-mail: ya.irn84@yandex.ru

Osteogenesis imperfecta in Yakutia

Ivanova R.N.[1,2], Sukhomyasova A.L.[1,2], Golikova P.I.[1], Maksimova N.R.[1]*
[1] NEFU named after Ammosov M.K., Yakutsk, Russia
[2] GAI RS (Y) Republican Hospital № 1-National Medical Center, Yakutsk, Russia
[*]E-mail: ya.irn84@yandex.ru

Введение: Несовершенный остеогенез (НО) является наследственным заболеванием соединительной ткани, причина которого связана либо с дефектом строения коллагена, то есть с нарушением его первичной структуры, либо с недостаточным его синтезом. Частота возникновения несовершенного остеогенеза примерно 1 случай на 10-20 тыс. новорожденных [1]. Клинические признаки несовершенного остеогенеза в большинстве случаев включают повышенную ломкость костей в результате низкой прочности костной ткани, что приводит к повторным переломам, деформациям костей. Генетическим дефектом в 90% случаях заболевания являются мутации двух генов коллагена первого типа – α 1 цепи (*COL1A1*) и α 2 цепи (*COL1A2*) [2].

Цель исследования: Анализ эпидемиологических и клинико-генеалогических особенностей несовершенного остеогенеза в Якутии.

Материалы и методы: Использованы данные Регистра наследственной и врожденной патологии Республики Саха (Якутия) Медико-генетического центра ГАУ РС(Я) РБ№1-НЦМ, генетические карты пациентов (n=43), данные осмотра, результаты лабораторных и инструментальных исследований.

Результаты и обсуждение: По данным Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии в РС (Я)

с НО зарегистрированы с клинически установленным диагнозом 43 пациента из 29 неродственных семей, из них 15 (34.9%) – дети. По данным клинико-генеалогического анализа, преобладает НО с аутосомно-рецессивным типом наследования (55.8%). Из 35 административно-территориальных единиц заболевание зарегистрировано в 13 улусах и в Якутске. Наибольшее количество пациентов являются выходцами из вилюйской группы улусов – 20 (47.6%) и из Якутска – 9 (21.4%), из юго-западных улусов зарегистрированы 6 (14.2%), из центральной группы районов - 5 (11.9%), наименьшее количество пациентов обнаружено в северной группе районов – 2 (4.76%). Из числа больных преобладают якуты – 34 (80%), эвенов – 1 (2.3%), русских – 8 (19%). Одному пациенту проведено молекулярно-генетическое исследование методом NGS и выявлена нуклеотидная замена c.946G<A (p.Gly316Ser) в гетерозиготном состоянии в 19 экзоне гена *COL1A2.*

Больные с тяжелой формой НО (n=23) получают лечение золедроновой, ибандроновой и памидроновой кислотой. В большинстве случаев отмечается положительная динамика: урежение переломов, улучшение двигательной активности.

Заключение: Несовершенный остеогенез представляет собой важную медико-социальную проблему в Якутии и требует дальнейшего изучения молекулярно-генетических причин возникновения с целью улучшения диагностики и профилактики заболевания.

Список литературы:

1. Genetic epidemiology, prevalence, and genotype-phenotype correlations in the Swedish population with osteogenesis imperfect / Lindahl K, Åström E, Rubin CJ et al. // Eur J Hum Genet. – 2015. – Vol. 23(8). – P. 1042-1050.
2. DNA sequence analysis in 598 individuals with a clinical diagnosis of osteogenesis imperfecta: diagnostic yield and mutation spectrum / G. Bardai, P. Moffatt, F. H. Glorieux, F. Rauch // Osteoporos Int. – 2016. – Vol. 27(12). – P. 3607-3613.

Эффекты нестабильности генома в системе профилактических осмотров как индикатор риска развития опухолей и других хронических заболеваний

Ингель Ф.И.[1], Кедрова А.Г.[2], Кравченко Г.В.[2], Ахальцева Л.В.[1], Юрцева Н.А.[1], Греян Т.А.[2], Константинова Ю.С.[2], Никитина Т.А.[1]*

[1] Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками ФМБА России, Москва, РФ.

[2] ФНКЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва, РФ

[*]E-mail: fainaingel@mail.ru

Effects of genome instability in the preventive examinations system as an indicator of tumor and other chronic deceases development risk

Ingel F.I.[1], Kedrova A.G. [2], Kravchenko G.V. [2], Akhaltseva L.V. [1], Yurtseva N.A.[1], Greyan T.A.[2],Konstantinova Yu.S.[2], Nikitina T.A.[1]*

[1] Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, FMBA of Russia, Moscow

[2] FSCC Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia, Moscow

[*]E-mail: fainaingel@mail.ru

Введение: Индукция эффектов нестабильности генома (НГ) ассоциирована с возникновением ряда хронических неинфекционных заболеваний человека, в том числе онкологических, и поэтому может быть одним из наиболее значимых их предикторов. Повышенный уровень НГ выявляется, кроме того, у людей, находящихся в состоянии неадаптивного стресса, увеличивающего чувствительность генома к действию генотоксических факторов среды и повышающего тем самым риск развития указанных заболеваний.

Цель работы: Анализ результатов микроядерного (МЯ) теста на культуре крови человека в ассоциации с данными медицинского профилактического осмотра.

Материалы и методы: В обследовании приняли участие 90 мужчин 35-65 лет, имевших и не имевших хронических неинфекционных заболеваний и проходивших профосмотр в ФНКЦ ФМБА. Перед взятием

крови доноров анкетировали с применением специально разработанных анкет (сбор анамнеза, социальные факторы, определение эмоционального статуса и качества жизни и пр.). Сформированы 3 группы риска развития злокачественных новообразований по состоянию здоровья с учетом наследственных факторов риска, определенных по анкете для выявления факторов риска заболеваний (вчастности, онкологических), разработанной ФНКЦ ФМБА России: низкого (1), умеренного
(2) и высокого (3). Венозную кровь культивировали в условиях цитокинетического блока. От каждого донора ставили две культуры: для оценки фоновых уровней всех показателей и определения индивидуальной чувствительности генома к 0,01 мкг/мл Митомицина С. Цитомный анализ на зашифрованных препаратах проводили в микроядерном тесте по расширенному протоколу, оценивая группы показатели пролиферации, повреждений генома и апоптоза – всего учитывали 39 показателей. Статистическую обработку проводили методом парных сравнений с использованием непараметрических критериев. На проведение работы получено разрешение этического комитета ФГБУ ЦСП ФМБА России и информированное согласие всех доноров.

Результаты и обсуждение: Группы 1 и 2 не различались между собой ни по одному анкетному показателю. В то же время группы 1 и 3 различались по продолжительности работы во вредных условиях (p=0.0006) и количеству стрессовых ситуаций на работе и дома (p=0.019). С возрастом доноров увеличивалась частота 2-ядерных клеток с микроядрами (p=0.003) и количество доноров, у которых митотический индекс клеток в культуре превышал частоту апоптотических клеток (p=0,007), причем эти феномены наблюдались на фоне уменьшения как пролиферативного пула (p=0.0006), так и частоты клеток в состоянии апоптоза (p=0.03). Сходные зависимости наблюдали в культурах,

экспонированных Митомицином С. 67 из 90 доноров указали в анкетах причиной проблем со здоровьем повседневное напряжение, загруженность работой, отсутствие свободного времени, проблемы в рабочем коллективе, домашние и семейные проблемы. Для этих доноров выявлен ряд статистически значимых ассоциаций между показателями цитомного анализа и действующими социальными и психологическими факторами (например, материальное положение и доля 2-ядерных клеток в спектре клеточных популяций; удовлетворенность работой и доля 2-ядерных клеток с множественными МЯ, показатели качества жизни и частоты делящихся и ускоренно делящихся клеток в спектре клеточных популяций и др).

Международные исследования, охватившие несколько тысяч человек, показали, что через 5-10 лет после обнаружения у человека повышенного уровня НГ частота диагноза «онкологическое заболевание» была значимо выше, чем в когортах сравнения. Собственные исследования на первичной культуре клеток неоднократно выявляли значимые корреляции между степенью выраженности стресса и повышенной чувствительностью генома к действию средовых генотоксикантов: повышение частоты клеток с повреждениями, повышение пролиферативной и митотической активностей и снижение частоты апоптоза. В совокупности эти эффекты свидетельствуют о закреплении генетических повреждений в поколениях делящихся клеток и, следовательно, о повышенном риске развития опухолей и других заболеваний, триггером которых является повышенный уровень генетических повреждений.

Заключение: В данной работе выявлены те же ассоциативные связи, что позволяет рекомендовать использованный комплексный подход к применению в рамках профосмотров для оценки индивидуального риска развития онкологических заболеваний.

Семья как один из факторов модификации эффектов нестабильности генома и адаптации организма детей

Ингель Ф.И.[1], Легостаева Т.Б.[2], Кривцова Е.К.[1], Юрцева Н.А.[1]*
[1] Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью, Москва, Россия
[2] Средняя общеобразовательная школа № 5 Магнитогорска. Магнитогорск,
Челябинская обл., Россия
[*]E-mail: fainaingel@mail.ru

Family as one of the modificators of children's genome instability and adaptation

Ingel F. I.[1], Legostaeva T.B.[2], Krivtsova E.K.[1], Yurtseva N.A.[1]*
[1] Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, Russia
[2] Secondary school No. 5 Magnitogorsk. Magnitogorsk, Chelyabinsk region, Russia
[*]E-mail: fainaingel@mail.ru

Введение: Сложность многопараметровых исследований по выявлению факторов риска здоровью человека обусловлена существенным взаимным влиянием и множественными ассоциативными связями между самыми разными показателями, среди которых специальную проблему представляют неучтенные факторы, а также те, которые учесть невозможно. В то же время известно, что некоторые интегральные показатели «вбирают в себя» эффекты большого количества разнообразных факторов, которые трудно поддаются вычленению и анализу.

Цель исследования: Проверка гипотезы о том, что социально-экономические особенности семьи и ее психологический климат оказывают влияние на стабильность генома детей старшего дошкольного и младшего школьного возраста.

Материалы и методы: Представлены результаты комплексных социально-психологических и генетико-токсикологических (микроядерный тест на лимфоцитах крови, культивированных с цитохалазином В) обследований семей с практически здоровыми детьми в

двух промышленных городах России – Магнитогорске и Коряжме. В Магнитогорске сравнивали семьи с детьми 5-7 лет (85 семей) проживающими рядом с магнитогорским металлургическим комбинатом (ММК) и на противоположном берегу реки Урал, но на том же расстоянии от ММК (83 семьи). В Коряжме (в городе работает крупнейший в Европе целлюлозно-бумажный комбинат) обследовали 125 семей учащихся вторых классов (8-9 лет) всех муниципальных школ города. Все дети в течение 1 месяца (Коряжма) и 2 месяцев (Магнитогорск) до начала обследования не болели, не принимали лекарств, им не проводились рентгенологические процедуры и хирургические вмешательства. Психологическое тестирование детей проводили с помощью 8-цветового теста М. Люшера, с оценкой коэффициента вегетативного баланса Шипоша. Родители отвечали на вопросы четырех стандартных опросников-анкет, оценивающих степень выраженности разных видов эмоционального напряжения. В Коряжме дополнительно определяли качество жизни родителей с использованием шкалы субъективного благополучия. Социально-экономический статус семьи определяли с помощью специально разработанного опросника. Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрических критериев. На проведение обследований получено разрешение начальников горздравотделов и информированное согласие родителей всех детей.

Результаты и обсуждение: Впервые показано, что наличие у родителей вредных привычек, точнее, возможных причин, приведших к развитию вредных привычек, ассоциировано с повышением уровня нестабильности генома детей. Эти связи прослеживаются как в первом (2-ядерные клетки), так и в последующих циклах деления лимфоцитов периферической крови в культуре, что при экстраполяции на организм может говорить о закреплении эффектов генетической нестабильности в

поколениях делящихся клеток. Впервые выявлено доминирование нуклеоплазменных мостов (НПМ) среди всех генотоксических эффектов в клетках крови детей, причем их частота ассоциирована с курением и употреблением алкоголя родителями. Максимальные коэффициенты корреляции для эффектов нестабильности генома детей обнаружены с вредными привычками отца. Курение отца ассоциировано с изменениями баланса отделов вегетативной нервной системы ребенка и со снижением доли детей в группе со сбалансированной работой отделов вегетативной нервной системы. С ухудшением жилищных условий снижаются темпы деления клеток в культуре крови детей, а со снижением душевого дохода увеличивается частота образования асимметричных 3-ядерных клеток - индикаторов анеуплоидии.

Врачи и учителя обращают серьезное внимание на семью и образ жизни родителей, связывая их со здоровьем, поведением и успеваемостью детей. Взгляд на проблему с позиций нестабильности генома детей с учетом эмоционального климата семьи реализован впервые. Влияние представлений родителей о качестве своей жизни распространяется на здоровье детей не только как модификатор сбалансированности работы отделов вегетативной нервной системы, но и как фактор, действующий на глубинные основы жизни - состояние генетических структур и, следовательно, генетическое здоровье детей.

Заключение: Поскольку геном у ребенка чувствительнее, чем у взрослых к действию генотоксикантов, а генетические повреждения, возникшие в детском возрасте, связывают с развитием многих болезней у взрослых людей, включая рак, назрела необходимость смены парадигмы воспитания детей дома и в школе: во главу угла следует ставить грамотное воспитание детей как будущих родителей с заботой, прежде всего, об их эмоциональном и психическом здоровье.

Профиль синтеза сиртуинов при репликативном старении эндотелиоцитов человека

Кожевникова Е.О.[1], Савицкий Д.В.[1], Линькова Н.С.[1,2,3], Кветная Т.В.[1]*
[1] Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия
[2] Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва, Россия;
[3] Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
Белгород, Россия
[*]E-mail: miayy@yandex.ru

Profile of sirtuin synthesis during replicative aging of human endotheliocytes

Kozhevnikova E.O.[1], Savitsky D.V.[1], Linkova N.S.[1,2,3], Kvetnaia T.V.[1]*
[1] St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia;
[2] Academy of Postgraduate Education under FSBU FSCC of FMBA of Russia, Moscow, Russia
[3] Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia.
[*]E-mail: miayy@yandex.ru

Введение: Репликативное старение эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудов вовлечено в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний. В связи с этим актуальным вопросом молекулярной медицины является выявление профиля сигнальных молекул при старении эндотелия в норме и при патологии. Известно, что вазопротекторными белками, предотвращающими старение эндотелиоцитов, являются сиртуины-1,3,6 [1,2]. Сиртуины (Sirt) представляют собой класс белков с NAD^+-зависимой деацетилазной или АДФ-рибозилтрансферазной активностью и являются связующим звеном между ацетилированием белка, метаболизмом и старением. Снижение экспрессии Sirt-6 в эндотелиоцитах приводит к их ускоренному старению [2]. Sirt-6 предотвращает образование нестабильных атеросклеротических бляшек у пациентов с сахарным диабетом [3] и обладает антиатерогенными свойствами [1]. Установлено, что Sirt-1, Sirt-3 и Sirt-6 защищают эндотелий

сосудов от ускоренного старения, в то время как функция других сиртуинов в этом процессе не выяснена. Sirt-1,3,6 являются перспективными белками - мишенями для терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Цель исследования: Определение профиля синтеза сиртуинов при репликативном старении эндотелиоцитов человека.

Материалы и методы исследования: Эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVEC) выращивали в среде, содержащей DMEM, 10% FBS, 1% смеси пенициллина и стрептомицина. Репликативное старение эндотелиоцитов проводили с помощью пассирования клеток до 18 пассажа. Контролем являлись - «молодые» клетки 3-го пассажа. При проведении вестерн-блот анализа HUVEC инкубировали с первичными антителами к anti-Sirt1, anti-Sirt3, anti-Sirt6 и anti-β-actin (Abcam, USA) (1:1000). Инкубацию со вторичными антителами проводили при комнатной температуре в течение 2-х часов. Сигналы белков на полосах визуализировали с помощью хемилюминесценции (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Уровни экспрессии белков определяли количественно методом денситометрии с использованием программы ImageJ 64 по отношению к экспрессии β-актина. Данные анализировали в программе SPSS 21.0. Оценивали среднее значение и стандартную ошибку. Статистическую значимость различий между группами определяли по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение: В норме в культуре HUVEC экспрессия Sirt-1 составляет 1.59±0.16 у.е., Sirt-3 – 1.59±0.16 у.е., Sirt-6 – 1.40±0.17 у.е. При репликативном старении HUVEC происходит снижение экспрессии сиртуинов Sirt 1,3,6 в 1.8, 1.6 и 1.7 раза, соответственно, по сравнению с контролем. Этот результат коррелирует с данными литературы, полученными на других типах клеток. Ранее было показано, что синтез Sirt-1 и Sirt-6 снижается в эмбриональных фибробластах мыши при старении *in*

vitro [4]. В других исследованиях также отмечено, что уменьшение продукции Sirt-1 и Sirt-6 способствует преждевременному старению эндотелиальных клеток [5, 6].

Заключение: Определен профиль синтеза сиртуинов при репликативном старении эндотелиоцитов человека. Для репликативного (естественного) старения эндотелиоцитов человека характерно снижение синтеза Sirt 1,3,6, в 1.6 - 1. 8 раза.

Список литературы:

1. Tao R, Xiong X, DePinho RA, Deng CX, Dong XC. FoxO3 transcription factor and Sirt6 deacetylase regulate low density lipoprotein (LDL)-cholesterol homeostasis via control of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (Pcsk9) gene expression. J of biological chemistry.2013, 288:29252–29259
2. Maksin-Matveev A, Kanfi Y, Hochhauser E, Isak A, Cohen HY, Shainberg A. Sirtuin 6 protects the heart from hypoxic damage. Experimental cell research 2015, 330:81–90
3. Balestrieri ML, Rizzo MR, Barbieri M. Sirtuin 6 expression and inflammatory activity in diabetic atherosclerotic plaques: effects of incretin treatment. Diabetes 2015, 64:1395–1406
4. Chen J, Xie JJ, Jin MY. Sirt6 overexpression suppresses senescence and apoptosis of nucleus pulposus cells by inducing autophagy in a model of intervertebral disc degeneration. Cell Death Dis 2018, 9:56
5. Mostoslavsky R, Chua KF, Lombard DB. Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. Cell. 2006; 124:315–329. 26. Kim MY, Kang ES, Ham SA, et al. The PPARdelta-mediated inhibition of angiotensin II-induced premature senescence in human endothelial cells is SIRT1-dependent. Biochem Pharmacol 2012, 84:1627–1634
6. Yao H, Chung S, Hwang JW, et al. SIRT1 protects against emphysema via FOXO3-mediated reduction of premature senescence in mice. J Clin Invest 2012, 122:2032–2045

Структурно-метаболические изменения в семенниках крыс в условиях развития метаболического синдрома и действия немедикаментозных лечебных факторов

Королев Ю.Н., Никулина Л.А., Михайлик Л.В.*
Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии МЗ РФ, Москва, Россия.
*E-mail: Korolev.yur@yandex.ru

Structural and metabolic changes in the testicles of rats under the conditions of the development of metabolic syndrome and the action of non-drug therapeutic factors

Korolev Yu.N., Nikulina L.A., Mikhailik L.V.*
National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia.
*E-mail: Korolev.yur@yandex.ru

Введение: Метаболический синдром представляет собой комплекс метаболических нарушений, вызывающих развитие в организме и его репродуктивной системе различные дезадаптационные расстройства и патологические процессы. Для разработки методов профилактики и лечения этого заболевания перспективно использовать немедикаментозные лечебные факторы, в частности, питьевые минеральные воды (МВ) и низкоинтенсивное электромагнитное излучение (ЭМИ) сверхвысокой частоты (СВЧ), которые способны оказывать общезащитное, антиоксидантное и цитопротекторное действие.

Цель исследования: Выявление структурно-метаболических нарушений и проявления адаптационно-защитных реакций в семенниках крыс при развитии метаболического синдрома и действии питьевой МВ и низкоинтенсивного ЭМИ СВЧ.

Материалы и методы: Эксперименты проведены на 40 нелинейных крысах-самцах массой 200-220 г. Модель метаболического синдрома воспроизводилась в течение 60 дней с применением высококалорийной диеты с избыточным потреблением насыщенных жиров и углеводов.

Животные опытной группы на фоне применения высококалорийной диеты получали вначале курс питьевой сульфатной МВ (24 процедуры), а после его окончания – курс низкоинтенсивного ЭМИ СВЧ (12 процедур) ежедневно по 2 минуты на поясничную область в зоне проекции надпочечников. Процедуры проводились с применением аппарата «Акватон» (плотность потока мощности 1 мкВт/см^2, частота около 1000 МГц). Контролем служили животные, получавшие только высококалорийную диету, использовались также интактные животные. Применялись биохимические, электронно-микроскопические и морфометрические методы исследования. Статистическую значимость различий определяли с использованием t- критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение: У животных контрольной группы в семенниках обнаруживались нарушения, которые проявлялись в развитии дистрофических и некробиотических процессов, ослаблении антиоксидантной активности на 47.1%, ($p < 0.01$), повышении уровня перексного окисления липидов (ПОЛ) на 48.3% ($p < 0.01$), снижении интенсивности белоксинтезирующих процессов, уменьшении числа половых клеток. На ультраструктурном уровне в клетках Сертоли наблюдались снижение числа цитоплазматических органелл, просветление матрикса и редукция крист митохондрий, дегрануляция цистерн гранулярной эндоплазматической сети, уменьшение количества рибосом и полисом, появление мелких и крупных липидных включений. Применение МВ и ЭМИ СВЧ на фоне действия высококалорийной диеты вызывало усиление ряда адаптационно-защитных реакций. Характерным являлось отчетливое усиление антиоксидантной активности на 72.4% ($p < 0.01$), которое сочеталось с повышением уровня ПОЛ на 16.9% ($p < 0.01$). Также возрастало содержание РНК на 13.4% ($p < 0.01$), при этом содержание ДНК и общего белка повышалось в виде тенденции: на 8.8% и 12.1%

соответственно. Улучшались процессы дифференцировки клеток сперматогенного эпителия, что приводило к увеличению численности наиболее зрелых гамет. В клетках Сертоли, число которых возрастало на 18.8 %, обнаруживалось появление молодых, более мелких по размерам митохондрий, однако при этом в той или иной мере продолжали сохраняться митохондрии с просветленным матриксом и локальной деструкцией крист. Характерным также являлась активация лизосомальной системы, на что указывало увеличение числа первичных лизосом, крупных фаголизосом, а также аутофагосом.

Заключение: Таким образом, развитие экспериментального метаболического синдрома под влиянием высококалорийной диеты вызывало выраженное развитие структурно - метаболических нарушений в семенниках крыс. Применение питьевой МВ и низкоинтенсивного ЭМИ СВЧ оказало противодействие влиянию патогенного фактора – высококалорийной диеты, что проявилось в развитии адаптационно-защитных реакций и ослаблении деструктивных процессов.

Уровень DNMT1 и степень метилирования геномной ДНК в CD45+ клетках крови при болезни Паркинсона

Лавринова А.О.[1], Журавлев А.С.[1], Милюхина И.В.[3], Белых Е.А.[1], Тюрин А.А.[2], Беркович О.А.[2], Пчелина С.Н.[1,2,4], Емельянов А.К.[1,2]*

[1] Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина, Россия

[2] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

[3] Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург, Россия

[4] Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург Россия

[*]E-mail: lavrinova.anna@gmail.com

DNMT1 level and global DNA methylation in CD45+ blood cells in Parkinson's disease

Lavrinova A.O.[1], Zhuravlev A.A.[1], Miliukhina I.V. [3], Belykh E.A.[1], Tyurin A.A.[2], Berkovich O.A.[2], Pchelina S.N.[1,2,4], Emelyanov A.K.[1,2]*

[1] Petersburg Nuclear Physics Institute na B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia

[2] Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

[3] Institute of Human Brain na N.P. Behtereva, St. Petersburg, Russia

[4] Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

[*]E-mail: lavrinova.anna@gmail.com

Введение: Считается, что в основе патогенеза при болезни Паркинсона (БП) лежит накопление и агрегация белка альфа-синуклеина (SNCA) в дофаминэргических нейронах. Показано, что повышение уровня экспрессии гена *SNCA* может способствовать повышению уровня и агрегации данного белка. В то же время на уровень экспрессии гена SNCA может влиять степень метилирования его регуляторных областей. Паттерн метилирования ДНК в течение жизни клетки поддерживает ДНК-метилтрансфераза 1-го типа (DNMT1). Ранее было обнаружено снижение уровня данного фермента на 50 % в клетках мозга пациентов с БП по сравнению с контролем.

Целью исследования явилась оценка уровня DNMT1 и глобального метилирования ДНК в CD45+ клетках периферической крови пациентов с БП и контроля.

Материалы и методы: В исследование были включены 43 пациента с БП (средний возраст 66.24±7.05 лет), не принимающих Л-ДОФА-содержащие препараты и 47 индивидуумов (средний возраст 60.09±7.21 лет) контрольной группы без неврологических заболеваний. CD45+ клетки были выделены из периферической крови в градиенте плотности раствора фиколла (Биолот, Россия), с последующим проведением магнитного сортинга (ручной сепаратор MACS (Miltenyi Biotec, США)), колонки miniMACS типа MS (Miltenyi Biotec, США). Уровень белка DNMT1 и глобального метилирования ДНК в указанных группах был оценен с использованием метода ИФА (DNMT1 Assay Kit и Global DNA Methylation (5-mC) ELISA Easy Kit (Epigentek, США), соответственно). Статистический анализ был проведен с использованием программы SPSS 21.0.

Результаты: Обнаружено снижение концентрации белка DNMT1 в CD45+ клетках у пациентов с БП по сравнению с группой контроля ($p < 0.001$). Не выявлены статистически значимые различия при сравнении уровня глобального метилирования ДНК в CD45+ клетках пациентов с БП и контроля ($p = 0.34$).

Заключение: Полученные данные позволяют предположить участие ДНК-метилтрансферазы 1-го типа в патогенезе болезни Паркинсона.

Буккальный эпителий: новый подход к неинвазивной диагностике саркоидоза

Леонтьева Д.О.[1], Крылова Ю.С.[1,2], Кветной И.М.[1,3], Зубарева А.С.[1]*
[1] Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия
[2] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;
[3] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
[*]E-mail: leontiewadar@yandex.ru

Buccal epithelium: a new approach to the non-invasive diagnosis of sarcoidosis

Leontieva D.O.[1], Krylova Yu.S.[1,2], Kvetnoy I.M.[1,3], Zubareva A.S.[1]*
[1] St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russia
[2] First St. Petersburg State Medical University na I.P. Pavlov, Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, Russia
[3] St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia
[*]E-mail: leontiewadar@yandex.ru

Введение: Саркоидоз - системное воспалительное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся образованием макрофагальных, не казеозных гранулем, широко распространенное и рассматриваемое как нарушение иммунного ответа. Формирование гранулемы является следствием иммунной реакции гиперчувствительности замедленного типа с участием CD4 CD8 Т-клеток. CD4 Т-хелперы (Th) классифицированы в 2 типа клеток с четкими профилями вырабатываемых цитокинов Th1 – провоспалительные (например, фактор некроза опухоли (TNF) –α; и интерлейкины (IL) IL-1, IL-2, IL-8 и IL-12) и Th2-противовоспалительные (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 и трансформирующий рост фактор (TGF)–β). Баланс между про- и противовоспалительными цитокинами необходим для поддержания гомеостаза в дыхательной системе, а их дисбаланс играет важную роль в патогенезе гранулематозных заболеваний. Было обнаружено, что у пациентов с саркоидозом повышена

концентрация IL-8 в сыворотке крови, однако при хроническом течении патологического процесса уровень IL-8 значительно снижается, хотя и превышает нормальные показатели. В последние годы внимание исследователей привлекает буккальный эпителий (БЭ) в качестве возможного материала для неинвазивной диагностики. В последние 5-10 лет в буккальных эпителиоцитах верифицирована экспрессия многих сигнальных молекул, обеспечивающих нейроиммуноэндокринные коммуникации.

Целью исследования являлась верификация провоспалительного цитокина интерлейкина 8 (IL-8) в ткани легких пациентов, содержащей саркоидные гранулемы, а также определение уровня экспрессии данного цитокина в БЭ с поиском взаимосвязей уровней экспрессий цитокина в ткани и БЭ.

Материалы и методы: В исследование были включены 30 пациентов с диагнозом саркоидоз органов дыхания и 10 здоровых добровольцев без патологии респираторной системы. При обследовании пациентов с саркоидозом выполнялась биопсия легочной ткани и проводился забор буккального эпителия. У здоровых добровольцев проводился забор только БЭ. Для исследования были отобраны образцы легочной ткани, содержащие эпителиоидноклеточные гранулемы с умеренной степенью фиброза, без наличия кислотоустойчивой флоры. С помощью методов иммуноцито-гистохимии был верифицирован IL-8 (ab7747, Abcam, UK,1:20). Относительная площадь экспрессии рассчитывалась как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения и выражалась в процентах.

Результаты и обсуждение: Средняя относительная площадь гранулем во всех образцах составила 43.25%, а значение площади гранулем в препарате варьировало от 1.39 до 3.61 мм^2. В результате исследования было обнаружено, что уровень экспрессии IL-8 был максимальным внутри

гранулемы, по сравнению с окружающей тканью. Среднее значение относительной площади экспрессии в гранулеме составляет 73.95%, а вне гранулемы – 25.64%. Высокие уровни экспрессии IL-8 в гранулемах демонстрирует высокую активность гранулематозного воспаления в исследуемой нами группе. Оценка экспрессии цитокина в БЭ выявила, что большое количество клеток БЭ у пациентов с саркоидозом имели IL8-положительное окрашивание: сильно выраженная положительная реакция в 27 случаях из 30 (90%) и составила 0.24±0.04 у.е. Только в 3-х случаях была выявлена слабая экспрессия IL8. Напротив, у 10 добровольцев без саркоидоза не была обнаружена экспрессия IL8. Только в одном случае в контрольной группе в единичных клетках была выявлена слабая экспрессия IL8, в остальных случаях реакция была отрицательной. Иммунопозитивное окрашивание выявлено только в цитоплазме БЭ. Проведенное исследование продемонстрировало, что IL-8 экспрессируется как в легочной ткани, так и в БЭ при саркоидозе. А также отсутствие экспрессии данного цитокина в группе здоровых добровольцев. Это доказывает, что БЭ может быть использован в качестве материала для неинвазивной диагностики саркоидоза.

Заключение: Определение уровня IL-8 в буккальном эпителии по сравнению с изучением уровня этого маркера в крови или ткани является наиболее удобным и доступным методом как для пациентов, так и для специалистов. Исследование динамики цитокина в буккальном эпителии открывает новые перспективы для диагностики и оценки эффективности лечения саркоидоза.

Эффективность применения пептидного препарата тималина при COVID-19: молекулярные аспекты

Линькова Н.С.[1], Владимирова Е.В.[2], Сухарева М.С.[2], Хавинсон В.Х.[1,3]*
[1] Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия
[2] Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
[3] Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия
[*]E-mail: linkova@gerontology.ru

The efficacy of thymalin peptide drug application in COVID-19: molecular aspects

Linkova N.S.[1], Vladimirova E.V.[2], Sukhareva M.S.[2], Khavinson V.Kh.[1,3]*
[1] St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia
[2] Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia
[3] Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia
[*]E-mail: linkova@gerontology.ru

Введение: Лекарственный препарат Тималин представляет собой комплекс пептидов с молекулярной массой до 10 кДа, выделенных из тимуса телят. Препарат оказывает действие на все звенья иммунитета, регулирует количество и соотношение Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций, стимулирует реакции клеточного иммунитета, усиливает фагоцитоз, активирует процессы регенерации и кроветворения в случае их угнетения, улучшает клеточный метаболизм [1-3]. Тималин применяется в лечении различной иммунопатологии, в том числе при COVID-19 у лиц среднего и пожилого возраста [1-4].

Цель работы: Оценка влияния Тималина на продукцию цитокинов мононуклеарами крови человека.

Материалы и методы исследования: Выделение мононуклеарных клеток провели у 4 доноров среднего возраста с использованием методики, в основе которой лежит принцип седиментации в градиенте плотности. Мононуклеары крови помещали в CO_2-инкубатор на 18 ч при температуре 37°C в атмосфере 5% CO_2. Тималин добавляли к клеткам в концентрациях

0.001 мг/мл, 0.01 мг/мл, 1 мг/мл. Продукцию и выделение цитокинов в клетках стимулировали введением бактериального липополисахарида (ЛПС) (Lipopolysaccharides from *Escherichia coli* O55:B5, L2880-25MG, Sigma, США). ЛПС использовали для моделирования инфекционного процесса [5-6]. Уровень цитокинов (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNFα) в супернатанте определяли с использованием набора для иммуноферментного анализа (ИФА). ИФА для каждого цитокина проводили 2–4 раза. В каждом опыте были по две параллельных экспериментальных или контрольных (без добавления Тималина) пробы. Для сравнения показателей в группах рассчитывали медианы. Для выявления статистически значимых различий между показателями в экспериментальных и контрольных группах использовали непараметрический критерий Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение: Тималин в концентрации 1 мг/мл снижает продукцию провоспалительных цитокинов мононуклеарами крови: TNF-α - в 2.2 раза; IL-4 - в 6.1 раза; IL-1β - в 2.7 раза. Тималин в концентрации 0.01 мг/мл повышает синтез противовоспалительного цитокина IL-4 в 1.2 раза мононуклеарами крови. Тималин не влияет на выброс IL-2, IL-6, IL-10 мононуклеарами крови.

Заключение: В основе терапевтического эффекта Тималина при COVID-19 может быть его способность стимулировать синтез противовоспалительного цитокина IL-4 и снижать продукцию провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1β мононуклеарами крови. Дальнейшее исследование иммуномодулирующих эффектов Тималина является перспективным для выявления механизмов его влияния на функции клеток иммунной системы, а также для уточнения оптимального применения пептидного препарата при COVID-19 для коррекции нарушений, обусловленных «цитокиновым штормом».

Список литературы:

1. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рукавишникова С.А., Трофимова С.В., Линькова Н.С., Ахмедов Т.А., Башук В.В. Влияние тималина на показатели клеточного, гуморального иммунитета и качество жизни у пациентов с COVID-19. Врач. 2021, 32(6): 51-55
2. Kuznik B, Khavinson V, Shapovalov K, Linkova N, Lukyanov S, Smolyakov Yu, Tereshkov P, Shapovalov Yu, Konnov V, Tsybikov N. Peptide Drug Thymalin Regulates Immune Status in Severe COVID-19 Older Patients. Advances in Gerontology. 2021, 11(4): 368–376
3. Khavinson V, Linkova N, Dyatlova A, Kuznik B, Umnov R. Peptides: prospects for use in the treatment of COVID-19. Molecules. Special Issue "Peptide Therapeutics 2.0". 2020, 25(10): 4389
4. Khavinson VKh, Kuznik BI, Trofimova SV, Volchkov VA, Rukavishnikova SA, Titova ON, Akhmedov TA, Trofimov AV, Potemkin VV, Magen E. Results and Prospects of Using Activator of Hematopoietic Stem Cell Differentiation in Complex Therapy for Patients with COVID-19. Stem Cell Reviews and Reports. 2021, 17(1): P. 285-290
5. Petruk G, Puthia M, Petrlova J, Samsudin F, Strömdahl AC, Cerps S, Uller L, Kjellström S, Bond PJ, Schmidtchen AA. SARS-CoV-2 spike protein binds to bacterial lipopolysaccharide and boosts proinflammatory activity. Mol. Cell. Biol. 2020, 12(12): 916-932
6. Lai JL, Liu YH, Liu C, Qi MP, Liu RN, Zhu XF, Zhou QG, Chen YY, Guo AZ, Hu CM. Indirubin Inhibits LPS-Induced Inflammation via TLR4 Abrogation Mediated by the NF-kB and MAPK Signaling Pathways. Inflammation. 2017, 40(1): 1-12

Моделирование наследственных нейродегенеративных заболеваний в культурах клеток

Малахова А.А., Елисафенко Е.А., Павлова С.В., Григорьева Е.В., Медведев С.П., Закиян С.М.*
Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
*E-mail: amal@bionet.nsc.ru

Modelling of hereditary neurodegenerative diseases in vitro

Malakhova A.A., Elisaphenko E.A., Pavlova S.V., Grigor'eva E.V., Medvedev S.P., Zakian S.M.*
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
*E-mail: amal@bionet.nsc.ru

Введение: Болезнь Паркинсона (БП) является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний, развитие которого связанно с гибелью нейронов черной субстанции головного мозга. Нейродегенеративные изменения приводят к недостаточности дофамина, что вызывает целый набор тяжелых симптомов, среди которых: брадикинезия, ригидность мышц и тремор, и приводит к инвалидизации пациентов. По данным широкого популяционного исследования, распространенность БП в России составляет 139 случаев на 100000 человек, заболеваемость – 16 случаев на 100000 человек в год. С возрастом риск возникновения БП увеличивается, и у лиц старше 65 лет она выявляется с частотой около 1%, однако в 15% случаев БП дебютирует в возрасте до 45 лет. БП обладает клинической гетерогенностью. Выделяют акинетико-ригидный, дрожательный и смешанный типы заболевания. Помимо идиопатической формы БП, которая, как правило, имеет позднее начало проявления первых симптомов, существует наследственная форма, для которой известны случаи с ранним началом. Клиническая и генетическая гетерогенность заболевания приводят к большим трудностям при разработке эффективных лекарственных средств против болезни

Паркинсона. Кроме того, несмотря на многочисленные усилия, нет однозначного ответа на вопрос о связи конкретных изменений в геноме с особенностями фенотипического проявления болезни (возрастом начала первых симптомов, типа болезни, набора конкретных клинических проявлений, чувствительности к лекарственной терапии). Существует недостаточно прямых экспериментальных доказательств вовлеченности тех или иных генов, а также отдельных однонуклеотидных полиморфизмов в патогенез БП.

Материалы и методы: В ходе данной работы создана коллекция образцов мононуклеарных клеток крови пациентов с ранним дебютом БП (до 40 лет) или неоднократным появлением симптомов заболевания в семейном анамнезе. Проведено секвенирование клинического экзома образцов крови пациентов с последующим биоинформатическим анализом данных с помощью веб-программы NGS Wizard (Genomenal, v. 1.8.1, Novel Software Systems LLC). Мононуклеарные клетки пациентов, в геноме которых найдены патологические варианты генов, вызывающие БП, репрограммированы к плюрипотентному состоянию.

Результаты и обсуждение: Полученные индуцированные плюрипотентные стволовые клетки обладают способностью дифференцироваться в производные трех зародышевых листков. Направленная дифференцировка клеток в дофаминергические нейроны позволит получить модель *in vitro* для исследования молекулярных механизмов патогенеза БП и поиска молекул-мишеней для лекарственной и генной терапии заболевания. Созданная клеточная платформа может быть востребована фармацевтическими компаниями, которые осуществляют полный цикл (от доклинических испытаний до вывода продуктов на рынок) разработки лекарств от болезни Паркинсона.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2022-05-03/2022.

Роль генетического индекса при пролиферативных заболеваниях молочной железы

Марковский А.В.
Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия
E-mail: sorcerer-asy@mail.ru

The role of the genetic index in proliferative breast diseases

Markovsky A.V.
Chita State Medical Academy, Chita, Russia
E-mail: sorcerer-asy@mail.ru

Введение: Предрасположенность к пролиферативным заболеваниям молочной железы определяется аллельными вариантами генов, детерминирующими риск развития болезни при взаимодействии с определенными внешними факторами. Среди генов-кандидатов, способных определить данную предрасположенность, в последние годы все большую актуальность приобретают гены гомоцистеинового метаболизма.

Цель работы: Изучение ассоциации сочетанного носительства полиморфизма генов белков фолатного цикла с уровнем аминотиолов в сыворотке крови и образцах опухолевой ткани у больных пролиферативными заболеваниями молочной железы.

Материалы и методы: В исследование вошли 122 пациентки с раком молочной железы (РМЖ) и 60 больных с доброкачественными образованиями молочной железы (ДОМЖ) в возрасте 56±10.0 лет. Контрольную группу составили 142 относительно здоровых женщины в возрасте 40.2±9.5 лет. Определение аминотиолов осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии по методу A.A. Zhloba, E.L. Blashko с небольшими модификациями [1]. Генотипирование для выявления полиморфизма *MTHFR*(C677T), *MTHFR*(A1298C), *MTR*(A2756G*), MTRR*(A66G) проводилось методом полимеразной цепной реакции. Аддитивный эффект носительства изучаемого генетического

полиморфизма у индивидуума оценивали с помощью расчета индивидуального генетического индекса (IGI) [2] - ранжированной величины, характеризующей совокупный эффект носительства изучаемого генетического полиморфизма в группе. Статистический анализ данных проведен с помощью Ms Excel 10.0, Statistica 6.0 и online-калькулятора http.//gen-exp.ru/calculator_or.php. Статистическую значимость различий определяли по критерию Манна-Уитни. Связь между концентрацией тиолов сыворотки крови и ткани молочной железы определяли с помощью коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение: В группе с ДОМЖ расчет IGI относительно уровня сывороточных тиолов показал, что у больных с IGI=1.5-1.75 концентрация цистеина была в 1.3 раза выше (p=0.01), а гомоцистеина в 1.2 раза ниже (p=0.03), чем у больных с IGI=1.25 этой же группы. Однако у лиц с IGI=2.0 уровень гомоцистеина становится в 1.3 раза выше, чем у больных как с IGI=1.5 (p=0.009), так и 1.75 (p=0.003). Среди больных РМЖ, имеющих IGI=2-2.25, уровень цистеина и гомоцистеина превышал в среднем в 1.3 раза соответствующий показатель в группе у лиц с IGI=1.0-1.25 (p=0.03).

Исследование концентрации аминотиолов в опухолевой ткани молочной железы с учетом IGI также показало статистически значимые отличия в исследуемых группах. Так у пациенток с ДОМЖ с более высоким IGI равным от 1.5-2 был отмечен более низкий уровень гомоцистеина (p=0.03) и цистеинилглицина (p=0.008) (в среднем в 3.8 раза), а также глутамилцистеина (p=0.01) (в 2.5 раза) в сравнении с соответствующим показателя внутри группы у лиц с IGI=1.25. У больных РМЖ с IGI равным 2.25 и 1.75 наблюдалась более высокая концентрация, соответственно, цистеина и гомоцистеина, превышающая в 2.3 (p=0.02) и 1.4 (p=0.05) раза аналогичный показатель внутри группы у лиц с IGI=1.5.

Для оценки аддитивного влияния предиктивных аллелей был проведен корреляционный анализ IGI и уровня аминотиолов, на основании которого установлена связь между величиной IGI и уровнем гомоцистеина, причем в подгруппе с РМЖ - прямая (R=0.212, *p*=0.02), а в подгруппе с ДОМЖ - обратная (R=-0.47, *p*=0.01), и в первом случае изменение концентрации гомоцистеина отмечалось в сыворотке, а во-втором – в опухолевой ткани.

Заключение: Таким образом, у больных РМЖ отмечалась явная тенденция к росту концентрации тиолов (и чаще всего гомоцистеина) с увеличением величины IGI, причем как сывороточных, так и в опухолевой ткани молочной железы. В группе с ДОМЖ также наблюдалась связь уровня аминотиолов с генетическим индексом, но при этом если в сыворотке связь была прямая, то в ткани молочной железы она носила обратный характер, и с увеличением IGI уровень тиолов (гомоцистеина, цистеинилглицина и глутамилцистеина) оставался значимо меньше. Из результатов корреляционного анализа видно, что, чем выше величина IGI, т.е. чем больше рисковых аллелей, тем выше уровень гомоцистеина в сыворотке у больных РМЖ, и ниже в образцах опухолевой ткани у пациенток с ДОМЖ.

Список литературы:

1. Марковский А.В. Роль полиморфизма генов фолатного метаболизма и сывороточных аминотиолов в формировании различных гистологических типов рака молочной железы. Забайкальский медицинский вестник. 2019, (2): 40-47. DOI: 10.52485/19986173_2019_2_40
2. Марковский А.В., Страмбовская Н.Н., Терешков П.П. Молекулярно-генетические и сывороточные маркеры нарушений фолатного обмена у больных пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2017, 16 (2): 50-55. DOI: 10.21294/18144861-2017-16-2-50-55

Генотоксические эффекты у работников угольных предприятий Кузбасса

Минина В.И.[1,2], Савченко Я.А.[1,2], Баканова М.Л.[1,2], Торгунакова А.В.[1,2]*
[1] Кемеровский государственный университет, г. Кемерово, Россия
[2] Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук, Кемерово, Россия
[*]E-mail: vminina@mail.ru

Genotoxic effects in workers coal enterprises of Kuzbass

Minina V.I.[1,2], Savchenko Ya.A.[1,2], Bakanova M.L.[1,2], Torgunakova A.V.[1,2]*
[1] Kemerovo State University, Kemerovo, Russia
[2] The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russia
[*]E-mail: vminina@mail.ru

Введение: Кузбасс – один из крупнейших индустриальных регионов России, основной отраслью промышленности которого является добыча угля. Наиболее опасным токсикантом на промышленных площадках угольных предприятий выступает угольная пыль. Она представляет собой гетерогенную смесь веществ неорганической и органической природы: нано-и микроразмерные частицы, тяжелые металлы (хром, марганец, железо, кобальт, никель, медь, цинк, кадмий, свинец, селен, ртуть, мышьяк), радиоактивные элементы (уран, торий, радий, радон), альдегиды, толуол, стирол, оксиды азота и углерода, сероводород; аммиак, полициклические ароматические углеводороды и др. Воздействие этих факторов на геном человека потенциально способно приводить к накоплению повреждений ДНК и повышению уровня хромосомной нестабильности [1].

Цель: изучение уровня и спектра хромосомных аберраций (ХА) в клетках периферической крови у рабочих угольных шахт Кузбасса.

Материалы и методы: Обследованы 993 жителя Кузбасса (европеоиды, мужского пола, средний возраст 50 лет). Первую группу составили 285 здоровых шахтеров, работающих на шахтах Березовская и

Первомайская, в анамнезе которых отсутствовали профессионально обусловленные патологии. Вторую группу составили 208 шахтеров с диагностированным раком легкого (РЛ) и не работающие на производстве в настоящее время. В качестве индивидов контрольной группы обследованы доноры областной станции переливания крови без хронических заболеваний и опыта работы на вредных производствах (n=500). Материалом для исследования послужила цельная периферическая кровь. Культивирование лимфоцитов крови для получения препаратов хромосом осуществляли по стандартному полумикрометоду [2]. Статистическая обработка материала проводилась с использованием «Statistica 10.0» (StatSoft, Inc., USA).

Результаты и обсуждение: В результате проведенного исследования установлено, что средняя частота ХА у здоровых шахтеров статистически значимо выше, чем у индивидов контрольной группы (p = 0.000001) как по уровню аберраций хроматидного типа (p = 0.00004), так и хромосомного типа (p = 0.004). Самые высокие уровни хромосомных аберраций наблюдались у рабочих таких профессий как проходчик (4.30±0.36 %), горнорабочий очистного забоя (4.29±0.39 %), подземный электрослесарь (3.99±0.29 %) и горный мастер (3.69±0.50 %). В крови шахтеров больных РЛ также зарегистрирован повышенный уровень повреждений хромосом по сравнению с контролем (p = 0.000001). Значимых отличий цитогенетических характеристик у пациентов с различным гистологическим типом рака, а также с различными вариантами локализации опухоли выявлено не было. У троих больных РЛ обнаружены клетки с массивными повреждениями хромосомного типа - Rogue cells (частота 0.003 ± 0.001%), имеющие весьма специфический спектр аномалий: множественные дицентрические или трицентрические хромосомы, а также многочисленные парные фрагменты (в том числе

double minutes). Обнаруженное нами накопление ХА у шахтеров-подземщиков согласуется с выводами выполненных ранее цитогенетических исследований на угольных шахтах Перу и Турции [3, 4].

Заключение. Таким образом, накопление повреждений хромосом разных типов в лимфоцитах периферической крови шахтеров отражает высокую интенсивность мутационного процесса у рабочих угольных предприятий Кузбасса.

Список литературы:

1. Leon-Mejia G., Silva L.F., Civeira M.S. et al. Cytotoxicity and genotoxicity induced by coal and coal fly ash particles samples in V79 cells. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2016, 23(23): 24019–24031. doi: 10.1007/s11356-016-7623-z
2. Bucton K. E., Evans H. J. Methods for the analysis of human chromosome aberrations // WHO. Geneva, 1993. 66 p.
3. Santa Maria S.R., Arana M., Ramirez O. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes from male native miners working in the Peruvian Andes. Genetics and Molecular Biology. 2007, 30(4): 1135–1138
4. Donbak L., Rencuzogullari E., Yavuz A., Topaktas M. The genotoxic risk of underground coal miners from Turkey. Mutat. Res. 2005, 588(2): 82–87.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ и Кемеровской области в рамках научного проекта № 20-44-420012.

Роль и значение кисспептинов в молекулярных механизмах патологии дыхательной системы

Миронова Е.С.[1,2], Дробинцева А.О.[1,3], До Нгок Хоп[1,4,5], Новак-Бобарыкина У.А.[4]*

[1] Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

[2] Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия;

[3] Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

[4] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

[5] Вьетнамская военно-медицинская академия, Ханой, Вьетнам

[*]E-mail: katerina.mironova@gerontology.ru

The role and significance of kisspeptins in the molecular mechanisms of the respiratory system pathology

Mironova E.S.[1,2], Drobintseva A.O.[1,3], Do Ngok Hop[1,4,5], Novak-Bobarykina U.A.[4]*

[1] St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russia;

[2] St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia;

[3] St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia;

[4] St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia;

[5] Vietnam Military Medical Academy, Hanoi, Vietnam

[*]E-mail: katerina.mironova@gerontology.ru

Изучение причин возникновения и механизмов развития патологии дыхательной системы, а также разработка адекватных методов диагностики, лечения и профилактики таких заболеваний, осуществляемых на молекулярном и клеточном уровнях, является не только важной, но и крайне актуальной задачей биомедицины. Как известно, нарушение гомеостаза между пролиферацией клеток и апоптозом приводит к воспалительным изменениям и/или фиброзу лёгочной ткани. Все больше данных современных исследований демонстрирует вовлечение кисспептинов (KP) и их участие в регуляции клеточного цикла, ограничении метастазирования клеток и других процессах.

В исследовании на мышах было показано, что КР-13 значительно уменьшил легочный фиброз, понижая экспрессию коллагена I типа α1, актина α2 и MMP2. Кроме того, уровни экспрессии TNFα и TGF-β также заметно снижались в легких в ответ на введение КР-13 мышам с блеомициновым фиброзом легких по сравнению с контрольной группой, не получавших кисспептин. Ежедневное введение КР-13 мышам влияло на общее физическое состояния животных, значительно уменьшая потерю веса. При гистопатологическом исследовании выявлено снижение отложение коллагена в легких и незначительное поражение альвеолярного эпителия у мышей с блеомициновым фиброзом легких из группы с введением КР-13 по сравнению с контролем. Кроме того, при введении антагониста рецептора кисспептина (КР-234) антифиброзный эффект у мышей, получавших блеомицин, отсутствовал [1]. Таким образом результаты исследования подтверждают терапевтический эффект КР-13 при фиброзе легких.

Показано, что у мышей, подвергшиеся воздействию смеси аллергенов, значительно ухудшилась функция легких по сравнению с контрольной группой, тогда как введение КР-54 мышам с бронхиальной астмой (БА), улучшило функцию легких. Также установлено, что у мышей с БА, индуцированной смешанными аллергенами, и получавшим КР-54, значительно снижено рекрутирование воспалительных клеток в ткань легкого (особенно эозинофилов). Результаты гистологического исследования показали значительное улучшение структурной морфологии бронхов и уменьшение толщины мышечной пластинки при индуцированной БА у мышей, получавших КР-54, по сравнению с контрольной группой. Кроме того, с помощью лазерной микродиссекции были изолированы участки гладкий мышц дыхательных путей и проведен RT-qPCR анализ генов, имеющих отношение к ремоделированию

дыхательных путей. Установлено, что КР-54 снижал экспрессию PCNA, фибронектина и коллагенов I и III типов в модели индуцированной БА у мышей [2]. Таким образом, КР могут рассматриваться как потенциальные терапевтические агенты для уменьшения гипереактивности дыхательных путей и ремоделирования легочной ткани при БА.

Обнаружено, что экспрессия КР-54 была значительно выше на начальных стадиях немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) (I-II) по сравнению с более продвинутыми стадиями (III-IV). Также экспрессия КР-54 была значительно выше при НМРЛ без метастазов, чем при наличии метастазов. Кроме того, экспрессия КР-54 в первичных опухолях была значительно выше, чем в метастазах [3]. Как известно, ММР-9 участвует в деградации внеклеточного матрикса, стимулировании роста опухоли и метастазировании за счет своего ангиогенного действия. При сравнении экспрессии КР-54 и ММР-9 установлена отрицательная корреляция, то есть чем больше КР-54, тем менее активна ММР-9 [4]. Полученные результаты показывают, что КР могут служить важными биомаркерами для оценки метастатического потенциала и прогнозирования течения заболевания у пациентов с НМРЛ.

Список литературы:

1. Lei Z., Bai X., Ma J., Yu Q. Kisspeptin-13 inhibits bleomycin-induced pulmonary fibrosis through GPR54 in mice. Mol Med Rep. 2019; 20(2): 1049-1056.
2. Borkar N.A., Ambhore N.S., Kalidhindi R.S.R., Pabelick C.M., Prakash Y.S., Sathish V. Kisspeptins inhibit human airway smooth muscle proliferation. JCI Insight. 2022: e152762.
3. Sun Y.B., Xu S. Expression of KISS1 and KISS1R (GPR54) may be used as favorable prognostic markers for patients with non-small cell lung cancer. Int J Oncol. 2013; 43(2): 521-530.
4. Zheng S., Chang Y., Hodges K.B., Sun Y., Ma X., Xue Y., Williamson S.R., Lopez-Beltran A., Montironi R., Cheng L. Expression of KISS1 and MMP-9 in non-small cell lung cancer and their relations to metastasis and survival. Anticancer Res. 2010; 30(3): 713-718.

Роль и значение МТ4-ММП в патогенезе опухолевой прогрессии

Миронова Е.С.[1,2], Зубарева Т.С.[1,2], До Нгок Хоп[1,3,4], Новак-Бобарыкина У.А.[3]*

[1] Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии
МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

[2] Санкт-Петербургскй институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

[3] Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

[4] Вьетнамская военно-медицинская академия, Ханой, Вьетнам

[*]E-mail: katerina.mironova@gerontology.ru.

The role and significance of MT4-MMP in the pathogenesis of tumor progression

Mironova E.S.[1,2], Zubareva T.S.[1,2], Do Ngok Hop[1,3,4], Novak-Bobarykina U.A.[3]*

[1] St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russia

[2] St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia

[3] St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

[4] Vietnam Military Medical Academy, Hanoi, Vietnam

[*]E-mail: katerina.mironova@gerontology.ru.

Новообразования в целом, особенно злокачественные опухоли, занимают второе место в структуре заболеваемости человека и являются одной из основных причин смерти и инвалидизации населения. При всем разнообразии светооптических морфологических признаков, а также ультраструктурных, биохимических, иммунологических и генетических параметров развитие неопластических изменений в тканях и органах имеет свои особенности. Основным патофизиологическим признаком злокачественных новообразований является утрата зависимости от внешних регуляторов и автономный рост [1, 2].

В настоящее время возникновение и распространение в организме злокачественной клеточной трансформации связывают с нарушением регуляции механизмов контроля, обусловленной, в основном, изменениями

в структурных компонентах генов, кодирующих синтез многих сигнальных молекул, осуществляющих координацию межклеточных и межтканевых коммуникаций [2, 3].

Разработка новых биологических маркеров опухолевого процесса является одной из приоритетных задач современной молекулярной медицины, так как успех в этом направлении, несомненно, позволит оптимизировать диагностику и повысить качество таргетного персонифицированного лечения опухолей.

Матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы рассматриваются в качестве одних из наиболее перспективных сигнальных молекул – биомаркеров опухолевого процесса, так как они вовлечены практически во все этапы возникновения и прогрессии злокачественных новообразований [4]. Особенный интерес в инициации и развитии опухолей различной локализации привлекает матричная металлопротеиназа мембранного типа 4 (МТ4-ММП) или ММП-17 (альтернативное название) [5].

МТ4-ММП была открыта более 20 лет назад, однако, по сравнению с другими МТ-ММП, относительно мало исследований было посвящено ее свойствам. Сообщается, что МТ4-ММП экспрессируются в высокой концентрации в опухолевых клетках человека и ассоциированы с прогрессией опухолевого процесса. Нарушение экспрессии МТ4-ММП наблюдалось при раке желудка, толстой кишки, головы, шеи, молочной железы и опухоли легкого. Широкий анализ исследований, приведенный авторами в тексте статьи, позволяет рассмотреть МТ4-ММП как многообещающий молекулярный маркер опухолевой прогрессии [6, 7].

Разработка прогностических биохимических маркеров для оптимизации скрининга онкологических больных с высоким риском возникновения метастазов и рецидивов является одной из самых

актуальных проблем современной молекулярной медицины. В этой связи пристальное внимание исследователей обращено на матриксные металлопротеиназы в силу присущих им биологических свойств. Дальнее расширение исследований в этом направлении открывает новые перспективы для детального выяснения роли МТ4-ММП как возможного онкомаркера и мишени таргетной противопухолевой терапии.

Список литературы:

1. Terrén I, Borrego F. Role of NK Cells in Tumor Progression. Exp Suppl. 2022; 113: 169-187.
2. Xu J., Liao K., Yang X., et al. Using single-cell sequencing technology to detect circulating tumor cells in solid tumors. Mol Cancer. 2021; 20(1): 104. doi: 10.1186/s12943-021-01392-w.
3. Zefferino R., Di Gioia S., Conese M. Molecular links between endocrine, nervous and immune system during chronic stress. Brain Behav. 2021; 11(2): 1-15. doi: 10.1002/brb3.1960.
4. Niland S., Riscanevo A.X., Eble J.A. Matrix metalloproteinases shape the tumor microenvironment in cancer progression. Int J Mol Sci. 2021; 23(1): 146. doi: 10.3390/ijms23010146.
5. Itoh Y., Kajita M., Kinoh H. et al. Membrane type 4-matrix metalloproteinase (MT4-MMP, MMP-17) is a glycosylphosphatidylinositol-anchored proteinase. Journal of Biological Chemistry. 1999; 274(48): 34260-34266. doi: 10.1074/jbc.274.48.34260.
6. Hieronimus B., Pfohl J., Busch C., Graeve L. Expression and characterization of membrane-type 4 matrix metalloproteinase (MT4-MMP) and its different forms in melanoma. Cellular Physiology and Biochemistry. 2017; 42(1): 198-210. doi: 10.1159/000477311.
7. Clemente C., Rius C., Alonso-Herranz L., et al. MT4-MMP deficiency increases patrolling monocyte recruitment to early lesions and accelerates atherosclerosis. Nature communications. 2018; 9(1): 1-16. doi: 10.1038/s41467-018-03351-4.

Ассоциация генетических полиморфизмов с когнитивными нарушениями у пациентов с деменцией и легким когнитивным снижением

Очнева А.Г.[1], Зоркина Я.А.[1,2], Павлов К.А.[2], Абрамова О.В.[1,2], Федосеева Е.Д.[3], Иконникова А.Ю.[3], Емельянов М.А.[3], Грядунов Д.А.[3], Морозова А.Ю.[1,2], Андрющенко А.В.[1], Андреюк Д.С.[1], Савилов В.Б.[1], Курмышев М.В.[1], Сюняков Т.С.[1], Карпенко О.А.[1], Костюк Г.П.[1]*

[1] Психиатрическая больница № 1 им. Н.А. Алексеева, Москва, Россия,
[2] Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского, Москва, Россия
[3] Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Moscow, Russia
[*]E-mail: aleksochneva@yandex.ru

Association of genetic polymorphisms with cognitive impairment in patients with dementia and mild cognitive impairment

Ochneva A.G.[1], Zorkina Y.A.[1,2], Pavlov K.A.[2], Abramova O.V.[1,2], Fedoseeva E.D.[3], Ikonnikova A.Yu.[3], Emelyanov M.A.[3], D. Gryadunov D.A.[3], Morozova A.Y.[1,2], A. Andryshchenko A.V.[1], Andreyuk D.S.[1], Savilov V.B.[1], Kurmyshev M.V.[1], Syunyakov T.S.[1], Karpenko O.A.[1], Kostyuk G.P.[1]

[1] Mental-Health Clinic No. 1 named after N.A. Alekseev, Moscow, Russia,
[2] V. Serbsky Federal Medical Research Centre of Psychiatry and Narcology, Moscow, Russia,
[3] Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[*]E-mail: aleksochneva@yandex.ru

Введение: Нейрокогнитивные расстройства, особенно тяжелые деменции, имеют огромные последствия для людей, их семей, системы здравоохранения и экономики. По данным ВОЗ деменцией страдает 55 миллионов человек (8,1% женщин и 5,4% мужчин в возрасте старше 65 лет). За последние два десятилетия в области исследований нейродегенеративных заболеваний произошли серьезные сдвиги, поскольку новые технологии и аналитические методы позволили провести масштабные исследования генома. Руководствуясь, в первую очередь, генетическими исследованиями, а позднее - транскриптомными и эпигеномными исследованиями с достаточным размером выборок, был

обнаружен ряд локусов, которые ассоциированы с нейродегенеративными расстройствами [1].

Цель исследования: Поиск ассоциаций генетических полиморфизмов с когнитивными нарушениями у пациентов с диагнозом деменция и легким когнитивным снижением.

Материалы и методы: Всего в исследование было включено 380 пациентов: 100 пациентов с болезнью Альцгеймера, 129 пациентов с MCI (легкими когнитивными нарушениями), 151 пациент в качестве контрольной группы (того же возраста). Уровень когнитивных нарушений оценивали по шкале MoCa (Монреальская когнитивная шкала). Образцы геномной ДНК получали из лимфоцитов периферической крови с помощью автоматической системы выделения ДНК (QIAGEN QIAcube) в соответствии с рекомендациями производителя. Все SNP были прогенотипированы с использованием коммерческих наборов TaqMan assays (Applied Biosystems, Thermo Fisher, США). Анализ проводили с использованием системы ПЦР в реальном времени QuantStudio 5 (Applied Biosystems, Thermo Fisher, США). Полиморфизмы, выбранные для анализа: rs2462021, rs3806263, rs7296262, rs10898553, rs11833579, rs16841143, rs165774 rs1090303, rs3781878, rs4918918, rs7305115, rs358592, rs2834789, rs7979008, rs7982251, rs9475195, rs429358, rs7412. Ассоциации генетических полиморфизмов с когнитивными симптомами проводили при помощи дисперсионного анализа ANOVA в программе R.

Результаты и обсуждение: Выявлена связь общего балла по шкале MoCa с генотипами. Анализ был проведен с учетом возраста пациента. Среди проанализированных полиморфизмов, ассоциированных с когнитивными нарушениями, оказался генотип *APOE* ε4 (кодирует белок, участвующий в метаболизме липидов), rs429358 и rs7412. Другими исследователями также показано, что ген *APOE* ε4 связан с диагнозом

болезнь Альцгеймера и когнитивным снижением [2]. До применения поправки на множественное сравнение, была выявлена ассоциация с rs4918918, геном *SORBS1* (кодирует белок, являющийся важным белком в сигнальном пути, который опосредует захват глюкозы клеткой, что стимулируется инсулином).

Заключение: Мы выявили ассоциации генетических полиморфизмов в гене *APOE* ε4 и в гене *SORBS1* с показателями когнитивных нарушений по шкале MoCa. В дальнейшем планируется расширить выборку пациентов и используемые полиморфизмы.

Исследование выполнено в рамках Соглашения с Автономной некоммерческой организацией «Московский центр инновационных технологий в здравоохранении» № 2708-1.

Список литературы:

1. Hermann, P., Zerr, I. Rapidly progressive dementias — aetiologies, diagnosis and management. Nat Rev Neurol 2022
2. Roses AD, Saunders AM. APOE is a major susceptibility gene for Alzheimer's disease. Curr Opin Biotechnol. 1994 Dec;5(6):663-7.

Бинарные молекулярные биомаркеры ДНК для персонализированной медицины критических состояний

Писарев В.М.[1], Чумаченко А.Г.[1], Ершова Е.С.[2], Костюк С.В.[2], Тутельян А.В.[3]*

[1] Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, Москва, Россия;

[2] Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова, Москва, Россия;

[3] Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

[*]E-mail: vpisarev@gmail.com

Binary molecular DNA biomarkers for personalized medicine of critical illness

Pisarev V.M.[1], Chumachenko A.G.[1], Ershova E.S.[2], Kostyuk S.V.[2], Tutelyan A.V.[3]*

[1] Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russia;

[2] Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia;

[3] Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

[*]E-mail: vpisarev@gmail.com

Введение: Острые и хронические критические состояния (КС) – угрожающие жизни патологические состояния, возникающие в результате тяжелых повреждений жизненно важных органов и систем, сопровождаемые развитием множественной органной недостаточности (МОН) и требующие своевременного применения высокотехнологичных методов жизнеобеспечения. Механизмы развития тяжелых КС во многом определяются прогрессированием окислительного стресса и провоспалительных реакций. Имеются основания полагать, что высокая гетерогенность доминирующих механизмов развития КС и вариабельность предрасполагающих генетических/эпигенетических факторов (генетический полиморфизм, дифференциальное метилирование генома) лежат в основе клинического разнообразия проявлений КС и различий в чувствительности к лечению. Недостаточность знаний о патогенетически значимых биомаркерах и их клинической информативности сдерживает

развитие персонализированной медицины КС. Предположили, что генетический полиморфизм паттерн-распознающих структур - толл-подобных рецепторов TLR9, участвующих в осуществлении воспалительных реакций, и накопление в плазме их лигандов – фрагментов внеклеточной ДНК (вкДНК) при КС могут явиться патогенетически значимыми парными (бинарными) биомаркерами течения и исхода КС и помочь в осуществлении персонифицированного формата методов жизнеобеспечения КС.

Цель исследования: Определение информативности бинарных биомаркеров – циркулирующих молекул вкДНК и аллельных вариантов гена их рецептора - TLR9, rs352162 и rs187084, для прогноза течения и исхода КС у пациентов с инсультом и сепсисом на фоне коморбидности.

Материалы и методы: Исследованы 138 пациентов с острым ишемическим или геморрагическим инсультом и 110 пациентов с сепсисом (SEPSIS-3, 2016) на фоне сахарного диабета или заболеваний сердечно-сосудистой системы. ВкДНК выделяли из плазмы пациентов, используя органические растворители, концентрацию определяли спектрофотометрические, используя SyberGreen. Генотипирование аллельных вариантов TLR9 - rs352162 (генотипы CC, CT и TT) и rs187084 (генотипы CC, CT и TT) – проводили с помощью ПЦР, используя тетрапраймерный набор, с последующей визуализацией продуктов после их электрофоретического разделения в агарозном геле. Статистические расчеты проводили после определения характера распределения переменных (тест Шапиро-Вилка) с помощью пакетов программ GraphPadInStat и SigmaPlot 12.5, используя для сравнении групп критерии t Стьюдента и Манна-Уитни, точный метод Фишера, log-rank тест, One-Way ANOVA и рассчитывая средние и доверительные интервалы, медианы и интерквартильный размах, площади под кривой (AUC), отношения шансов

(OR) и построение кривых выживания (плоты Каплан-Мейера). Различия считали значимыми при $p<0.05$.

Результаты и обсуждение: Показано, что наибольшая летальность (68%) пациентов с инсультом ассоциировалась в наиболее высоком квартиле, соответствующем максимальному накоплению вкДНК в плазме, тогда как самой нижней квартили соответствовала смертность 4%. Наибольшие ассоциации содержания вкДНК и летальности были выявлены в группах пациентов с инсультом и сепсисом генотипа TLR9 CC (rs352162) по сравнению с пациентами тех же групп, но альтернативных генотипов (CT+TT). Именно для пациентов генотипа TLR9 CC (rs352162) были характерны максимальные значения коэффициента корреляции уровня вкДНК при госпитализации и значений оценок состояния по шкалам SOFA, NIHSS, Rankin, APACHE II, а также отношения содержания нейтрофилов к содержанию лимфоцитов в крови. Наличие повышенного содержания вкДНК и аллеля C TLR9 (rs352162) в гомозиготном состоянии было наиболее информативным для прогноза исхода КС. Показали также, что относительно высокое содержание циркулирующей вкДНК в плазме может быть снижено при использовании для лечения пациентов с сепсисом гемосорбента Эфферон ЛПС (https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04827407).

Заключение: Результаты свидетельствуют о том, что наличие бинарного биомаркера – повышенного содержания вкДНК в плазме и варианта гена CC (rs352162) рецептора вкДНК TLR9 - прогнозирует неблагоприятные течение и исход различных КС. Предполагается, что бинарный биомаркер может быть использован для стратификации пациентов с целью их лечения ингибиторами TLR9 или для осуществления персонифицированной экстракорпоральной гемосорбции у пациентов с КС для предотвращения летальности пациентов в КС, наиболее

предрасположенных к патогенному воздействию высокого содержания вкДНК.

Уровень высокомолекулярного адипонектина и его ассоциация с липидным спектром сыворотки крови у пациентов с ишемической болезнью сердца

Побожева И.А.[1,2], Полякова Е.А.[1], Пантелеева А.А.[1,2], Драчева К.В.[1,2], Беляева О.Д.[1], Беркович. О.А.[1], Баранова Е.И.[1], Пчелина С.Н.[1,2], Мирошникова В.В.[1,2]

[1] Первый Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

[2] Петербургский институт ядерной физики НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

E-mail: perhaps_to_be@mail.ru

The level of high molecular weight adiponectin and its association with the lipid spectrum of blood serum in patients with coronary heart disease

Pobozheva I.A.[1,2], Polyakova E.A.[1], Panteleeva A.A.[1,2], Dracheva K.V.[1,2], Belyaeva O.D.[1], Berkovich. O.A.[1], Baranova E.I.[1], Pchelina S.N.[1,2], Miroshnikova V.V.[1,2]

[1] First St. Petersburg State Medical University na acad. I.P. Pavloa, St. Petersburg, Russia

[2] St. Petersburg Institute of Nuclear Physics, National Research Center "Kurchatov Institute", Gatchina, Russia

E-mail: perhaps_to_be@mail.ru

Введение: Адипонектин является одним из противовоспалительных адипокинов, секретируемых жировой тканью, который не только регулирует энергетический гомеостаз, но и играет защитную роль в регуляции процесса атерогенеза, главным образом за счет снижения сосудистого воспаления [1]. Снижение концентрации адипонектина в плазме крови отмечается при следующих патологиях: ожирение, атеросклероз, сахарный диабет 2 типа, ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда [2, 3]. Адипонектин циркулирует в крови в виде трех олигомерных комплексов: тримеров, гексамеров и мультимеров. При этом мультимерная форма, т.е. высокомолекулярный адипонектин (ВМАН), имеет наибольшую биологическую активность и способствует проявлению антиатерогенных эффектов адипонектина [4]. Однако в настоящее время

остается неясным, как регулируется уровень ВМАН в сыворотке крови, в том числе за счет экспрессии гена адипонектина (*ADIPOQ*) в разных типах жировой ткани (подкожной (ПЖТ) и эпикардиальной (ЭЖТ)).

Цель работы: Исследование ассоциации уровня ВМАН с липидным спектром и развитием ИБС, а также оценка корреляции уровня ВМАН сыворотки крови с экспрессией гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПЖТ.

Материалы и методы: Образцы сыворотки периферической крови были получены от 73 пациентов (71% мужчин и 29% женщин, средний возраст 61.3±9.7): 57 пациентов с ИБС и 16 лиц группы сравнения без клинических признаков ИБС и атеросклеротического поражения коронарных артерий. Концентрацию общего адипонектина и ВМАН в сыворотке крови измеряли методом иммуноферментного анализа.

Ранее у обследованных лиц были собраны парные образцы ЭЖТ и ПЖТ и проведена оценка уровня экспрессии гена *ADIPOQ:* относительный уровень мРНК был определен методом ПЦР в режиме реального времени, а содержание ВМАН - методом вестерн-блот. Статистическая обработка данных выполнялась с использованием программы SPSS 23.0. Критический уровень статистической значимости различий принимали равным 0.05.

Результаты и обсуждение: Концентрация ВМАН, как и концентрация общего адипонектина в сыворотке крови была ниже у пациентов с ИБС, чем у лиц из группы сравнения (p=0.015). Концентрация ВМАН в сыворотке крови положительно коррелировала с концентрацией общего адипонектина (r=0.528, p=0.000). Концентрация ВМАН, как и концентрация общего адипонектина, в сыворотке крови у женщин была ниже, чем у мужчин (p=0.015). Была показана обратная корреляция с окружностью талии (r=-0.314, p=0.014). Концентрация ВМАН в сыворотке крови связана с изменением липидного спектра сыворотки крови: наблюдалась положительная корреляция с уровнем липопротеинов низкой (r=0.358,

p=0.009) и высокой плотности (r=0.349, *p*=0.011) и обратная корреляция с уровнем триглицеридов (r=-0.285, *p*=0.020) и липопротеинов очень низкой плотности (r=-0.331, *p*=0.026). Не была выявлена корреляция уровня ВМАН в сыворотке крови ни с уровнем белка адипонектина, ни с экспрессией гена *ADIPOQ* в жировой ткани, однако ранее нами было показано снижение уровня ВМАН и мРНК гена ADIPOQ в ПЖТ у пациентов с ИБС, по сравнению с лицами группы сравнения [5].

Заключение: Полученные данные свидетельствуют о том, что снижение уровня ВМАН ассоциировано с изменением показателей липидного спектра сыворотки крови и развитием ИБС, вне зависимости от уровня экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПЖТ.

Список источников:

1. Karbowska J., Kochan Z. Role of adiponectin in the regulation of carbohydrate and lipid metabolism // J PhysiolPharmacol. – 2006.– V.57, №6.– P.103-113.
2. Zoccali C., Mallamaci F., Tripepi G., Parlongo S., Malatino L., Bonanno G., et al. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. // J. Am. Soc. Nephrol. –2002 –V. 13. –P. 134-141.
3. Li S., Shin H.J., Ding E.L., van Dam R.M. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis // JAMA. – 2009.– V. 302.– P. 179-188.DOI: 10.1001/jama.2009.976
4. Rutkowski J.M., Scherer P.E. Isolation and quantitation of adiponectin higher order complexes // Methods Enzymol. – 2014.– V. 537.– P.243-59.DOI: 10.1016/B978-0-12-411619-1.00013-6
5. Побожева И.А., Разгильдина Н.Д., Полякова Е.А., Пантелеева А.А., Беляева О.Д., Нифонтов С.Е., Галкина О.В., Колодина Д.А., Беркович. О.А., Баранова Е.И., Пчелина С.Н., Мирошникова В.В. Экспрессия гена адипонектина в эпикардиальной и подкожной жировой ткани при ишемической болезни сердца, Кардиология. – 2020. – Т.60, №3. – С.62-69.

Таргетная терапия болезни Паркинсона

Пчелина С.Н.[1,2], Усенко Т.С.[1,2], Емельянов А.К.[1.2], Рычков Г.Н.[1], Захарова Е.Ю.[3]*

[1] НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Гатчина, Россия

[2] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

[3] Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия

[*]E-mail: sopchelina@hotmail.com

Target therapy of Parkinson's Disease

Pchelina S.N.[1,2], Usenko T.S. [1,2], Emelyanov A.K.[1,2], Rychkov G.N.[1], Zakharova E.Y.[3]*

[1] NRC «Kurchatov Institute» - PNPI

[2] Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Researcher center, St. Petersburg, Russia

[3] Research Center for Medical Genetics, Laboratory of Hereditary Metabolic Diseases, Moscow, Russia

[*]E-mail: sopchelina@hotmail.com

Введение: В последние годы наблюдается прорыв в разработке нейропротекторных препаратов направленного действия (таргетных) для лечения распространенного нейродегенеративного заболевания, болезни Паркинсона (БП). Несколько лекарственных форм находятся в настоящее время на второй стадии клинических испытаний. Разработка данного класса препаратов стала возможна в результате описания молекулярной этиологии развития наследственных форм БП. Наиболее обсуждаемые мишени – лизосомный фермент глюкоцереброзидаза, GBA, мутантные формы которой, ассоциированные со снижением активности фермента, приводят к развитию наследственного заболевания из класса лизосомных болезней накопления, болезни Гоше, и повышают риск развития БП в 8-10 раз, а также обогащенная лейциновыми повторами киназа 2, LRRK2, мутантные формы которой, приводящие к повышению киназной активности, вызывают развитие аутосомно-доминантной формы БП.

Целью нашего многолетнего исследования является разработка таргетных лекарственных препаратов для лечения GBA- и LRRK2-БП.

Материалы и методы: С использованием построенной атомарной модели GBA нами проведен молекулярный докинг описанных ранее соединений, связывающихся с GBA и приводящих к повышению активности данного фермента, фармакологических шаперонов (ФШ) GBA, предложены химические модификации соединений, проведен их синтез. Влияние новых ФШ GBA, а также известного ингибитора LRRK2, MLi-2, на активность GBA было протестировано на первичной культуре макрофагов от пациентов с GBA-БП и LRRK2 -БП. Дифференцировку моноцитов в макрофаги проводили с использованием колониестимулирующего фактора макрофагов (М-КСФ) (Sigma-Aldrich, USA) в конечной концентрации 10 нг/мл. Ферментативную активность лизосомных гидролаз оценивали методом тандемного масс-спектрометрического анализа. Эффективность действия MLi-2 на активность LRRK2 оценивали по соотношению нефосфориллированного к фосфориллированному белку rab10 методом вестерн блоттинга с использованием антител MJF-R23, MJF-R21 (Abcam, USA).

Результаты и обсуждение: При воздействии предложенных соединений на первичную культуру макрофагов от пациентов с GBA-БП мы показали статистически значимое повышение ферментативной активности GBA как при воздействии предложенными нами ФШ GBA, так и ингибитором LRRK2. Однако, в то время как ФШ GBA оказывали селективное действие, культивирование макрофагов с MLi-2 приводило к повышению активности ряда лизосомных гидролаз.

Заключение: Нами предложены новые ФШ GBA, показавшие большую эффективность в восстановлении активности GBA по сравнению с исходными соединениями. Впервые на культуре первичных макрофагов

показано повышение активности GBA при действии ингибитора LRRK2, однако, в отличие от ФШ GBA, действие MLi-2 приводило также к повышению активности и других лизосомных гидролаз.

Исследование выполнено при поддержке грантов РНФ№22-25-00501, РНФ№ 22-25-00721.

Виртуальный скрининг как подход для поиска потенциальных фармакологических шаперонов глюкоцереброзидазы

Рычков Г.Н.[1,2], Тюрин А.А.[3], Белых Е.А.[1], Николаев М.А.[1,3], Сорогина Д.А.[1], Пчелина С.Н.[1,3,4], Емельянов А.К.[1,3]*

[1] Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина, Россия;

[2] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

[3] Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия;

[4] Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: rychkov_gn@pnpi.nrcki.ru

Virtual screening as an approach to search for pharmacological glucocerebrosidase chaperones

Rychkov GN[1,2], Tyurin A.A.[3], Belykh E.A.[1], Nikolaev MA[1,3], Sorogina D.A.[1], Pchelina S.N.[1,3,4], Emelyanov A.K.[1,3]*

[1] Petersburg Nuclear Physics Institute na B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia;

[2] Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia;

[3] Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia;

[4] Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

*E-mail: rychkov_gn@pnpi.nrcki.ru

Введение: Считается, что наиболее распространенным фактором повышенного риска развития болезни Паркинсона (БП) являются мутации в гене глюкоцереброзидазы (GBA). В гомозиготном, а также в компаундном гетерозиготном состоянии, мутации в данном гене приводят к развитию наследственного заболевания — болезни Гоше (БГ). У пациентов с *GBA*-ассоциированной БП (GBA-БП) и БГ как в клетках мозга, так и периферической крови, наблюдается снижение ферментативной активности глюкоцереброзидазы (ГЦ), повышение уровня ее субстрата лизосфинголипида гексозилсфингозина (HexSph), а также дисфункция лизосом. Лечение БП в настоящее время носит симптоматический характер. Все больше обсуждается использование фармакологических шаперонов (ФШ) ГЦ для терапии как GBA-БП, так и БГ, предполагая применение

низкомолекулярных лигандов, которые избирательно связываются с мутантной формой ГЦ и стабилизируют её структуру, что в свою очередь приводит к повышению активности фермента и снижению концентрации его субстрата в клетках, а также повышает функциональность лизосом.

Целью исследования являлся поиск среди широкого круга известных лекарственных препаратов новых аллостерических шаперонов для наиболее распространенной мутантной формы N370S ГЦ, которые не являются конкурентными ингибиторами фермента.

Материалы и методы: В структуру ГЦ (код PDB 2NT1) внесли аминокислотную замену N370S и рассчитали зарядовое состояние аминокислотных остатков белка при pH 4.7, после чего полученную структуру релаксировали методом ускоренной молекулярной динамики (Amber 18 ff14SB, gaff, tip3p, 300K, 1 атм, 200 нс). Скрининг лекарственных препаратов, содержащихся в базе данных ZINC (zinc.docking.org) проводили в программе ICM Pro, используя медианную структуру ГЦ, полученную методом кластеризации структур из траектории молекулярной динамики. Вычисления проводились с использованием ресурсов суперкомпьютерного центра СПбПУ Петра Великого.

Результаты и обсуждение: Ранее с использованием методов молекулярного моделирования мы создали атомарную модель мутантной формы ГЦ N370S и обнаружили потенциальный аллостерический сайт связывания с фармакологическими шаперонами, располагающийся вблизи активного центра ГЦ, а также показали возможность связывания с ним распространенного препарата от кашля амброксола [1]. Кроме того, нами было установлено, что амброксол способен восстанавливать ферментативную активность ГЦ и снижать концентрацию ее субстрата HexSph в культивируемых макрофагах и фибробластах пациентов с БГ и GBA-БП [1,2]. На текущем этапе работы продолжили поиск потенциальных

фармакологических шаперонов с использованием метода молекулярного докинга, посредством которого в настоящем исследовании нами был проведен виртуальный скриниг 4178 одобренных к применению во врачебной практике химических соединений. По результатам скрининга были отобраны 52 соединения, обладающих наименьшей величиной расчётной оценочной функции, характеризующей сродство к белку. Данные препараты принадлежали к различным фармакологическим группам. Из отобранных 52-х с целью дальнейшего исследования были выбраны 12 препаратов, приём которых в клинической практике возможен длительное время, относящихся к таким фармакологическим группам, как антидепрессанты, гастропротекторы, витамины, антигистаминные препараты, гиполипидемические средства, нестероидные противовоспалительные средства, стимуляторы дыхания, антиоксиданты, миорелаксанты центрального действия.

Заключение: В результате проведенного исследования из расширенной базы одобренных к применению лекарственных препаратов были выбраны потенциальные фармакологические шапероны ГЦ, способность которых повышать ее ферментативную активность, а также снижать уровень субстрата HexSph требует дальнейшего изучения.

Список литературы:

1. Kopytova AE, Rychkov GN, Nikolaev MA, et al. Ambroxol increases glucocerebrosidase (GCase) activity and restores GCase translocation in primary patient-derived macrophages in Gaucher disease and Parkinsonism. Parkinsonism Relat Disord. 2021;84:112-121.
2. Maegawa G, Tropak M, Buttner J, et al. Identification and characterization of ambroxol as an enzyme enhancement agent for gaucher disease, J. Biol. Chem. 284 (2009) 23502–23516.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда №22-25-00721.

Гидрогелевые биочипы для мультиплексного иммуноанализа биомаркеров аутоиммунных эндокринных патологий

Савватеева Е. Н.[1], Юкина М. Ю.[2], Нуралиева Н.Ф.[2], Соколова В.В.[1], Филиппова М.А.[1], Трошина Е.А.[2], Грядунов Д.А.[1]*
[1] Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия
[2] Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия
[*]E-mail: len.savv@gmail.com

Hydrogel biochips for multiplex immunoassay of biomarkers of autoimmune endocrine diseases

Savvateeva E.N.[1], Yukina M.Yu.[2], Nuralieva N.F.[2], Sokolova V.V.[1], Filippova M.A.[1],*
Troshina E.A.[2], Gryadunov D.A.[1]
[1] Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[2] Endocrinology Research Centre, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
[*]E-mail: len_savv@gmail.com

Введение: Доля больных с патологией эндокринной системы постоянно увеличивается во всех странах мира. Особую роль в структуре эндокринных заболеваний занимают аутоиммунные эндокринопатии (АЭ). АЭ ассоциированы с риском развития жизнеугрожающих состояний, таких как диабетическая кома и адреналовый криз. Нередко у одного пациента могут сосуществовать несколько аутоиммунных заболеваний эндокринной системы в рамках аутоиммунных полигландулярных синдромов (АПС). При этом интервал между клиническим дебютом отдельных компонентов АПС может составить много лет. У пациентов с АЭ важно спрогнозировать развитие других эндокринопатий с помощью исследования иммунологических маркеров – антител к тканям органов-мишеней, которые могут выявляться за несколько лет до появления ранних специфических симптомов заболевания. В рутинной клинической практике для этого требуется проведение регулярного дорогостоящего скрининга. В

большинстве случаев подобные исследования не проводятся вовсе или ограничиваются небольшим спектром антител.

Цель исследования: Разработка и апробация метода мультиплексного иммуноанализа для одновременного выявления аутоантител, характеризующих различные АЭ, включая АПС, аутоиммунные заболевания щитовидной железы, сахарный диабет I типа и болезнь Аддисона.

Материалы и методы: В основе разработанного подхода лежит оригинальная отечественная технология гидрогелевых биочипов, позволяющая в одном анализе образца сыворотки крови выявлять десятки серологических маркеров [1]. Биочип включал девять иммобилизованных белков, позволяющих проводить мультиплексное выявление как специфичных для АПС-1 аутоантител к интерферону омега (IFN-ω), интерферону альфа-2-а (IFN-α-2a), интерлейкину 22 (IL-22), так и органо-специфичных аутоантител к 21-гидроксилазе (21-OH), глутаматдекарбоксилазе (GAD-65), цитоплазматическому антигену островковых клеток (ICA), тирозинфосфатазе (IA2), тиреоглобулину (Tg), тиреопероксидазе (TPO). Процедура анализа включала инкубацию на биочипе образца сыворотки крови, при которой в гидрогелевых элементах проходило образование специфичных бинарных иммунных комплексов иммобилизованных аутоантигенов с аутоантителами, находящимися в образце сыворотки крови, с последующей детекцией комплексов с использованием флуоресцентно-меченных антивидовых антител против иммуноглобулинов человека класса G. Регистрацию флуоресценции элементов биочипа проводили с использованием универсального аппаратно-программного комплекса для анализа биочипов.

Результаты и обсуждение: Разработанный метод был апробирован с использованием 206 образцов сыворотки крови от взрослых пациентов с

АПС-1 (n=18), АПС-2 (n=39), изолированными аутоиммунными (n=50) или неаутоиммунными эндокринными патологиями (n=71), а также от здоровых доноров (n=28). Метод позволил выявить АПС-1 в 18 из 18 случаев (специфичность 99.5 % и чувствительность 100 %). Показано, что для АПС-1 характерно наличие по крайней мере двух специфических аутоантител, в то время как у 16 из 18 пациентов с АПС-1 был выявлен характерный триплет аутоантител (IFN-ω + IFN-α-2a + IL22). Совпадение с методом ИФА при детекции органо-специфических аутоантител (21-OH, GAD-65, ICA, IA2, Tg, TPO) у пациентов как с изолированными, так и со множественными эндокринопатиями, составило от 88.8% до 97.6%. При исследовании распределения частоты выявляемых аутоантител в группах пациентов обнаружено возрастание количества одновременно выявляемых в одном образце аутоантител в ряду «здоровые доноры» - «неаутоиммунные эндокринопатии» - «изолированные аутоиммунные эндокринные патологии» - «АПС-2» - «АПС-1».

Заключение: Разработанный метод может быть использован в качестве дополнительного инструмента на первом этапе обследования пациентов со множественными и изолированными эндокринопатиями.

Литература:

1. Gryadunov D.A. et al. The EIMB hydrogel microarrays technology: thirty years later. Acta Naturae 2018. 4(39): 4-18.

Исследование выполнено за счёт гранта Фонда научно-технологического развития Югры № 2022-05-01/2022.

Модель индуцированного воспалительной реакцией старения эндотелия сосудов: перспективы для выявления маркеров атеросклероза

Савицкий Д.В.[1], Козлов К.Л.[1,2], Кожевникова Е.О.[1], Линькова Н.С.[1,3,4], Кветная Т.В.[1]*

[1] Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

[2] Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

[3] Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва, Россия

[4] Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
Белгород, Россия

[*]E-mail: miayy@yandex.ru

The model of vascular endothelial aging induced by an inflammatory reaction: prospects for identifying markers of atherosclerosis

Savitsky D.V.[1], Kozlov K.L.[1,2], Kozhevnikova E.O.[1], Linkova N.S.[1,3,4] Kvetnaia T.V.[1]*

[1] St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia

[2] S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

[3] Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russia

[4] Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia.

[*]E-mail: miayy@yandex.ru

Введение: Важным звеном в патогенезе атеросклероза является старение эндотелиоцитов. В связи с этим актуальным вопросом молекулярной медицины является оценка роли сигнальных молекул в старении эндотелия в норме и при патологии.

Цель работы: Оценка экспрессии сиртуинов-1,3,6 и хемокинов IL-4, CXCL11 при индуцированном старении эндотелиоцитов человека.

Материалы и методы исследования: Для создания модели патологического старения в условиях воспалительной реакции к эндотелиальным клеткам пупочной вены человека (HUVEC) 3 пассажа добавляли 0,5 мкг/мл липополисахарида через 12 ч после начала

культивирования. При проведении вестерн-блот анализа HUVEC инкубировали с первичными антителами к anti-CXCL11, anti-IL-4, anti-Sirt1, anti-Sirt3, anti-Sirt6 и anti-β-actin. Инкубацию со вторичными антителами проводили при комнатной температуре в течение 2х часов. Сигналы белков на полосах визуализировали с помощью хемилюминесценции (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Уровни экспрессии белков определяли количественно методом денситометрии с использованием программы ImageJ 64 по отношению к экспрессии β-актина. Данные анализировали в программе SPSS 21.0. Статистическую значимость различий между группами оценивали по критерию Стьюдента или с применением дисперсионного анализа ANOVA. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение: В норме в культуре HUVEC экспрессия Sirt1 составила 1.45±0.14 у.е., Sirt3 – 1.40±0.12 у.е., Sirt6 – 1.51±0.13 у.е., CXCL11 – 0.70±0.07 у.е. и IL-4 – 0.66±0.08 у.е. При индуцированном старении происходило снижение экспрессии Sirt1 в 3.4 раза, Sirt3 - в 2.5 раза, Sirt6 - в 1.7 раза по сравнению с контролем, и увеличение экспрессии хемокина CXCL11 в 3.4 раза, а IL-4 - в 4.7 раза. Сходные данные по снижению синтеза сиртуинов были получены на эпителии легких, эндотелии и макрофагах человека при старении, вызванном действием прооксидантов [1 - 3]. Повышение синтеза CXCL11 и IL-4 является маркером воспалительной реакции и ускоренного старения эндотелия [4 - 6].

Заключение: Липополисахарид можно использовать как модель индуцированного воспалительной реакцией старения эндотелия. Выраженное изменение экспрессии сиртуинов и хемокинов может лежать в основе развития атеросклероза и другой сердечно-сосудистой патологии.

Сиртуины и хемокины играют важную роль в развитии эндотелиальной дисфункции, наблюдаемой при индуцированном старении.

Список литературы:

1. Anwar T, Khosla S, Ramakrishna G. Increased expression of SIRT2 is a novel marker of cellular senescence and is dependent on wild type p53 status. Cell Cycle 2016, 15:1883–1897
2. Son MJ, Kwon Y, Son T, Cho YS. Restoration of Mitochondrial NAD(+) Levels Delays Stem Cell Senescence and Facilitates Reprogramming of Aged Somatic Cells. Stem Cells 2016, 34:2840–2851
3. Chen J, Xie JJ, Jin MY. Sirt6 overexpression suppresses senescence and apoptosis of nucleus pulposus cells by inducing autophagy in a model of intervertebral disc degeneration. Cell Death Dis 2018, 9:56.
4. Altara R, Gu YM, Struijker-Boudier HA, Thijs L, Staessen JA, Blankesteijn WM. Left Ventricular Dysfunction and CXCR3 Ligands in Hypertension: From Animal Experiments to a Population-Based Pilot Study. PLOS ONE 2015, 10(10): e0141394
5. Chalubinski M, Wojdan K, Luczak E, Gorzelak P, Borowiec M, Gajewski A, Rudnicka K, Chmiela M, Broncel M. IL-33 and IL-4 impair barrier functions of human vascular endothelium via different mechanisms. Vascular Pharmacology 2015, 73:57-63
6. Lee YW, Lee WH, Kim PH. Oxidative mechanisms of IL-4-induced IL-6 expression in vascular endothelium. Cytokine 2010, 49(1):73-79

Применение Real-time ПЦР для количественного определения молекул TREC и KREC в периферической крови

Сайтгалина М.А., Любимова Н.Е., Останкова Ю.В.*
Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
Санкт-Петербург, Российская Федерация
*E-mail: Sajgalinam@mail.ru

Using Real-time PCR for quantitative determination of TREC and *KREC* molecules in peripheral blood

Saitgalina M.A., Lubimova N.E., Ostankova Yu.V.*
St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation
*E-mail: Sajgalinam@mail.ru

Введение: Т-клеточные рецепторные эксцизионные кольца TREC (T-cell receptor excision circles) и Каппа рекомбинационные эксцизионные кольца KREC (Kappa-deleting recombination excision circles) – это ДНК-последовательности, которые удаляются из генома как побочный продукт в ходе формирования антиген специфичного Т- и В-клеточного рецепторов. «Вырезанные» из генома фрагменты замыкаются и существует в виде небольших колец эписомальной ДНК [1].

Определение количественного содержания этих молекул в периферической крови является информативным методом оценки состояния иммунной системы пациента. Перечень заболеваний, для которых проведение такого количественного анализа является целесообразным, достаточно обширен. Прежде всего это гетерогенная группа первичных иммунодефицитов, вторичные иммунодефициты, в том числе ВИЧ, и другие заболевания [2].

Цель: Разработать способ количественного определения молекул TREC и KREC в периферической крови.

Материалы и методы: Образцы периферической крови, собранной из локтевой вены условно здоровых людей в пробирки с ЭДТА, были получены в центральной клинико-диагностической лаборатории НИИ

эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Из цельной крови была экстрагирована фракция тотальной ДНК с помощью набора «РИБО-преп» (ЦНИИ Эпидемиологии, Россия). В ходе работы проанализированы 126 ДНК-образцов, полученных от людей разного возраста, включая новорожденных. Был сконструирован ряд олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентных зондов, фланкирующих фрагменты генов TREC, KREC, GAPDH, HPRT, RPP30, для проведения количественной Real-time ПЦР. В качестве нормировочных генов (генов домашнего хозяйства) использовали гены: GAPDH, HPRT, RPP30. Протокол реакции: 95ºC -15 мин.; 5 циклов: 95ºC-10 с., 61ºC-30 с., 72ºC-15 с.; 40 циклов: 95ºC-10 с., 60ºC-30 с. + считывание флуоресцентного сигнала, 72ºC-15 с. Для каждого образца была дважды проведена ПЦР в режиме реального времени. Для повторной постановки реакции ДНК вновь экстрагировали из образца крови.

Результаты и обсуждение: Анализ результатов Real-time ПЦР позволил установить, что для образцов ДНК, полученных от детей возрастом до 1 года, флуоресцентные кривые генов TREC, KREC практически совпадают. При этом пороговый цикл этих кривых лежит в пределах 20-26. Флуоресцентная кривая гена GAPDH начинает экспоненциальный рост позже кривых TREC и KREC.

Аналогично для образцов ДНК, полученных от взрослых людей, но не старше 60 лет, флуоресцентные сигналы, свидетельствующие о накоплении продуктов TREC, KREC практически не отличаются друг от друга и начинают экспоненциальный рост раньше, чем кривая гена GAPDH. Соответствующие им пороговые циклы лежат в пределах 20-29.

Интересно, что для всех образцов, полученных от людей старше 60 лет, пороговый цикл флуоресцентных кривых, соответствующих фрагментам TREC и KREC увеличился. В каждом случае кривая флуоресценции начинает свой экспоненциальный рост позже, чем кривая гена GAPDH. По-

видимому, количество молекул ДНК KREC и TREC в этих образцах снижено. При этом значение пороговых циклов для фрагментов генов GAPDH, HPRT, RPP30 во всех реакциях практически не изменялось.

Заключение: Проведенный в ходе данного исследования анализ позволил сделать несколько выводов:

- выбранные гены домашнего хозяйства GAPDH, HPRT, RPP30 могут быть использованы в качестве генов для нормировки при количественных расчетах содержания молекул TREC и KREC;

- содержание молекул TREC и KREC у новорожденных находится на одном уровне;

- у лиц старшего возраста (по крайней мере, старше 60 лет) заметно снижено количество молекул TREC и KREC в периферической крови.

Список литературы:

1. Jung D., Alt FW. Unraveling V(D)J recombination; insights into gene regulation. Cell 2004. 116: 299–311;
2. van Zelm MC, van der Burg M., Langerak AW PID comes full circle: applications of V(D)J recombination excision circles in research, diagnostics and newborn screening of primary immunodeficiency disorders. Front Immunol 2011. 4: 2-12.

Применение традиционной китайской медицины в России для лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19

Сы Хуай Джу
Уральский институт китайской медицины
E-mail: si_19940902@163.com

The use of traditional Chinese medicine in Russia for the treatment of a new coronavirus infection COVID-19

Si Huai Ju
Ural Institute of Chinese Medicine
E-mail: si_19940902@163.com

Традиционная китайская медицина, имеющая тысячелетний опыт, выдержала несколько волн новой коронавирусной инфекции, при этом обеспечив безопасную среду обитания для 1,4 миллиарда человек. Это заставило мир осознать важность традиционной китайской медицины для защиты здоровья человека. Всемирная организация здравоохранения выпустила документ, подтверждающий, что традиционная китайская медицина безопасна и эффективна при лечении пневмонии, вызываемой новым типом коронавируса, и призвала к использованию традиционной китайской медицины для борьбы с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Совместно с нашими российскими коллегами мы добились хороших результатов, используя традиционную китайскую медицину в профилактике и лечении новой коронавирусной инфекции в период пандемии. Наша клиника традиционной китайской медицины в Москве приняла более 1200 пациентов с новой коронавирусной инфекцией, за исключением трех случаев, которые были направлены в больницу. Все остальные излечились, и остаточные явления не наблюдались. В начале пандемии больше всего пострадала Москва. Рассмотрим на примере: Большое скопление китайцев наблюдалось на коммерческом рынке. На рынке в гостинице проживали более 200 китайцев, все они из-за плохих санитарных условий в гостинице заразились коронарным заболеванием

сердца. Противоэпидемический отдел установил карантин, гостиница была заблокирована. Из-за невозможности своевременного лечения состояние больных ухудшалось, и их жизнь была в опасности. Посольство Китая в России немедленно прибыло на место и приняло решение о незамедлительном лечении лекарственными средствами китайской медицины. Несколько наших врачей пожертвовали сотни традиционных китайских лекарств. Пациенты начали принимать лекарства, через пару дней их состояние в основном стабилизировалось, а через десять дней все пациенты вылечились. Администрация посольства была удивлена, а перепуганные люди обрели надежду на излечение. Зарубежное издание агентства новостей “Синьхуа” сделало специальный репортаж. В то время вся Россия была в стадии вспышки, в Москве был объявлен локдаун. Городские власти последовали методу Уханя и расширили несколько модульных больниц. Китайское посольство использовало специальный самолет из Китая для доставки большого количества спасательных материалов для борьбы с пандемией и ликвидации последствий в России. Несколько врачей ТКМ в Москве создали консультационные онлайн-платформы для лечения пациентов традиционной китайской медициной. В этой эпидемии мы использовали традиционную китайскую медицину для лечения и профилактики респираторных инфекционных заболеваний. В полной мере использовав преимущества традиционной китайской медицины, мы добились определенных результатов, накопили опыт, но также есть много аспектов, которые нуждаются в улучшении. Также мы должны использовать сильные стороны традиционной китайской и западной медицины, развивать сотрудничество и вместе достигать больших результатов. План поддержки первого в России колледжа традиционной китайской медицины – Уральского колледжа традиционной китайской

медицины - передан в профильные китайские ведомства, и есть надежда, что он будет поддержан и реализован после эпидемии.

Рецепты, используемые для профилактики и лечения новой коронавирусной инфекции

Профилактический обычный рецепт: Жимолость японская 10 г, Форсайта повислая 6 г, лазурник растопыренный10 г, мята полевая 6 г, многоколосник морщинистый 6 г, атрактилодеса крупноголового корневище 6 г, порослевый побег коричника китайского 6 г

Клинический рецепт лечения:

Отвар Цинфэй Пайду: хвойник китайский 9 г, ядра абрикосовых косточек 9 г, шигао 20 г, обжаренный корень солодки 6 г, порослевый побег коричника китайского 9 г, частуха подорожниковая 9 г, трутовик зонтичный 9 г, атрактилодеса крупноголового корневище 9 г, цветы астры татарской 9 грволодушка серповидная 9 г, шлемник байкальский 6 г, пинеллия тройчатая 9 г, дикорастущий имбирь 9 г, пория кокосовидная 15 г, цедра 6 г, корневище диоскореи китайской 12 г, понцирус раннего сбора 6 г, беламканда китайская 9 г, мать-и-мачеха 6 г, многоколосник морщинистый 9 г.

Рецепт для беременных: Астрагал хуанчи 15 г, гречиха двукистевая 30 г, циргомиум Фортюна 15 г, атрактилодеса крупноголового корневище 20 г, чертополох кудрявый 10 г, луковица лука крупнотычинкового 30 г, магнолия лекарственная 15 г, атрактилис китайский 15 г, листья периллы 10 г, хедихиум короновидный 10 г, володушка серповидная 12 г, обжаренный корень солодки 8 г, багульник болотный 10 г.

Когнитивные и аффективные нарушения при постковидном синдроме

Тумашова О.С.[*], *Муружева З.М.*
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
[*]E-mail: ostumashova@yandex.ru

Cognitive and affective disorders in post-COVID syndrome

Tumashova O.S.[*], *Muruzheva Z.M.*
Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia
[*]E-mail: ostumashova@yandex.ru

Введение: Пандемия COVID-19 оказала огромное влияние на систему здравоохранения во всем мире. С самого ее начала появились сообщения о неврологических последствиях инфекции, в том числе когнитивных и аффективных нарушениях. Подобные последствия COVID-19 влияют на качество повседневной жизни, работоспособность пациентов и часто требуют наблюдения и лечения у специалистов. Изучение структуры этих нарушений и их механизмов является актуальной задачей.

Цель исследования: Выявить взаимосвязь провоспалительных цитокинов с развитием когнитивных и аффективных нарушений при постковидном синдроме.

Материалы и методы: В исследование вошли 29 пациентов, среди которых 19 (65%) пациентов после перенесенной инфекции COVID-19, 10 (35%) пациентов после других ОРВИ. Возраст пациентов составил от 18 до 55 лет, медиана 31 год, из них 18 женщин (62%) и 11 мужчин (38%).

Пациенты были протестированы по шкалам MOCA, SAGE, HADS, Бека, Шихана, MFI-20, методом иммуноферментного анализа были определены уровни IL-1β, ФНО, IL-6, IL-8. Статистическая обработка данных производилась с использованием пакета статистических программ «Statistica 8.0» (StatSoft, США).

Результаты и обсуждение: При оценке когнитивных функций по шкалам MOCA и SAGE после перенесенной инфекции COVID-19 средний

балл составил 28 и 20 баллов соответственно, у пациентов после других ОРВИ 28 и 21 балл, что соответствует норме. При этом среди пациентов после COVID-19 количество набранных баллов по шкале MOCA было ниже нормы (24-27 баллов) у четверых пациентов, а количество набранных баллов по шкале SAGE (15-18 баллов) было ниже нормы у шестерых пациентов. Средний балл по шкале HADS составил 4.8 балла (тревога), 3.9 балла (депрессия) у пациентов после COVID-19, 3.8 баллов (тревога), 4.3 балла (депрессия) у пациентов после других ОРВИ. При этом показатели соответствовали клинически выраженной тревоге (7 и более баллов) у 6 пациентов после COVID-19 и у одного пациента после других ОРВИ. По шкале Бека средний балл у пациентов после COVID-19 составил 6,0 баллов, у пациентов после других ОРВИ 4.0 балла. Из них у двух пациентов после COVID-19 была выявлена субклиническая депрессия (10-15 баллов), у двух умеренная депрессия (16-19 баллов), у пациентов после других ОРВИ депрессивные признаки не выявлены. По шкале Шихана средний балл у пациентов после COVID-19 составил 22.7 баллов, у пациентов после других ОРВИ – 11.8 баллов. Из них у пяти пациентов после COVID-19 была выявлена клинически выраженная тревога (более 30 баллов), у пациентов после других ОРВИ тревога не выявлена. По шкале самооценки астении MFI-20 средний балл у пациентов после COVID-19 составил 48.9 баллов, у пациентов после других ОРВИ 39.8 баллов. При этом норма до 30 баллов не была выявлена ни у одного пациента. Уровень ФНО в плазме крови у пациентов после ковид-19 составил в среднем 3.9±2.6 пг/мл и не отличался от показателей в контрольной группе 3±2.9 пг/мл. Содержание IL-1β, IL-6 и IL-8 в группе пациентов после перенесенного ковид-19 также не отличалось от контрольной группы и составило 7.3±3.1 пг/мл, 5.7±3.3 пг/мл и 13.6±13 пг/мл против 6.6±1.7) пг/мл, 2.8±1.1) пг/мл и 5.6±3.1) пг/мл соответственно. При определении связи между когнитивными и

аффективными показателями с содержанием провоспалительных цитокинов в плазме крови у пациентов после ковид-19 была выявлена прямая корреляционная зависимость между содержанием IL-8 и уровнем депрессии по шкале HADS (R_{tau} = 0.445, $p < 0.05$). Также была выявлена обратная корреляционная зависимость между показателями IL-8 и результатами когнитивных тестов MoCA (R_{tau} = - 0.757, $p < 0.05$) и SAGE (R_{tau} = - 0.726, $p < 0.05$). Помимо этого обратная корелляционная зависимость была выявлена между показателями IL-1β и результатами когнитивных тестов MoCA (R_{tau} = -0.365, $p < 0.05$) и SAGE (R_{tau} = - 0.389, $p < 0.05$). В контрольной группе корреляционная зависимость по описанным показателям не была выявлена.

Заключение: Исходя из полученных данных, можно заключить, что развитие когнитивного дефицита и аффективных нарушений при постковидном синдроме может быть связано с повышением содержания в плазме крови уровней провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-8.

Экспрессия микроРНК в микровезикулах плазмы периферической крови у пациентов с посттромбоэмболическим синдромом

Улитина А.С.[1], Жиленкова Ю.И.[2], Золотова Е.А.[2], Симакова М.А.[2], Моисеева О.М.[2], Вавилова Т.В.[2], Пчелина С.Н.[1,3], Сироткина О.В.[1,2,3]*

[1] Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

[2] Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия;

[3] Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

[*]E-mail: anna.s.ulitina@yandex.ru

MicroRNA expression in the peripheral blood plasma microvesicles in patients with post-thromboembolic syndrome

Ulitina A.S.[1], Zhilenkova Y.I.[2], Zolotova E.A.[2], Simakova M.A.[2], Moiseeva O.M.[2], Vavilova T.V.[2], Pchelina S.N.[1,3], Sirotkina O.V.[1,2,3]*

[1] First St. Petersburg State Medical University na I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russia;

[2] Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia;

[3] Petersburg Nuclear Physics Institute na B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia

[*]E-mail: anna.s.ulitina@yandex.ru

Введение: МикроРНК участвуют в передаче сигналов межклеточного взаимодействия, при этом транспорт микроРНК от клетки к клетке происходит преимущественно в микровезикулах [1]. Таким образом, выяснение роли микроРНК, содержащихся в микровезикулах плазмы периферической крови, в патогенезе гиперкоагуляции и тромбоза является важной научно-практической задачей.

Цель исследования: Оценить экспрессию микроРНК miR-144, miR-451a, miR-451b, miR-221, miR-223 в микровезикулах плазмы периферической крови у пациентов с посттромбоэмболическим синдромом (ПТЭС), развившимся после перенесенной тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА), а также ассоциацию экспрессии микроРНК с клиническими данными.

Материалы и методы: Обследованы 18 пациентов (возраст

53.5 ± 15.1 года) с ПТЭС, из которых 8 мужчин и 5 женщин на момент обследования имели хроническую тромбоэмболическую легочную гипертензию (ХТЭЛГ), а 5 женщин имели хроническую тромбоэмболическую болезнь (ХТЭБ); группу контроля составили 8 лиц (возраст 50.0 ± 7.5 лет) без тромбоэмболических эпизодов в анамнезе. Общая экзосомальная РНК, включая фракцию микроРНК, была выделена набором реагентов exoRNeasy Maxi Kit (Qiagen), далее была проведена обратная транскрипция набором реагентов miRCURY LNA RT Kit (Qiagen). Относительная нормализованная экспрессия miR-144, miR-451a, miR-451b, miR-221, miR-223 была оценена методом ПЦР в реальном времени наборами реагентов miRCURY LNA Probe PCR Kit и miRCURY LNA miRNA Probe PCR Assays (Qiagen) в приборе CFX96 (Bio-Rad) с микроРНК miR-152 в качестве референса. Анализ результатов был выполнен в программах CFX Manager 3.1 и Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение: В группе ПТЭС по сравнению с контрольной группой экспрессия miR-144 была ниже (p=0.030), а экспрессия miR-451a имела тенденцию к снижению (p=0.065), при этом экспрессия miR-221 и miR-223 между указанными выборками не различалась (p>0.050). Однако у женщин с ХТЭЛГ по сравнению с ХТЭБ экспрессия miR-451a и miR-223 была ниже (p=0.031 и p=0.032, соответственно), а экспрессия miR-144 и miR-221 имела тенденцию к более низким значениям (p=0.087 и p=0.064, соответственно). Не было обнаружено экспрессии miR-451b в проанализированных образцах. В общей группе ПТЭС были выявлены прямые корреляции между уровнями экспрессии miR-451a и miR-144 (r=0,647; p=0,004), miR-451a и miR-221 (r=0.691, p=0.001), miR-451a и miR-223 (r=0.778, p<0.001), miR-221 и miR-223 (r=0.978, p<0.001). Также были выявлены обратные корреляции между концентрацией фибриногена в плазме крови и экспрессией miR-144 (r= – 0,527; p=0.030), miR-451a (r= – 0.489, p=0. 047), miR-223 (r= – 0,508,

p=0.037); гематокритом и экспрессией miR-221 (r= – 0.545, *p*=0,036), miR-223 (r= – 0.525, *p*=0.031); концентрацией гемоглобина в крови и экспрессией miR-221 (r= – 0,575; *p*=0.025), miR-223 (r= – 0.566, *p*=0.028); содержанием эритроцитов в крови и экспрессией miR-221 (r= – 0.659, *p*=0.008), miR-223 (r= – 0.551, *p*=0.022); содержанием тромбоцитов в крови и экспрессией miR-451a (r= – 0.607, *p*=0.016); тромбокритом и экспрессией miR-451a (r= – 0.613, *p*=0.015). Наши результаты согласуются с литературными данными о том, что кластер miR-144/451 играет важную роль в функционировании эритроцитов [2], miR-221 и miR-223 содержатся в тромбоцитах и необходимы для нормального гемостаза [3], и внеклеточные микроРНК являются перспективным классом биомаркеров тромбоэмболических состояний [4].

Заключение: МикроРНК miR-144, miR-451a, miR-221, miR-223 в микровезикулах плазмы периферической крови могут выступать маркерами тяжести посттромбоэмболических осложнений.

Список литературы:

1. Laffont B, Corduan A, Ple H et al. Activated platelets can deliver mRNA regulatory Ago2-microRNA complexes to endothelial cells via microparticles. Blood. 2013;122(2):253-61
2. Rasmussen KD, Simmini S, Abreu-Goodger C et al. The miR-144/451 locus is required for erythroid homeostasis. J Exp Med. 2010;207(7):1351-8
3. Shi R, Zhou X, Ji WJ et al. The emerging role of miR-223 in platelet reactivity: implications in antiplatelet therapy. Biomed Res Int. 2015;2015:981841
4. Xiang Q, Zhang HX, Wang Z et al. The predictive value of circulating microRNAs for venous thromboembolism diagnosis: A systematic review and diagnostic meta-analysis. Thromb Res. 2019;181:127-134

Исследование поддержано РФФИ №20-04-00257.

Биочип для определения полигенного риска развития болезни Альцгеймера

Федосеева Е.[1], Иконникова А.[1], Антонова О.[1], Сюняков Т.[2], Емельянова М.[1], Зоркина Я.[2,3], Абрамова О.[2,3], Андреюк Д.[2], Павлов К.[3], Савилов В.[2], Соловьёва К.[2], Курмышев М.[2],Карпенко О.[2], Андрюшенко А.[2], Костюк Г.[2], Морозова А.[2], Грядунов Д.[1]*

[1] Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия;

[2] Психиатрическая клиническая больница №1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения Москвы, Москва, Россия;

[3] Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского МЗ РФ, Москва, Россия

[*]E-mail: elfed0@mail.ru

Microarray-based polygenic risk scoring for Alzheimer's disease

Fedoseeva E.[1], Ikonnikova A.[1], Antonova O.[1], Syunyakov T.[2], Emelyanova M.[1], Zorkina Y.[2,3], Abramova O.[2,3], Andreyuk D.[2], Pavlov K.[3], Savilov V.[2], Soloveva K.[2], Kurmishev M.[2], Karpenko O.[2], Andryushchenko A.[2], Kostyuk G.[2], Morozova A.[2,3], Gryadunov D.[1]

[1] Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

[2] Alekseev Psychiatric Clinical Hospital №1, Moscow, Russia;

[3] Department of Basic and Applied Neurobiology, V. Serbsky Federal Medical Research Centre of Psychiatry and Narcology, Moscow, Russia

[*]E-mail: elfed0@mail.ru

Введение: Патогенез болезни Альцгеймера (БА) связан как с триггерными факторами окружающей среды, так и с генетической предрасположенностью. Наиболее важным и изученным генетическим маркером является аллель ε4 гена аполипопротеина E (*APOE*), который увеличивает риск развития заболевания в несколько раз. Однако наличие этого маркера может объяснить далеко не все случаи развития БА. В ходе масштабных полногеномных ассоциативных исследований выявлено множество однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), ассоциированных с БА. Тем не менее, за счет небольшой величины эффекта отдельных SNP существуют сложности с воспроизводимостью результатов, и возможность

их использования как самостоятельных факторов риска ограничена. Перспективным подходом в изучении генетики БА является оценка полигенного риска (ПГР). Модели ПГР учитывают оценку суммарного влияния совокупности SNP. Наиболее изученными для БА являются модели, включающие 21 [1] и 31 SNP [2]. Выявлена взаимосвязь ПГР с динамикой комбинированных когнитивно-функциональных показателей, отложение амилоида и тау-белка, нейродегенерацией и другими процессами. В зарубежных исследованиях для определения ПГР используют дорогостоящие и трудоёмкие методы на основе микрочипов высокой плотности или высокопроизводительного секвенирования. Для апробации ПГР на образцах пациентов российской популяции нами использована успешно зарекомендовавшая себя в клинической диагностике технология гидрогелевых биочипов, которая позволяет быстро и эффективно осуществлять многопараметрический анализ генома с использованием ограниченного специализированного набора молекулярных зондов [3].

Цель: Разработка и апробация метода идентификации генетических маркеров для оценки полигенного риска развития БА с использованием гидрогелевых биочипов.

Материалы и методы: Процедура анализа включала мультиплексную амплификацию фрагментов генома человека с последующей аллель-специфичной гибридизацией на биочипах с иммобилизованными зондами. Результаты генотипирования выборочно верифицировали методами секвенирования по Сэнгеру, а также ПЦР с детекцией в режиме реального времени с TaqMan зондами и анализом кривых плавления высокого разрешения. Статистический анализ выполняли с помощью онлайн-сервиса SNPStats.

Результаты и обсуждение: Разработан биочип, позволяющий анализировать 21 маркер для оценки ПГР - rs6656401, rs6733839,

rs35349669, rs190982, rs9271192, rs10948363, rs2718058, rs1476679, rs11771145, rs28834970, rs9331896, rs10838725, rs983392, rs10792832, rs11218343, rs17125944, rs10498633, rs8093731, rs4147929, rs3865444, rs7274581 [1], а также определять ε-аллели гена *APOE* по полиморфизмам rs429358 и rs7412. Разработанным методом проведено генотипирование коллекции образцов ДНК 85 пациентов с болезнью Альцгеймера и 115 здоровых доноров. Оценка индивидуального вклада изучаемых генетических факторов подтвердила, что наличие аллеля ε4 достоверно связано с риском развития БА (ОШ = 2.7, 95% ДИ = 1.4 - 5, p = 0.0018 для доминантной модели). Для rs10792832, напротив, был показан протективный эффект (ОШ = 0.5, 95% ДИ = 0.3 – 0.86, p = 0.0083 для аддитивной модели).

Заключение: Дальнейшая валидация ПГР на основе гидрогелевого биочипа с использованием образцов различных когорт российских пациентов позволит создать и внедрить новый диагностический скрининговый инструмент для оценки риска развития БА.

Список литературы:

1. Tosto G. et al. "Polygenic risk scores in familial Alzheimer disease".Neurology 2017. 88(12): 1180-1186.
2. Desikan, Rahul S., et al. "Genetic assessment of age-associated Alzheimer disease risk: development and validation of a polygenic hazard score." PLoS medicine 14.3 (2017): e1002258.
3. Gryadunov D.A. et al. “The EIMB hydrogel microarrays technology: thirty years later». Acta Naturae 2018. 4(39): 4-18.

Исследование выполнено в рамках Соглашения с Автономной некоммерческой организацией «Московский центр инновационных технологий в здравоохранении» № 2708-1/22.

Дипептид KE нормализует экспрессию цитокинов в сенесцентных фибробластах кожи человека

Фридман Н.В.[1], Гутоп Е.О.[1], Ивко О.М.[1], Трофимова С.В.[1], Хавинсон В.Х.[1,2]*

[1] Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

[2] Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

[*]E-mail: ibg@gerontology.ru

KE dipeptide normalizes cytokine expression in senescent fibroblasts of human skin

Fridman N.V.[1], Gutop E.O.[1], Ivko O.M.[1], Trofimova S.V.[1], Khavinson V.Kh.[1,2]*

[1] St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia

[2] Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

[*]E-mail: ibg@gerontology.ru

Введение: Слабо выраженная хроническая воспалительная реакция (inflammaging) может возникать при ускоренном старении иммунной системы в сочетании с окислительным стрессом, вызываемым дисфункцией митохондрий. Выдвинуто предположение, согласно которому inflammaging является причиной многих заболеваний, ассоциированных с возрастом, в том числе со старением кожи [1, 2]. Пептид KE обладает иммуномодулирующим, антиканцерогенным, антиоксидантным и геропротекторным действием [3, 4].

Цель работы: Изучение влияния пептида KE на экспрессию цитокинов в культуре фибробластов кожи человека при репликативном старении.

Материалы и методы исследования: Фибробласты выделили из кожи околоушной области кожи женщины 1970 г. р., полученной в результате операции по круговой подтяжке лица, и выращивали в среде M199 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 1% L-глютамина, 1.5% Hepes-буфера, раствора пенициллина и стрептомицина. Клетки

культивировали до 3 пассажа («молодые» культуры) и до 14 пассажа («старые» культуры). Все культуры были разделены на 2 группы: 1 – контроль (без добавления пептида), 2 – с добавлением пептида КЕ в концентрации 20 нг/мл. Для проведения иммуноцитохимического исследования использовали первичные моноклональные антитела к цитокинам IL-1, TGF-β и фактору транскрипции NFκB. Исследование проводили в инвертированном конфокальном микроскопе «Olympus» Fluoview CM FV300-IX70. В качестве вторичных антител применяли Alexa Fluor 488 или Alexa Fluor 647. Для анализа результатов использовали программу «ВидеоТест-Морфология 5.2». Площадь экспрессии рассчитывали как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения и выражали в процентах.

Результаты и обсуждение: Экспрессия цитокинов IL-1, TGF-β, фактора транскрипции NFκB в «старых» культурах фибробластов кожи была статистически значимо выше, чем в «молодых» культурах. Известно, что увеличение концентрации цитокинов в крови в пожилом и старческом возрасте является адаптивной реакцией, направленной на активацию иммунитета. С возрастом происходит повышение активности NFκB, что приводит к хроническому воспалению и оксидативному стрессу. Пептид КЕ статистически значимо снижал экспрессию IL-1, NFκB, TGF-β в «старых» культурах фибробластов кожи в 1.6, 1.9, 2.0 раза по сравнению с соответствующим показателем в контроле.

Заключение: Таким образом, геропротекторное действие пептида КЕ можно связать с нормализацией иммунной функции фибробластов кожи человека.

Список литературы:

1. Гутоп Е.О., Дятлова А.С., Линькова Н.С., Орлова О.А., Трофимова С.В., Хавинсон В.Х. Старение фибробластов кожи: генетические и эпигенетические факторы. Успехи геронтологии. 2019, 31(6): 908-914

2. Cilek MZ, de Vega S, Shiozawa J, Yoshinaga C, Miyamae Y, Chijiiwa M, Mochizuki S, Ito M, Kaneko H, Kaneko K, Ishijima M, Okada Y. Synergistic upregulation of ADAMTS4 (aggrecanase-1) by cytokines and its suppression in knee osteoarthritic synovial fibroblasts. Lab Invest. 2022, 102(1): 102-111
3. Севостьянова Н.Н., Линькова Н.С., Полякова В.О., Червякова Н.А., Костылев А.В., Дурнова А.О., Кветной И.М., Абдулрагимов Р.И., Хавинсон В.Х. Иммуномодулирующее действие вилона и его аналога в культурах клеток тимуса человека и животных. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2012, 4: 220-223
4. Фридман Н.В., Линькова Н.С., Кожевникова Е.О., Гутоп Е.О., Хавинсон В.Х. Сравнительное влияние пептидов KE и AED на функциональную активность фибробластов кожи человека при их репликативном старении. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2020, 3: 197-201

Микробиом, иммунитет и вакцина против COVID-19

Хорошилов И.Е., Хорошилова А.И.
Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: ighor1@yandex.ru

Microbiome, immunity and COVID-19 vaccine

Khoroshilov I.E., Khoroshilova A.I.
North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia
E-mail: ighor1@yandex.ru

Кишечная микробиота регулирует различные функции нашего организма – от аппетита и настроения до иммунитета и защиты от патогенов. Неслучайно до 70-80 % иммунокомпетентных клеток также локализованы в области пищеварительной системы – Пейеровых бляшках подвздошной кишки, лимфоидных фолликулах толстой кишки, многочисленных лимфоузлах, аппендиксе. Антигены вирусов и бактерий, взаимодействуя с антиген-презентирующими клетками (в кишечнике – дендритные клетки), приводят к стимуляции Т-хелперов, а также цитотоксических лимфоцитов, Т-клеток памяти, В-лимфоцитов, переводя их в плазмоциты, вырабатывающие антитела к возбудителю. Так формируется как клеточный, так и гуморальный иммунный ответ.

Огромное значение в долговременной защите от инфекции играет иммунная система слизистых оболочек, так называемый мукозальный иммунитет. По мнению учёных, именно мукозальный иммунитет является главным механизмом адаптивной защиты. В слизистой оболочке иммунизированных лиц преобладают активированные Т-лимфоциты и Т-клетки памяти даже при отсутствии непосредственно инфекционного агента.

В числе эффекторных механизмов приобретенного иммунитета важную роль играет секреторный иммуноглобулин А, который продуцируется на поверхности слизистых оболочек. Не менее 80% всех

плазматических клеток расположены в собственной пластинке кишечника. Продукция секреторного IgA (40–60 мг/кг в сутки) выше, чем всех других типов иммуноглобулинов вместе взятых.

Также важное значение имеет кишечная микробиота, которая как бы «программирует» и «настраивает» иммунный ответ организма на конкретный инфекционный агент.

Путь введения вакцины является важным фактором успеха вакцинации. Идеальная вакцинация обеспечивает защиту в момент проникновения инфекционного агента. Большинство патогенов попадают в организм человека через слизистые оболочки. Поэтому стимуляция иммунной системы слизистых оболочек является важной целью вакцинации. Среди методов вакцинации, индуцирующих мукозальный иммунитет (ректальный, вагинальный, интраназальный, пероральный) именно пероральный считается наиболее эффективным именно за счёт введения непосредственно в желудочно-кишечный тракт со стимуляцией иммунной системы слизистых оболочек ЖКТ и взаимодействия с кишечной микробиотой. Вакцинация слизистой оболочки ЖКТ повышает защитные функции слизистой респираторного тракта. Поэтому воздействие на микробиоту кишечника может быть инструментом профилактики не только желудочно-кишечных, но и респираторных вирусных заболеваний.

Среди используемых сегодня методов вакцинации (парентеральный, энтеральный, аэрозольный) именно энтеральный является наиболее эффективным и самым перспективным. Он разрабатывается со времён Л. Пастера, который высказал идею о возможности пероральной вакцинации в 1880 г. Доказательством эффективности этого метода является пероральная вакцина против вирусного полиомиелита.

Мы предложили оригинальный вариант энтеральной капсульной вакцины против COVID-19 с целью выработки долговременной и

высокоэффективной иммунной защиты [1,2]. Используя пероральный подход к вакцинации, можно получить несколько преимуществ. Слизистая оболочка создаёт более мощную индукцию гуморальных и клеточных иммунных ответов, заставляя организм более эффективно реагировать на респираторные проблемы. Пероральные вакцины проще и дешевле производить, облегчает масштабируемость вакцинации, исключает необходимость присутствия обученных медицинских специалистов, сводя к минимуму риск перекрестного заражения в медицинских центрах. В настоящее время подобная антиковидная вакцина «Оравакс» успешно прошла клинические испытания в европейских медицинских центрах и рекомендована к широкому применению.

Кроме того, в иммунной защите организма большое значение имеет оптимально сбалансированное питание, которое включает полноценные белки, омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты, такие микроэлементы, как селен, цинк и железо, витамины, особенно A, C и D. Плейотропное действие такого метаболического агента как L-карнитин способно уменьшить тяжесть течения COVID-19, в частности, уменьшить цитокиновый шторм, дисфункцию эндотелия и лёгких.

Список литературы:

1. Хорошилов, И.Е. Оригинальная модель вакцины SARS-CoV-2. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2020. – № 6. – С.128-132.
2. Khoroshilov I.E. The Role of the Gut Microbiome in Defense against COVID-19 // EC Gastroenterology and Digestive System. 2021. Vol 8. Issue 11: 108-114.

Молекулярно-генетические и клинические особенности церебральной аутосомно-доминантной артериопатии с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ)

Черебилло К.К.
Научно-методический Центр молекулярной медицины МЗ РФ, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: k.cherebillo@mail.ru

Genetic characteristic and clinical features of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL)

Cherebillo K.K.
Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine, First St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russia
E-mail: k.cherebillo@mail.ru

Введение: Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (ЦАДАСИЛ) является одной из самых распространенных генетических причин болезни мелких сосудов головного мозга. ЦАДАСИЛ вызывается мутацией в гене NOTCH3 на хромосоме 19p13. Клиническая картина ЦАДАСИЛ очень неоднородна, характеризуется вариабельностью возраста дебюта, неспецифичностью симптоматики и МРТ-картины. Следовательно, исследование клинических и молекулярно-генетических особенностей пациентов с ЦАДАСИЛ остается актуальной проблемой современной неврологии.

Цель исследования: Изучить частоту и выраженность клинических синдромов ЦАДАСИЛ у пациентов с подтвержденной мутацией гена NOTCH3, включая изучение распространенности самих мутаций.

Материалы и методы: В исследование включены 337 пациентов с подозрением на ЦАДАСИЛ по данным анамнеза и магнитно-резонансной томографии (МРТ). Выполнено исследование аберраций гена NOTCH3 в

экзонах 2-7,11. Для 15 пациентов с мутацией гена NOTCH3 собраны и проанализированы клинические и нейровизуализационные данные.

Результаты: Генетические аберрации в экзонах 2-7 и 11 гена NOTCH3 выявлены у 39 из 337 обследованных, что составило 12%. Мутации, изменяющие число молекул цистеина, были обнаружены в 92% случаев (36/39). Мутации, не изменяющие число молекул цистеина, а именно p.V322M и p.H555P, были описаны в 3-х случаях. Клиническая значимость мутации p.H555P неизвестна. Самые частые аберрации локализованы в 4-м экзоне (67%) и 6-м экзоне (10%) гена NOTCH3. Средний возраст дебюта ЦАДАСИЛ в группе из 15 пациентов составил 32 года. Мигрень с аурой была зафиксирована у 7 (47%) пациентов, транзиторные ишемические атаки (ТИА)/инсульты - у 12 пациентов (80% случаев). Когнитивные нарушения обнаружились у 6 пациентов, что составило 40%, а деменция была диагностирована у 3-х (20%) пациентов. Эпилепсия была обнаружена у 2-х пациентов. Поражение передних отделов височных долей и наружных капсул наблюдалось у 8-ми пациентов, что составило 53 % всех случаев заболевания. По данным МРТ спинного мозга 5-ти пациентов у 1-го пациента обнаружено поражение спинного мозга.

Заключение: ЦАДАСИЛ представляет собой гетерогенное неврологическое заболевание, симптомы и проявления которого варьируют от пациента к пациенту.

Анализ изменения экспрессии генов у монозиготных близнецов, дискордантных по болезни Паркинсона

Шадрина М.И.[1], Власов И.В.[1], Семенова Е.И.[1], Партевян С.А.[1], Новосадова Е.В.[1], Росинская А.В.[2], Гривенников И.А.[1], Сломинский П.А.[1], Алиева А.Х.[1]*

[1] ФГБУ Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

[2] Приморская краевая клиническая больница № 1, Владивосток, Россия

[*]E-mail: shadrina@img.ras.ru

Analysis of changes in gene expression in monozygotic twins discordant for Parkinson's disease

Shadrina M.I.[1], Vlasov I.V.[1], Semenova E.I.[1], Partevian S.A.[1], Novosadova E.V.[1], Rosinskaya A. V.[2], Grivennikov I.A.[1], Slominsky P.A.[1], Alieva A.Kh.[1]*

[1] Institute of Molecular Genetics of National Research Centre, Kurchatov Institute, Moscow, Russia

[2] State Public Health Institution Primorsk Regional Clinical Hospital No. 1, Vladivostok, Russia

[*]E-mail: shadrina@img.ras.ru

Введение: Болезнь Паркинсона (БП) – тяжелое нейродегенеративное заболевание, обусловленное выраженной недостаточностью дофаминергической системы и нарушением регуляции других нейромедиаторных систем. Известно, что в развитие БП вносят значимый вклад генетические факторы, как единичные редкие высоко-пенетрантные мутации, так и выявляемые при ассоциативном анализе ДНК-маркеры. На данный момент считается, что большинство случае БП носят спорадический характер, и известными на данный момент генетическими факторами риска можно объяснить только долю случае БП. В связи с этим становится ясным, что эпигенетические изменения, такие как изменение уровней экспрессии генов, могут быть важны для объяснения значительной доли случаев БП. Одним из способов исследовать такие изменения является использование монозиготных близнецов, дискордантных по БП. Это дает

возможность свести к минимуму влияние различных генетических факторов на развитие заболевания.

Цель работы: Проведение полнотранскриптомного анализа фибробластов, ИПСК и нейрональных предшественников, полученных от близнецов, дискордантных по БП.

Материал и методы: Исследование проводилось с использованием прибора HiSeq1500 (Illumina, США) и набора NEBNext® mRNA Library Prep Reagent Set (NEB, США). Обработка данных проводилась с использованием программной среды R и пакетов программ STAR, RSEM, Limma-voom, а также Cytoscape, Pathway Studio.

Результаты и обсуждение: Анализ результатов полнотранскриптомного профилирования фибробласт от гомозиготных близнецов, дискордантных по БП, позволил выявить семь метаболических путей и три наиболее значимых ДЭГ (дифференциально экспрессирующихся генов) *PTGS2*, *SCN9A* и *GRIK2*, которые могут быть вовлечены в патогенез БП.

При анализе ИПСК были идентифицированы 20 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ). При этом для двух генов - *NR2F2* и *P2RY12* выявлена связь с нейроном и БП, что указывает на их важную роль в развитии заболевания.

При анализе ДЭГ, полученных для нейрональных предшественников, было выявлено 8 метаболических процессов. связанных с дифференцировкой нейронов. Дополнительный анализ ДЭГ, входящих в эти процессы, выявил 20 генов, которые могут быть связаны с болезнью Паркинсона. Кроме того, был проведен совместный анализ генов, выявленных при изучении ИПСК и нейрональных предшественников (НП). В результате этого анализа была построена сеть взаимодействия между этими генами. В эту сеть вошли 2 ДЭГ ИПСК - *P2RY12* и *NR2F2* и 8 ДЭГ

НП - *TNF*, *PITX3*, *GRID2*, *INHBA*, *DLL4*, *WNT7A*, *DKK1* и *FGF19*. Наибольший интерес представляют ДЭГ непосредственно связанные с геном *TNF*, который является ключевым в полученной сети. К таким гена относятся 2 ДЭГ ИПСК - *P2RY12* и *NR2F2* и 5 ДЭГ НП - *INHBA*, *DLL4*, *WNT7A*, *DKK1* и *FGF19*. Все эти гены, а так же ген *TNF* могут играть важную роль в развитии БП.

KCNQ2 энцефалопатия развития и эпилептическая энцефалопатия

Щугарева Л.М.[1], Петрова В.Д.[2]
[1] Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий, Санкт-Петербург, Россия
[2] Кафедра «Детская невропатология и нейрохирургия» СЗГМУ им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия
E-mail: [1] Neurodoctor@mail.ru, [2] PVD21@bk.ru

KCNQ2 developmental encephalopathy and epileptic encephalopathy

Shugareva L.M.[1], Petrova V.D.[2]
[1] Children's city multidisciplinary clinical specialized center of high medical technologies,
St. Petersburg, Russia
[2] Department of "Children's neuropathology and neurosurgery" North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia
E-mail: [1] Neurodoctor@mail.ru, [2] PVD21@bk.ru

Данная тема остается актуальной на данном этапе развития неврологии. Самые высокие показатели заболеваемости эпилепсией (> 60 на 100 000) обнаруживаются до 5 лет. В нескольких популяционных исследованиях была выявлена более высокая заболеваемость эпилепсией на первом году жизни, чем у детей старшего возраста (82.1–118 против 46 на 100 000 человек). Судороги представляют собой наиболее частое неврологическое событие в течение неонатального периода. Они происходят у 1 – 4 на 1000 новорожденных в первые дни жизни, причем более высокий показатель неонатальных судорог выявляется у недоношенных детей.

KCNQ2 - связанные расстройства представляют собой континуум перекрывающихся неонатальных эпилептических фенотипов, начиная от семейной неонатальной эпилепсии (SLFNE) в легкой форме и заканчивая эпилептической энцефалопатией (NEO-DEE) в тяжелой форме. Также были описаны дополнительные, менее распространенные фенотипы, включающие неонатальную энцефалопатию с неэпилептическим

миоклонусом, инфантильную или детскую эпилептическую энцефалопатию (DEE) и изолированную умственную отсталость (ID) без эпилепсии.

KCNQ2 энцефалопатия обусловлена мутацией гена в длинном плече хромосомы 20 (20q13.3). Тип наследования аутосомно-доминантный, патогенный или «de novo» с неполной пенетрантностью. *KCNQ2* кодирует субъединицу калиевого канала, управляемого напряжением, также известного как Kv7.2, который в основном экспрессируется в нейронах.

Самоограничивающаяся (семейная) неонатальная эпилепсия (SeLNE) характеризуется дебютом на 2-7 день жизни с фокально-тонических или фокально-клонических приступов. Могут встречаться приступы с тоническими, клоническими, миоклоническими и вегетативными признаками. В остальном младенцы развиваются по возрасту. Приступы обычно проходят к 6-месячному возрасту, большинство прекращается к 6-недельному возрасту. Если начато противосудорожное лечение, его часто можно прекратить в течение нескольких недель.

При KCNQ2 эпилептической энцефалопатии приступы начинаются в течение первых нескольких дней жизни. Наиболее часто встречаются фокально-тонические приступы, хотя также могут наблюдаться фокально-клонические и миоклонические. Во время приступов могут проявляться вегетативные признаки, апноэ и иктальный плач. В начале ЭЭГ показывает паттерн вспышка - подавление или мультифокальную эпилептиформную активность. Ранняя МРТ головного мозга может показать вовлечение базальных ганглиев, а более поздняя МРТ показывает обеднение белого вещества и атрофию. Приступы, как правило, не реагируют на лекарства первой линии, такие как фенобарбитал. Более половины пациентов избавляются от приступов в возрасте от нескольких месяцев до нескольких лет, однако сохраняются нарушения развития от умеренных до глубоких.

На данный момент этиопатогенетической терапии не существует. Однако препараты, блокирующие натриевые каналы, такие как карбамазепин и фенитоин, могут быть рассмотрены при фармакорезистентных неонатальных эпилепсиях. Также, при фармакорезистентном течении эпилепсии могут быть рассмотрены другие методы лечения, включая специальные диеты, VGS или операции.

Учитывая частоту мутаций 13% в группе пациентов с неонатальными эпилептическими энцефалопатиями, рекомендуется проводить скрининг *KCNQ2* у младенцев с частыми неонатальными судорогами неизвестной этиологии. Выбор правильной тактики ведения пациента с наследственной эпилепсией должен опираться на знания патогенеза и мировой опыт ведения пациентов этого профиля во избежания фатальных ошибок. Для комплексного ведения пациента необходимо разрабатывать ряд взаимодополняющих мероприятий со стороны невролога, ортопеда, реабилитолога, офтальмолога, генетика и др.

A novel pathogenic variant of *MSH6* gene associated with Lynch syndrome

Olga A. Vostrukhina[1], Elena D. Mirlina[1], Darya N. Khmelkova[2], Galina M. Butrovich[1], Alexandra D. Shakhmatova[1], Yury V. Kil[1], Yliya L. Polyatskin[3], Anna S. Artemyeva[3], Alexey V. Gulyaev[3] and Valery N. Verbenko[1]*

[1] St. Petersburg Nuclear Physics Institute na B.P. Konstantinov of National Research Centre "Kurchatov Institute", Gatchina, Russia

[2] Centre of Genetics and Reproductive Medicine "Genetico", Moscow, Russia

[3] N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology, St. Petersburg, Russia

[*]E-mail of the alleged speaker: verbenko_vn@pnpi.nrcki.ru

Introduction: Lynch syndrome (LS) is the most common hereditary colorectal cancer (CRCs) inherited in an autosomal-dominant manner, wherein colon cancer and endometrial cancer develop frequently in the family. It results from a loss-of-function germline mutation in one of four different genes (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, and *PMS2*) encoding mismatch repair (MMR) proteins.

Objective: In promoting cancer genome medicine, it is important to understand the genetic and genomic molecular background, including the status of mismatch repair deficiency. Defects in the *MSH6* are not frequent but may be deleterious in a form of heterozygoties compound. To identify the pathogenic causes whole-exome sequencing (WES) was performed on a proband of three-generation family diagnosed with LS. Further cosegregation, and bioinformatic tools were used to evaluate the characteristics of the genetic variation.

Materials and methods: The peripheral blood was collected into a qualified negative-pressure vacuum EDTA anticoagulant tube. DNA extraction was performed using the innuPREP Blood DNA Kit (Analytic Jena) according to the manufacturer's protocol. To determine the specific gene mutation that caused LS in the three generation Russian family, WES of proband DNA was used by Genetico (Moscow, Russia). Briefly, genomic DNA extracted from peripheral blood samples using innuPREP Blood DNA Mini Kit (Analytik Jena, Jena, Germany) was fragmented by ME220 Focused-ultrasonicator (Covaris, USA) to an average size of 180~280 bp. DNA libraries were produced using the exome

capture reagents SureSelect Human All Exon V7 (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). The Illumina NovaSeq 6000 platform (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) was utilized for the whole-exome sequencing with using 100 bp paired-end run protocol. PCR analysis was carried out using an Eppendorf Mastercycler pro S PCR system. PCR products were sequenced by Genetico (Moscow, Russia).

The study protocol was approved by the Ethics Committee of Best Clinical Practice Company Ltd, St. Petersburg, and all participants provided signed informed consent.

Results: Analysis of the WES data revealed 12,679 synonymous SNVs and 8,103 missense SNVs, 5,980 deletions and 1,431 insertions, 4,051 duplications, and 651 stop gain variants in the proband's genome. We screened for pathogenic mutations and included only those variants with a minor allele frequency (MAF) <0.01 in the 1000 Genomes Project database and ExAC browser. Eventually, we identified a substitution at chr2:28023059G>T (GRCH37/hg19) causing a nonsense mutation in *MSH6*, a known MMR gene. This mutation is predicted to result in termination of amino acid chain after lysine-161 (p.G162Ter) in N-terminal domain of the MSH6 protein. The nonsense variant *MSH6*: c.484G>T was absent from all population datasets, and it was not reported variant for LS in literature. Thus, we considered the nonsense variant *MSH6*: c.484G>T for further investigation. Bioinformatic tools predicted the identified *MSH6* variant as deleterious. Based on the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) guidelines, the nonsense mutation c.484G>T in *MSH6* was classified as a "pathogenic" variant. This mutation was confirmed by Sanger sequencing of proband DNA. To determine whether the mutation in the *MSH6* gene cosegregates in other family members, targeted DNA fragments from two individuals, including one patient and one unaffected family member, were amplified by PCR. Sanger sequencing confirmed that two family members did

carry the nonsense variant *MSH6*: c.484G>T. One unaffected family member was later recommended for colonoscopy and other important cancer diagnostic inspections every 1-2 years because of higher risk of LS.

Conclusion: Our findings further expand the genotypic spectrum of *MSH6* mutations responsible for LS. This study also puts emphasis on the importance of genetic counseling for the benefit of asymptomatic carriers of MMR gene variants who are at higher risk of LS.

КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

Микроцефалия как ключ к диагностике наследственных болезней обмена на примере классической гомоцистинурии (клинический случай)

Бажанова В.В., Ларионова В.И., Храмцова Е.Г.
ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: shinebright599@gmail.com

Microcephaly as a key to the diagnosis of hereditary metabolic diseases on the example of classical homocystinuria (clinical case)

Bazhanova V.V., Larionova V.I., Khramtsova E.G.
Mechnikov Northwestern medical university, St. Petersburg, Russia
E-mail: shinebright599@gmail.com

Введение: Специфические клинические проявления - определяющее звено в диагностике наследственных болезней обмена (НБО). Примером может служить классическая гомоцистинурия. Гомоцистинурия относится к группе аминоацидопатий, обусловленных нарушением обмена метионина. Средняя частота - 1:100000-1:200000 [2]. Различают классическую гомоцистинурию (B6- чувствительная и B6- резистентная формы) вследствие мутаций в гене CBS и гомоцистинурию, обусловленную нарушением реметилирования, включающую в себя снижение активности метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) [1]. Для последней характерна манифестация в неонатальном периоде неврологическими нарушениями, микроцефалией, мышечной гипотонией и замедлением темпов роста [2]. Первичная микроцефалия, характерная для хромосомных заболеваний и НБО - одно из диагностически значимых клинических проявлений гомоцистинурии с тяжелым дефицитом MTHFR [3].

Цель: Показать характерные особенности клинических проявлений классической гомоцистинурии у ребенка и значимость молекулярно-

генетических методов для верификации наследственного заболевания обмена.

Материалы и методы: Выписки из истории болезни (предоставлены проф. Ларионовой В.И.). Пациент А., 2 года 1 месяц. Ребенок от 4-й беременности, протекавшей с осложнениями, роды 3, в срок, физиологические, при рождении нормотрофия, оценка по шкале АПГАР 7/8 баллов. Наследственность не отягощена.

Результаты и обсуждение: В 2 месяца мать ребенка обратилась к врачу с жалобой на замедление темпов роста окружности головы и ее неправильную форму. Окружность головы – 38.5 см (при рождении- 36.5 см), окружность грудной клетки- 37.5 см (34 см при рождении). Зрительное сосредоточение кратковременное, за предметами не следит, диффузная мышечная гипотония. По данным нейросонографии - грубые диффузные нарушения структур головного мозга в виде смешанной сообщающейся гидроцефалии по атрофическому типу, ретроцеребеллярная киста. При обследовании на внутриутробные инфекции (ВУИ) в крови выявлены антитела IgM к цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ), в крови и моче обнаружен антиген ЦМВ. По данным электронейромиографии - признаки первичного поражения мышц верхних и нижних конечностей. Исследование гомоцистеина сыворотки крови в возрасте 1 года 3 месяцев с интервалом 1 месяц - стойкая гипергомоцистеинемия (ГГЦ) 155.51 и 156.42 мкмоль/л (при норме 5.46 - 16.20 мкмоль/л). Проведено лечение витамином В12 в течение 2-х месяцев, без положительной динамики. Обследование методом тандемной масс-спектрометрии на НБО - повышение уровня С5: 1 до 20.0 мкмоль/л, снижение метионина до 5.52 мкМ/л (норма – 6 - 110 мкМ/л) в сочетании с С5 5.82 мкМ/л (норма - 7-50 мкМ/л). Исследование выведения аминокислот с мочой - цистеинурия, цистатионурия, гомоцистинурия. Пациенту был выполнен частичный ДНК - анализ гена

MTHFR. В экзоне 5 гена MTHFR в гомозиготном состоянии - полиморфизм Ala222Val, неописанная мутация Ile256Phe в гетерозиготном состоянии. В экзоне 7 - мутация Pro348Ser. В экзоне 11 - полиморфизм Met581Val в гетерозиготном состоянии. Высоковероятна наследственная форма гомоцистинурии, связанная с недостаточностью MTHFR, предполагаемый генотип заболевания Ile256Phe/Pro348Ser. Обследована мать пациента, выявлена мутация генов, контролирующих выработку ферментов, участвующих в превращении гомоцистеина в метионин, метилирование и синтез ДНК (ГЕ9) ген MTHFR (A1298C) и (ГЕ8) ген MTHFR (C677T).

Заключение: У пациента имеются клинические проявления, характерные для гомоцистинурии, обусловленной мутацией в гене MTHFR: микроцефалия и задержка психомоторного развития на фоне подтвержденной врожденной ЦМВ-инфекции. В данном клиническом случае микроцефалия в сочетании лабораторными данными (ГГЦ и снижение метионина) являются диагностическими признаками гомоцистинурии, обусловленной дефектом реметилирования.

Список литературы:

1. Бучинская Н. В., Исупова Е. А., Костик М. М. Гомоцистинурия: литературный обзор и описание клинического случая. Вопросы современной педиатрии. 2019; 18 (3): 187–195.
2. Клинические рекомендации – Нарушение обмена серосодержащих аминокислот (гомоцистинурия) – 2022-2023-2024 (04.02.2022) – Утверждены Минздравом РФ
3. Becerra-Solano, Luis, Mateos-Sánchez, Leovigildo, López, Eunice. Microcephaly, an etiopathogenic vision. Pediatrics and Neonatology. 2021;62:354-360.

Проблемы медико-социальной экспертизы при редких генетических заболеваниях на примере болезни Штурге-Вебера

Кароль Е.В.[*], *Иванов О.В., Сироткина Л.С., Самсоненко Ю.В., Натарова Н.В., Кузьмина Т.В.*
ФКУ «ГБ МСЭ по г. Санкт-Петербургу» Минтруда России, Санкт-Петербург, Россия
[*]E-mail: elena.v.karol@gmail.com

Problems of medical and social expertise in rare genetic diseases on the example of Sturge-Weber disease

Karol E.V., Ivanov O.V., Sirotkina L.S., Samsonenko Y.V., Natarova N.V., Kuzmina T.V.
Main Bureau of Medical and Social Expertise of St. Petersburg, Russia
[*]E-mail: elena.v.karol@gmail.com

Введение: Несмотря на развитие нормативного правового регулирования деятельности федеральных учреждений медико-социальной экспертизы (МСЭ) в целях максимальной объективности и прозрачности решений об установлении инвалидности, её группы и срока, при проведении МСЭ пациентам с редкими заболеваниями могут возникать сложности, требующие нестандартных решений. Классификации и критерии, используемые при осуществлении МСЭ граждан, определяют порядок оценки степень выраженности стойких нарушений функций (СВСНФ) организма человека, в соответствии с количественными системами оценки (КО), предусмотренными приложениями к Приказу Минтруда РФ от 27.08.2019 г. № 585н. Несмотря на большой объем классов и форм заболеваний, предусмотренных КО, нет возможности предусмотреть все существующие нозологические формы, особенно редко встречающиеся. Также возможно проводить оценку СВНФ исходя из клинико-функциональной характеристики заболеваний, характера и тяжести осложнений, стадии, течения и прогноза патологического процесса.

Цель исследования: На примере проведения МСЭ пациентки с болезнью Штурге-Вебера (СШВ) провести анализ трудностей экспертизы и обсудить пути решения возникающих проблем.

Материалы и методы: Протоколы МСЭ, нормативные правовые акты в установленной сфере деятельности федеральных учреждений МСЭ.

Результаты и обсуждение: Пациентке К., 20 лет, у которой в 3-х месячном возрасте был диагностирован СШВ, с 3-х лет устанавливалась категория «ребенок-инвалид», по достижении 18-летнего возраста заочно была установлена 3 группа инвалидности (ГИ). В 2022 г. в бюро МСЭ освидетельствована заочно, оснований для повышения ГИ не выявлено. Заочная форма проведения МСЭ в бюро в 2020 и 2022 гг. обусловлена требованиями Временного порядка признания лица инвалидом, действующего в период неблагоприятной эпидемиологической обстановки в РФ (ВП). СШВ (энцефалотригеминальный ангиматоз) – наследственное прогрессирующее заболевание, обусловленное соматической мутацией в гене в 9 хромосоме с сочетанным поражением глаз, кожи, нервной системы, внутренних органов; частота, по различным данным, составляет от 1 случая на 20000-50000 детей [1]. При проведении МСЭ в 2022 г. заболевание К. проявлялось фармакорезистентной формой эпилепсии со статусами гемиконвульсий, левосторонних, с постприступным парезом Тодда, ТИА с частотой до 4-5 раз в год, с последствиями в виде моторного дефицита: легкого правостороннего гемипареза, мозжечковой недостаточностью с умеренными статолокомоторными нарушениями; когнитивным дефицитом с дислексией, дисграфией, дизорфографией, а также двусторонней глаукомой, неоднократно оперированной, с утратой зрения OD, с удовлетворительной функцией зрения OS. При оценке СВСНФ в бюро КО была применена к каждому виду проявлений заболевания, в целом был сделан вывод об умеренной СВСНФ, поэтому установлена 3 ГИ.

При проведении МСЭ в Главном бюро в порядке контроля руководителем были привлечены в качестве консультантов (что предусмотрено Правилами признания лица инвалидом) специалисты медицинских организаций: ФГБУН Института мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН, ФГБУ ФНЦРИ им Г.А. Альбрехта Минтруда России. МСЭ с согласия гражданки проводилась очно, что соответствовало требованиям ВП. Комплексный подход к оценке показателей выявил неполное отражение сведений в представленных документах (не были описаны проявления ангиоматоза туловища и лица с деформацией губ); неверную оценку течения заболевания и клинико-реабилитационного прогноза, с учетом прогрессирования морфофункциональных нарушений, взаимного отягощения нарушений двигательных, когнитивных, зрительных, речевых нарушений в сочетании с мультифокальной эпилепсией с полиморфными пароксизмальными состояниями. Решением Главного бюро К. была установлена 2 ГИ бессрочно.

Выводы: При проведении МСЭ пациентам с редкими заболеваниями требуется качественное составление направления на МСЭ; приоритетна очная форма проведения МСЭ; важна роль комплексного подхода с учетом особенностей патологии; ценно привлечение профильных специалистов медицинских организаций. Такой подход позволит учесть все необходимые факторы и вынести максимально объективное решение.

Список литературы:

1. Щедеркина И.О., Лившиц М.И., Кузьмина Е.В. Селиверстова Е.В., Кессель А.Е., Петряйкина Е.Е. Синдром Штурге-Вебера у детей. Особенности клиники, диагностики и подходов к терапии пароксизмальных состояний на примере трех клинических наблюдений. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. 2019; 119 (1-2): 55-64.

Диагностика гипомиелинизирующей лейкодистрофии 7 типа в Якутии: клинический случай

Москвитин Г.Д.[1,2], Николаева И.А.[1], Голикова П.И.[2], Сухомясова А.Л.[1,2], Максимова Н.Р[2]

[1] Медико-генетический центр Республиканской больницы №1-Национальный центр медицины, Якутск, Россия

[2] Научно-исследовательская лаборатория «Молекулярная медицина и генетика человека» МИ СВФУ, Якутск, Россия

[*]E-mail: moskvitin.gavriil@mail.ru

Diagnosis of hypomyelinating leukodystrophy type 7 in Yakutia: a clinical case

Moskvitin G.D.[1,2], Nikolaeva I.A.[1], Golikova P.I.[2], Sukhomyasova A.L.[1,2], Maksimova N.R[2].

[1] Medical Genetics Center of the Republican Hospital No. 1 of National Center of Medicine, Yakutsk, Russia

[2] Research Laboratory "Molecular Medicine and Human Genetics", Yakutsk, Russia

[*]E-mail: moskvitin.gavriil@mail.ru

Гипомиелинизирующая лейкодистрофия 7 типа (OMIM:607694) — это аутосомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание ЦНС, характеризующееся манифестацией в детском возрасте в виде двигательных нарушений (тетрапарез, атаксия, тремор), легкой когнитивной дисфункцией, гиподентией и гипогонадотропным гипогонадизмом.

Целью работы является описание клинико-генетических характеристик редкого случая заболевания, обусловленного мутациями в компаунд-гетерозиготном состоянии в гене POLR3A.

Материалы и методы: Материалом для молекулярно-генетического анализа послужила геномная ДНК, выделенная фенол-хлороформным методом из периферической крови семьи Р. Кровь была взята у пациентки и членов семьи с заполнением информированного согласия. В марте 2022 года проведено молекулярно-генетическое исследование пациентки и ее родителей на базе Медико-генетического центра ГАУ РС(Я) «РБ№1-НЦМ»

и НИЛ «Молекулярная медицина и генетика человека» МИ СВФУ методом прямого секвенирования по Сэнгеру на автоматическом ДНК-анализаторе ABIPrism 3500 (AppliedBiosystems) с использованием олигонуклеотидных праймеров.

Результаты и обсуждение: Впервые больная была консультирована врачом-генетиком в январе 2021 года. Генеалогический анамнез по наследственным заболеваниям не отягощен. Единственный ребенок в семье от беременности, протекавшей в 1 половине с УПБ, токсикозом, роды на 41 неделе, оперативные, слабость родовой деятельности, асфиксия в родах, вес 2666 г, длина 49 см, оценка по шкале Апгар 7/7 , к груди приложена на 2-е сутки, сосала активно. Развитие по возрасту: сидит с 6 мес., ходит с 12 мес., говорит с 12 мес. С 2-3 лет заметили, что у ребенка периодически появляется тремор всего тела и кистей рук; с 7 лет неловкость при движениях, слабость в руках, общая слабость. В возрасте 7 лет в летнее время эпизод болей в сердце. С 11 лет заметили ухудшение зрения, снижение памяти, стала спотыкаться при ходьбе, появилось нарушение мелкой моторики. При объективном осмотре выявлены мозжечковый синдром, дизартрия, тремор головы и туловища, низкорослость, дефицит веса. По данным МРТ головного мозга от декабря 2020 г. выявлены признаки лейкодистрофии, умеренное расширение, углубление межкорковых борозд червя мозжечка. В условиях МГЦ РС(Я) по результатам молекулярно-генетических анализов были исключены спиноцеребеллярные атаксии 1, 2, 3, 6 и 17 типов, атаксия Фридрейха, нейрональный липофусциноз 6 типа. В апреле 2021 г. пациентка направлена на консультацию в Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова (Москва). В сентябре 2021 г. получено заключение секвенирования клинического экзома в на секвенаторе нового поколения Illumina NextSeq-500 методом парно-концевого чтения (2x75п.о.): у пациентки выявлен вариант нуклеотидной последовательности в интроне

27 гена *POLR3A* (chr10:79742437G>A), описанный ранее как патогенный, приводящий в гетерозиготном состоянии к преждевременной терминации трансляции (p.(Gln1190Ter), NM_007055.4), Вариант в контрольной выборке GnomAD (v.2.1.1) не зарегистрирован. Также выявлен второй описанный ранее как патогенный вариант нуклеотидной последовательности в экзоне 23 гена *POLR3A* (chr10:79745718C>T), приводящий к замене аминокислоты (p.(Arg1005His), NM_007055.4) в гетерозиготном состоянии. В Медико-генетическом центре ГАУ РС(Я) «Республиканская больница №1- Национальный центр медицины» проведена валидизация выявленных вариантов секвенированием по Сэнгеру. У пациентки подтверждено наличие компаунд-мутации в гене *POLR3A*. Родители являются гетерозиготными носителями: у матери мутация c.3014G>A в 27 интроне гена *POLR3A*, а у отца - c.3568C>T в 23 экзоне гена *POLR3A*. Выявленные у пациентки мутации в гене *POLR3A* дали возможность уточнить диагноз, родителям сообщены рекомендации по пренатальной ДНК-диагностике при планировании беременности. Патогенетическое лечение отсутствует.

Заключение: Таким образом, своевременное использование высокопроизводительных молекулярно-генетических технологий позволило установить точную причину заболевания. Многие редкие заболевания обладают схожими клиническими симптомами. Если проводить диагностику этих заболеваний по отдельности, потребуется длительное время и дорогостоящие исследования. Описанная семья с клиническим случаем гипомиелинизирующей лейкодистрофии нуждается в дальнейшем наблюдении, а при планировании беременности - в пренатальной диагностике.

Междисциплинарный подход в ведении семьи ребенка с врожденной патологией. Молекулярная диагностика и генетический прогноз. Персонифицированная профилактика

Пономарева Н.Ю.[1], Кошелев Р.В.[1], Ямпольская Е.Н.[1], Лазарев В.В.[1], Кочетков А.В.[1,2], Пузырькова И.А.[3], Никифорова И.В.[4]*

[1] Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии ФМБА РФ, Москва, Россия

[2] Академия постдипломного образования ФГБУ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА РФ, Москва, Россия

[3] Городская клиническая больница имени М. П. Кончаловского Департамента здравоохранения Москвы

[4] Детская городская поликлиника № 105 Департамента здравоохранения Москвы

[*]E-mail: ponomarevanyu@ckbvl.net

Interdisciplinary approach in the management of the family of a child with congenital pathology. Molecular diagnostics and genetic prognosis. Personalized prevention

Ponomareva N.Yu.[1], Koshelev R.V.[1], Yampol`skaya E.N.[1], Lazarev V.V.[1], Kochetkov A.V.[1,2],*
Puzyr'kova I.A.[3], Nikiforova I.V.[4]

[1] Federal Research and Clinical Center of Medical Rehabilitation and Balneology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

[2] Academy of Postgraduate Education Federal Research and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

[3] City Clinical Hospital na M.P. Konchalovsky, Department of Health Care in Moscow

[4] Children's City Polyclinic No. 105 of the Department of Healthcare of the Moscow City

[*]E-mail: ponomarevanyu@ckbvl.net

Сохранение и восстановление репродуктивного здоровья пары, оценка риска и предупреждение развития инвалидизирующей патологии плода и ребенка являются основными задачами служб охраны материнства и детства, медико-генетической помощи населению, требующими внедрения инновационных и персонализированных методов диагностики, профилактики и лечения. Понимание роли факторов риска и механизмов,

лежащих в основе формирования врожденной и наследственно обусловленной патологии, осложнений беременности и фетоинфантильных потерь стали основой современных диагностических и терапевтических алгоритмов прегравидарного, пренатального и постнатального ведения женщины, плода и ребенка разными специалистами.

Генетическое консультирование для уточнения диагноза больного позволяет определить причины патологии и витальный прогноз, установить наследование, оценить генетический риск, возможности профилактики, применения методов преимплантационной и пренатальной диагностики для персонифицированной профилактики врожденной патологии.

По направлению невролога дочь молодых, практически здоровых родителей, в возрасте 2,5 года была обследована врачом-генетиком. У ребенка присутствуют аномалии лицевого фенотипа с микроцефалией, выраженная задержка двигательного и психо-речевого развития, мышечная гипотония, моторная неловкость, атаксия, дизартрия. На ЭЭГ сна обнаружены признаки дезорганизации и дизритмии, функционально-органические изменения биоэлектрической активности головного мозга с акцентом в центрально-теменно-височных областях D>S, парасомнии, доброкачественные миоклонии сна. Эпиприступы и иктальные ЭЭГ-паттерны не зарегистрированы. На МРТ выявлены структурная незрелость головного мозга (мозаичная субкортикальная гипомиелинизация больших полушарий), зоны перивентрикулярной лейкопатии, интракраниальная гипертензия. По результатам синдромологической диагностики фенотипа пациентке с предположительным диагнозом: хромосомная патология (?) проведено цитогенетическое исследование.

В результате кариологического анализа у пациентки обнаружен женский кариотип с наличием сбалансированной реципрокной

транслокации: 46,X,t(X;1)(p22.3;q21) (МКБ10- Q95.2 транслокации половые/аутосомные перестройки у анормального индивида). Родителям показано исследование кариотипа, поскольку наличие аномалии кариотипа у одного из родителей определяет высокий риск хромосомной патологии у плода/ребенка у этой пары в каждой последующей беременности.

Ребенку показано дообследование с применением цитогенетического анализа (для выявления возможного мозаицизма по несбалансированной перестройке) и хромосомного микроматричного анализа (для выявления возможного дисбаланса количества копий геномных последовательностей), оформление инвалидности с проведением абилитационных мероприятий по показаниям специалистов (невролога и психоневролога после 4-х лет); родителям рекомендована прегравидарная подготовка к последующей беременности.

Консультация генетика необходима для оценки шансов рождения здорового потомства и решения о целесообразности проведения экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) с преимплантационным генетическим тестированием (ПГТ), которое принимается по результатам обследования пары совместно с репродуктологом. Если вероятность рождения ребёнка с хромосомной патологией велика, паре можно предложить ЭКО и ПГТ или донорство половых клеток (ооцитов или спермы) для выбора и подсадки эмбриона без хромосомной патологии с целью снижения риска фетоинфантильных потерь.

Терапевтические возможности лечения миопатии Дюшенна (клинический случай)

Романова А.А., Ларионова В.И., Храмцова Е.Г.*
ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия
*E-mail: aryaromanova@gmail.com

Therapeutic options for the treatment of Duchenne myopathy (clinical case)

Romanova A.A., Larionova V.I., Khramtsova E.G.*
Mechnikov Northwestern medical university, St. Petersburg, Russia
*E-mail: aryaromanova@gmail.com

Введение: Миодистрофия Дюшенна-Беккера - одна из самых распространенных форм наследственных нервно-мышечных заболеваний с развитием прогрессирующих дегенеративных изменений в поперечно-полосатых мышцах. Заболевание развивается в связи с мутациями в гене, который находится на коротком плече Х-хромосомы (Хр21.2) и регулирует синтез белка дистрофина, функцией которого является соединение цитоскелета с внеклеточным матриксом в мышечном волокне и его стабильность при сокращении [1-3]. В зависимости от клинических проявлений выделяют миодистрофию Дюшенна (МДД) и миодистрофию Беккера. МДД манифестирует в раннем возрасте, первые симптомы появляются до двух лет. При прогрессировании развивается дилатационная кардиомиопатия и дыхательные нарушения [1-3]. Современные подходы патогенетического лечения МДД включают глюкокортикостероиды (преднизолон, дефлазакорт), которые стимулируют синтез инсулиноподобного фактора роста и пролиферацию миобластов на фоне снижения выработки цитокинов и терапию с пропуском экзонов (антисмысловые олигонуклеотиды: голодирсен, этеплирсен и аталурен). Аталурен назначается при нонсенс-мутациях, он модулирует аппарат мРНК-трансляции и способствует преобразованию

нефункционального белка в функциональный, этеплирсен пропускает экзон 51, Голодирсен (Виондис 53) применяется у пациентов с мутацией в гене дистрофина, поддающейся пропуску экзона 53 [4].

Цель: обоснование применения патогенетической терапии МДД на примере клинического случая.

Материалы и методы: В разборе описан клинический случай пациента Н. 12 лет, 4 месяца (материалы предоставлены проф. Ларионовой В.И.). Клинический диагноз: Прогрессирующая мышечная дистрофия Дюшенна (del 45-52). Кардиомиопатия дилатационная.

Результаты и обсуждение: Ребенок от 1-й беременности, протекавшей на фоне многоводия в 3 триместре. Роды первые, в срок, со стимуляцией. При рождении вес 3550 г, рост 51 см, Апгар 8/9 баллов. Раннее развитие: держит голову с 2 месяцев, сидит с 7 месяцев, ходит с 1 года 3 месяцев неустойчиво, часто падал. Задержка моторного развития с раннего возраста. В 1 год 7 мес после вакцинации исчезла речь, восстановилась в 4.5 года. В 6 лет ухудшилась походка, появились частые падения, выраженное искривление позвоночника, затруднения подъема из горизонтального положения, при обследовании в «РНИМУ им. Пирогова МЗ РФ» показатель КФК составил 25000 Ед/л. Проведен поиск делеций/дупликаций в промоторной зоне и экзонах гена дистрофина методом MLPA: обнаружена делеция 45-52 экзонов. Впервые поставлен диагноз «прогрессирующая мышечная дистрофия Дюшенна (del 45-52). Кардиомиопатия дилатационная». Назначена гормональная терапия (дефлазакорт). В настоящее время наблюдается общее недоразвитие речи, гипомимия, походка переваливающаяся, самостоятельная, гиперлордоз поясничного отдела, гипертрофия икроножных мышц, мышечная гипотония. Целью лечения данного пациента является замедление прогрессирования и максимальное продление периода самостоятельной

ходьбы. Пациент получает терапию: преднизолон, капотен, периндоприл, элькарнитин, бисапролол. Так же назначен прием препарата Голодирсен (Виондис 53), из расчета 30 мг\кг ежедневно внутривенно. Голодирсен является антисмысловым морфолиновым олигонуклеотидом, предназначенным для лечения больных с МДД с подтвержденной мутацией гена дистрофина, которая поддается корректировке за счет пропуска экзона 53 и имеет место у больного Н. [4].

Заключение: На примере данного клинического случая обосновано применение патогенетической терапии МДД. Наиболее действенным методом лечения у данного пациента, имеющего делецию 45-52 экзонов в гене дистрофина, является прием препарата Голодирсен (Виондис 53), который замедляет прогрессирование заболевания и максимально продлевает период самостоятельной ходьбы за счет увеличения выработки дистрофина.

Список литературы:

1. Бочков, Н. П. Клиническая генетика : учебник / под ред. Бочкова Н. П. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 592 с.
2. Гончарь М.А., Логвинова О.Л., Помазуновская Е.П, Тельнова Л.Г., Бужинская Н.Р., Приходько М.И. Современные принципы диагностики и лечения мышечной дистрофии Дюшенна (update 2018).// Современная педиатрия.- 4(92)-2018.- С91-97.
3. Рекомендации по ведению пациентов с миодистрофией Дюшенна. 2-е издание. М.: фонд «Мой-Мио». 2018; 63 с.
4. Hoxha M. Duchenne muscular dystrophy: Focus on arachidonic acid metabolites. Biomed. Pharmacotherapy. 2019; 110: 796-802. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.12.034.

Клинико-лабораторные показатели для ранней диагностики миопатии Дюшенна (клинический случай)

Тимченко А.Е.[*], *Ларионова В.И., Храмцова Е.Г.*
ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия
[*]E-mail: nastimchenko@gmail.com

Clinical and laboratory parameters for early diagnosis of Duchenne myopathy (clinical case)

Timchenko A.E.[*], *Larionova V.I., Khramtsova E.G.*
Mechnikov Northwestern medical university, St. Peterburg, Russia
[*]E-mail: nastimchenko@gmail.com

Введение: Мышечная дистрофия Дюшенна (МДД) – Х-сцепленное рецессивное расстройство, характеризующееся прогрессирующей слабостью проксимальных мышц, вызванной дегенерацией мышечных волокон вследствие мутаций гена белка дистрофина, расположенного в локусе Хр21.2. Приблизительно 55-65% всех случаев миодистрофий Дюшенна обусловлены делециями гена дистрофина, 5-10% - дупликациями части гена, у остальных больных имеют место точечные мутации [1]. При отсутствии дистрофина происходит постепенная гибель мышечных волокон и замещение их соединительнотканными структурами, увеличивающих плотность и объем мышц, вызывая феномен псевдогипертрофии. МДД обычно проявляется в возрасте 2-х–3-х лет. Ведущими диагностически значимыми клиническими проявлениями считаются слабость, затрагивающая проксимальные мышцы, чаще сперва нижних конечностей. До формирования навыка ходьбы возможна задержка моторного развития. Дети часто ходят на пальцах, имеют походку вразвалку и лордоз. Первые симптомы — это задержка моторного развития, далее трудности при ходьбе, беге, прыжках и подъеме по лестнице [2]. Наблюдается стабильное прогрессирование слабости, часто развиваются сгибательные контрактуры конечностей и сколиоз. К последствиям вовлечения сердечной мышцы относят дилатационную кардиомиопатию,

нарушения проводимости и аритмии. Смерть наступает от дыхательной недостаточности. Главными лабораторными критериями диагностики МДД являются увеличение активности трансаминаз и креатинфосфокиназы (КФК) в сыворотке крови [3]. В задачи врача входит своевременно предположить наличие МДД у больного грудного и раннего возраста.

Цель: Выделить ведущие клинико-лабораторные проявления миодистрофии Дюшенна на примере данного клинического случая с целью ранней диагностики заболевания.

Материалы и методы: В разборе описан клинический случай пациента М. 5 лет, 2 месяца (материалы предоставлены проф. В.И. Ларионовой). Клинический диагноз: Прогрессирующая мышечная дистрофия Дюшенна (del 47-51 гена DMD).

Результаты и обсуждение: Ребенок от 3-й беременности, роды в срок, на смешанном вскармливании. При рождении вес 4100 г, Апгар 9/9 баллов. Грудной возраст с пограничной темповой задержкой моторного развития: голову держит с 1.5 месяцев, переворачивается с 4 месяцев, сидит самостоятельно с 8 месяцев, ходит вдоль опоры с 11-12 месяцев. В возрасте 6 месяцев перенес острый гастроэнтерит, при обследовании выявлено умеренное повышение трансаминаз сыворотки крови: АСТ/АЛТ = 292/289 Ед/л. В динамике биохимического анализа крови в возрасте 7 месяцев АСТ/АЛТ = 271/330 Ед/л, в 8 месяцев - АСТ/АЛТ = 322/370 Ед/л. Консультирован инфекционистом, обнаружены антитела IgG к ЦМВ инфекции, ПЦР крови выявила ДНК вируса герпеса 6 типа, HBsAg, анти-HCV IgM – не выявлены. При повторном исследовании сыворотки крови - повышение КФК до 44 561 Ед/л. На основании клинических и лабораторных данных была заподозрена миодистрофия. В возрасте 10 месяцев проведено молекулярно-генетическое исследование мутаций гена DMD методом ПЦР, выявлена делеция экзонов 47-51 гена DMD в

гемизиготном состоянии. В возрасте 11 месяцев стационарное лечение в НМИЦ Здоровья детей, проводилась метаболическая терапия и реабилитационные мероприятия. До 5 лет мальчик регулярно наблюдался неврологом, ортопедом, проходил регулярные курсы реабилитации. В возрасте 5 лет, 2 месяцев в сыворотке крови выявлено АСТ/АЛТ = 664/939, КФК 42583 Ед/л. Данные ЭХО-КГ, ЭКГ, УЗИ органов брюшной полости без патологических изменений. При объективном обследовании незначительное снижение мышечного тонуса, сила мышц в руках снижена до 4 баллов в проксимальных и дистальных отделах, в ногах снижение силы до 4 баллов в дистальных отделах, в проксимальных - до 3-3.5 баллов. Коленно-пяточная проба с дисметрией. Умеренная псевдогипертрофия икроножных мышц.

Заключение: На примере данного клинического случая показаны ранние клинические проявления МДД, подтвержденной у больного в возрасте 10 месяцев. У мальчика М. на первом году жизни на фоне задержки моторного развития отмечалось увеличение трансаминаз без признаков поражения печени и очень высокие показатели КФК, причем последний показатель имел решающее значение.

Список литературы:

1. Бочков Н.П. Клиническая генетика: учебник / под ред. Бочкова Н. П. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 592 с.
2. Деев Р.В., Мавликеев М.О., Бозо И.Я. и др. Генно-клеточная терапия наследственных заболеваний мышечной системы: современное состояние вопроса. Научно-практический журнал. Гены и клетки. 2014; IX(4): 6–33.
3. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management. Lancet Neurol. 2018;17(3):251-267.

Фенилкетонурия у женщин репродуктивного возраста

Храмцова А.М.[1], Ларионова В.И.[2]
[1] ФГБОУ ВО НовГУ им. Ярослава Мудрого, институт медицинского образования, Великий Новгород, Россия
[2] ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: ann.khramtcova@mail.ru

Phenylketonuria in women of reproductive age

Khramtsova A.M.[1], Larionova V.I.[2]
[1] Yaroslav the Wise Novgorod State University, Velikiy Novgorod, Russia
[2] Mechnikov Northwestern medical university, St. Petersburg, Russia
E-mail: ann.khramtcova@mail.ru

Введение: Фенилкетонурия (ФКУ) относится к гетерогенной группе наследственных болезней с нарушением метаболизма незаменимой аминокислоты фенилаланина (ФА) - гиперфенилаланинемиям (ГФА). По клиническим проявлениям выделяют ФКУ и нарушения обмена тетрагидробиоптерина. Ведущим звеном патогенеза ГФА является нарушение гидроксилирования ФА и его преобразования в тирозин. При классической ФКУ ГФА обусловлена генетически детерминированным дефицитом фермента фенилаланингидроксилазы (ФАГ) при участии кофактора BH4. Мутации при нарушении образования ФАГ локализованы в гене PAH в регионе в регионе 12q22-q24.2. Эта форма самая распространенная и составляет 98% случаев. Клинические проявления ГФА у больных с тяжелой ФКУ на фоне гипофенилаланиновой диеты включают различные когнитивные нарушения, высокий уровень тревожности, эмоциональная неустойчивость, агрессивность. Ведущим методом лечения ФКУ является пожизненная гипофенилаланиновая низкобелковая диета, которой может быть недостаточно при полном отсутствии ФАГ. С 2018 года разработан инновационный препарат «Пэгвалиаза» (Палинзик), метаболизирующий фенилаланин, который может дополнять лечение таких пациентов, а при лечении женщин репродуктивного возраста - предупреждать развитие синдрома

«материнской фенилкетонурии», который развивается у плода в эмбриофетальный период при отсутствии диетического лечения женщины с ФКУ в прегравидарный период и при беременности.

Целью настоящей работы является демонстрация возможности оптимизировать лечение тяжелых форм ФКУ с отсутствием активности ФАГ с помощью лекарственного препарата «Пэгвалиаза» (Палинзик) и предупредить развитие материнской ФКУ на примере клинического случая.

Материалы и методы: Больная М., 18 лет (выписки из истории болезни предоставлены проф. В.И. Ларионовой). Основной диагноз: Классическая фенилкетонурия, клиническая и метаболическая субкомпенсация. Осложнения основного диагноза: Синдром мышечной гипотонии, арефлексии, умеренные аффективные нарушения. Лейкопатия.

Результаты и обсуждение: Пациентка М. обследовалась в связи жалобами на раздражительность, плаксивость, плохое настроение, эпизоды булимии в течение 2 лет, которые сохранялись на фоне лечения флуоксетином 20-40 мг/сут и депакином 500 мг\сут. Из анамнеза известно, что диагноз «Фенилкетонурия» установлен с рождения, молекулярно-генетический анализ гена PAN выявил мутацию R408W в гомозиготном состоянии, для которой характерно полное отсутствие фермента ФАГ. С грудного возраста находится на лечебной диете, на фоне которой отмечались эпизоды повышения уровня ФА крови, мышечная слабость, боли в суставах, понижение настроения. Соматический статус без особенностей, неврологический статус включает снижение эмоционального фона, снижение мышечного тонуса, угнетение сухожильных рефлексов с рук и ног. Отмечается повышенный уровень ФА крови до 186.2 нмоль/мл, снижение аминокислот крови, в том числе триптофана, способствует развитию депрессивных состояний. На МРТ

головного мозга МР картина перивентрикулярных зон лейкопатии (за счет обменных нарушений). На ЭЭГ преходящее генерализованное замедление при сохранной основной активности мозга. Учитывая тяжелое течение ФКУ, недостаточную эффективность диеты и высокий риск развития материнской ФКУ, больной рекомендуется включить в терапию препарат «Пэгвалиаза» (Палинзик), который обладает свойством ферментировать ФА.

Заключение: На примере клинического случая показаны возможности оптимизировать лечение тяжелого течения ФКУ у пациентки 18 лет с сохраняющейся психоневрологической симптоматикой на фоне диетотерапии с помощью препарата «Пэгвалиаза» (Палинзик), метаболизирующего фенилаланин. Дополнение диетотерапии данным препаратом позволяет предупредить развитие материнской фенилкетонурии, однако лечение этим препаратом является персонифицированным, он показан при высоких цифрах ФА крови более 600 мкмоль/л и необходимо титрование дозы с предшествующей коррекцией диеты, а также информирование пациентки о побочных эффектах (анафилаксия) и лабораторный контроль эффективности лечения [2].

Список литературы

1. Клинические рекомендации МЗ РФ «Классическая фенилкетонурия и другие виды гиперфенилаланинемии», Возрастная группа: дети/взрослые, год утверждения - 2020.
2. Adams D, Andersson HC, Bausell H, Crivelly K et al. Use of pegvaliase in the management of phenylketonuria: Case series of early experience in US clinics. Mol Genet Metab Rep. 2021 Aug 14;28:100790. doi: 10.1016/j.ymgmr.2021.100790. PMID: 34430209; PMCID: PMC8369061.

Научное издание

МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНЫЕ АСПЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ VI РОССИЙСКОГО КОНГРЕССА С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ – ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»

Санкт-Петербург

12–17 июля 2022 г.

Под научной редакцией В.И. Ларионовой

Подписано в печать 15.11.2022. Формат 60×84 1/16.
Усл. печ. л. 13,0. Тираж 100 экз. Заказ 1155.

Издательство СПбГЭУ. 191023, Санкт-Петербург,
наб. канала Грибоедова, д. 30-32, лит. А.

Отпечатано на полиграфической базе СПбГЭУ