

**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  
V РОССИЙСКОГО КОНГРЕССА  
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

**«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ  
МЕДИЦИНЫ – ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»**

**Санкт-Петербург**

**26–29 марта 2020 г.**

*Под научной редакцией В.И. Ларионовой*

**ИЗДАТЕЛЬСТВО  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
ЭКОНОМИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА  
2020**

**ББК 28.04**

**М90**

**М90 Мультидисциплинарные аспекты молекулярной медицины: сборник материалов V Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное».** Санкт-Петербург. 26–29 марта 2020 г. / под науч. ред. В.И. Ларионовой. – СПб.: Изд-во СПбГЭУ, 2020. – 250 с.

ISBN 978-5-7310-4983-2

Сборник содержит доклады и статьи участников V 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**

**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 978-5-7310-4983-2

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СТАТЬИ</b>	10
<i>Кучер А.Н.</i> Генетика многофакторных заболеваний: от научных исследований до практики	10
<i>Мхеидзе М.О.</i> Светлана Климентьевна Ключева (1931-2005). In memoriam	21
<i>Поздеев В.К.</i> Диагностика и терапия эпилептиформных состояний метаболического генеза – алгоритм предупреждения «фармакорезистентности эпилепсии»	26
<i>Рубцов Н.Б.</i> От рутинной окраски хромосом через пэйнтинг к кариомэппингу	33
<b>ТЕЗИСЫ</b>	36
<i>Абрамова М. Ю.</i> Функциональные эффекты полиморфизма rs1173771, ассоциированного с развитием артериальной гипертензии ( <i>in silico</i> анализ)	36
<i>Бабушкина Н.П., Постригань А.Е., Кучер А.Н.</i> Полиморфизм генов белков репарации ДНК и долгожительство	38
<i>Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.</i> Интерпретация клинической значимости хромосомных микродупликаций при недифференцированных формах интеллектуальных расстройств	40
<i>Беляева Т.М.</i> Эпистатические взаимодействия полиморфных локусов гена филагтрина ( <i>FLG</i> ) и развитие хронической истинной экземы у мужчин	42
<i>Бермишева М.А., Гилязова И.Р., Зиннатуллина Г.Ф., Хуснутдинова Э.К.</i> Мутация p.Arg799Trp гена <i>ERCC4</i> не ассоциирована с риском развития рака молочной железы	44
<i>Бутрович Г.М., Мирлина Е.Д., Хабарова И.Г., Вербенко В.Н., Вострюхина О.А.</i> ПЦР-анализ фекальной ДНК для диагностики колоректального рака	46
<i>Васильев С.А., Толмачева Е.Н., Васильева О.Ю., Никитина Т.В., Саженова Е.А., Жигалина Д.И., Сердюкова Е.С., Марков А.В., Лебедев И.Н.</i> Эпигенетические нарушения у спонтанных абортусов с анеуплоидией	48
<i>Великанова Л.И., Ворохобина Н.В., Малеваная Е.В., Стрельникова Е.Г., Головнова О.Б.</i> Метаболомика стероидов мочи на основе газовой хромато-масс-спектрометрии у больных с врожденной дисфункцией коры надпочечников вследствие дефекта 21-гидроксилазы	50
<i>Вигонт В.А., Грехнев Д.А., Гусев К.О., Лебедева О.С., Ключников С.А., Казначеева Е.В.</i> Нарушения кальциевой сигнализации в пациент-специфичных моделях полиглутаминовых нейродегенеративных заболеваний как основа селективной гибели нейронов	52
<i>Воинова В.Ю., Ворсанова С.Г., Юров И.Ю.</i> Медико-генетическое консультирование в семьях, имеющих детей с несбалансированными аномалиями генома	54
<i>Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Кравец В.С., Куринная О.С., Зеленова М.А., Васин К.С., Колотий А.Д., Демидова И.А., Юров И.Ю.</i> Молекулярно-цитогенетическая диагностика мозаичных хромосомных аномалий	56

<i>Артемьева А.С., Гуляев А.В., Вербенко В.Н.</i>	
Мутационный анализ множественных опухолей двух пациентов	58
<i>Гармаза Ю.М., Слобожанина Е.И.</i>	
Внутриклеточный цинк и его роль в развитии устойчивости эритроцитов человека к окислительному стрессу в норме и при патологии	60
<i>Герасимов А.П., Иванова Н.Е., Кравцова С.В., Баранцевич Е.Р.</i>	
Генетические мишени персонализированной нейропротекции и нейрореабилитации	62
<i>Герасимов А.П., Иванова Н.Е., Щеколдина М.С., Одинцова Г.В., Хачатрян В.А., Ушанов В.В., Шалыгин Д.Ю., Баранцевич Е.Р.</i>	
Методические проблемы генетической диагностики очаговых и генерализованных форм эпилепсии	64
<i>Глотов О.С., Глотов А.С., Полякова И.В., Федяков М.А., Шиков А.Е., Цай В.В., Романова О.В., Барбитов Ю.А., Полев Д.Е., Лобенская А.Ю., Иващенко Т.Э., Уразов С.П., Щербак С.Г., Баранов В.С.</i>	
NGS и новая генетическая карта репродуктивного здоровья для диагностики моногенных заболеваний человека	66
<i>Головченко О.В., Рудых Н.А., Алтухова О.Б.</i>	
Изучение роли полиморфизма генов <i>GRPA</i> , <i>ITAG2</i> , <i>F13A1</i> в формировании преэклампсии	68
<i>Гончарова Р.И., Смаль М.П., Никитченко Н.В., Большакова Д.В., Ролевич А.И., Красный С.А.</i>	
Молекулярные подтипы рака мочевого пузыря на основе мутационной и эпигенетической изменчивости ключевых генов	70
<i>Гончарова Р.И., Яцкив А.А., Синявская Е.С., Кужир. Т.Д., Достанко Н.Ю., Чичко А.М., Ягур В.Е., Сукало А.В.</i>	
Роль полиморфных вариантов генов интерлейкина-6 и его рецептора при аутоиммунной патологии соединительной ткани в белорусской популяции у детей и взрослых	72
<i>Гошина А.Д., Вишня А.А., Сахабеев Р.Г., Поляков Д.С., Шавловский М.М.</i>	
Стимуляция Т-клеточного иммунного ответа антигеном, иммобилизованном на частицах из полимолочной кислоты и полиэтиленгликоля	74
<i>Гурская Н.Г., Бейлин А.К., Савостьянов К.В., Кондратьев Н.В.</i>	
Получение первичных культур клеток кожи больных RDEB, анализ мутаций COL VIIA1 и особенностей дифференциальной экспрессии. можно ли все полученные отличия объяснить только мутациями COL VIIA1?	76
<i>Давыдова В.Г., Бежанишвили Т.Г., Филатова М.Е., Андреева С.Е., Полякова А.А., Зарайский М.И., Гудкова А.Я.</i>	
Характеристика уровня циркулирующей микроРНК-21 при хронической сердечной недостаточности у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией	78
<i>Данилова А.Б., Нехаева Н.Л., Авдонкина Н.А., Просекина Е.А., Блохина М.Л., Емельянова Н.В., Скачкова О.В., Новик А.В., Питиа Н.П., Зозуля А.Ю., Балдуева И.А.</i>	
Банк клеточных линий солидных опухолей как основа для клеточного моделирования	80
<i>Данишевич А.М., Поспехова Н.И., Строганова А.М., Головина Д.А., Любченко Л.Н.</i>	
Клинико-морфологические особенности опухолей с микросателлитной нестабильностью (MSI) и нагрузкой вирусом Эпштейн-Барр (EBV) при раке желудка	82
<i>Дерябина С.С., Лагутина О.В., Подолина В.К., Николаева Е.Б.</i>	
Определение частоты редких вариантов в гене PАН у больных фенилкетонурией в свердловской области	84
<i>Докукина Т.В., Асташонок А.Н., Липатова Л.В.</i>	
Исследование биомаркеров нейродегенерации при эпилепсии	86

<i>Драганова А.С., Полякова Е.А., Колодина Д.А., Беляева О.Д., Беркович О.А., Зарайский М.И.</i>	
Экспрессия микроРНК-27а в крови как потенциальный маркер острого коронарного синдрома без подъема сегмента ST	88
<i>Дрибноходова О.П., Дунаева Е.А., Ярыгина Е.А., Бухарина А.Ю., Лёшкина Г.В., Миронов К.О.</i>	
Применение технологии пиросеквенирования для определения герминальных и соматических мутаций	90
<i>Заботина А.М., Грунина М.Н., Насырова Р.Ф., Тараскина А.Е.</i>	
Изучение молекулярно-генетических характеристик рецептора серотонина 2A на лимфоцитах периферической крови в качестве биомаркера развития расстройств шизофренического спектра и прогноза антипсихотической терапии	92
<i>Забродская Ю.М., Герасимов А.П., Ситовская Д.А., Соколова Т.В.</i>	
Гистопротеомика при очаговой эпилепсии	94
<i>Зеленова М.А., Юров Ю.Б., Ворсанова С.Г., Куринная О.С., Юров И.Ю.</i>	
Вариомный анализ данных об изменениях числа копий последовательностей ДНК (CNV) с помощью алгоритма «циклической фильтрации» (laundrying)	96
<i>Зеркаленкова Е.А., Михайлова Е.В., Кашир С.А., Солдаткина О.И., Илларионова О.И., Лебедева С.А., Масчан А.А., Масчан М.А., Новичкова Г.А., Ольшанская Ю.В., Попов А.М.</i>	
Сопоставление результатов определения минимальной остаточной болезни методами проточной цитометрии и ОТ-ПЦР у детей с острыми миелоидными лейкозами	98
<i>Иванов В.П., Герасимов А.П., Ким А.В.</i>	
Корреляции генотип-фенотип при акроцефалосиндактилии	100
<i>Иванов Д.В.</i>	
Актуальные проблемы правового регулирования биобанкирования: вопросы теории и практики	102
<i>Исупова Н.Ю.</i>	
Возможности инструментальных методов физико-химического анализа для клинической диагностики	104
<i>Карпичева О.Е., Аврова С.В., Редвуд Ч.С., Боровиков Ю.С.</i>	
Молекулярные основы этиотропного лечения врожденных скелетных миопатий	106
<i>Климентова Е.А., Гилязова И.Р., Султанов И.Р., Кабиров И.Р., Измайлов А.А., Исакова Г.М., Виноградов Я.Г., Назарова А.В., Павлов В.Н., Хуснутдинова Э.К.</i>	
Анализ полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК у пациентов с метастатическим раком почки	108
<i>Кожанова Т.В., Жилина С.С., Мецержакова Т.И., Осипова К.В., Айвазян С.О., Заваденко Н.Н., Притыко А.Г.</i>	
Опыт использования экзомного секвенирования в идентификации мутаций в генах, ассоциированных с развитием наследственной эпилепсии у детей	110
<i>Колотий А.Д., Ворсанова С.Г., Путинцев А.Н., Демидова И.А., Куринная О.С., Кравец В.С., Юров И.Ю.</i>	
Хромосомная нестабильность у детей с нервно-психическими заболеваниями: ретроспективный анализ цитогенетических исследований	112
<i>Кулабухова Д.Г., Николаев М.А., Сенкевич К.А., Безрукова А.И., Верлов Н.А., Варфоломеева Е.Ю., Штам Т.А., Усенко Т.С., Емельянов А.К., Шварцман А.Л., Пчелина С.Н.</i>	
Уровень альфа-синуклеина экзосом плазмы крови при синуклеинопатиях	114
<i>Куранова М.Л., Ноздрачева А.В., Плескач Н.М., Слижов П.А., Щугарева Л.М.</i>	
Клеточные особенности дермальных фибробластов при синдроме Коккейна	116

<i>Куринная О.С., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Зеленова М.А., Васин К.С., Юров И.Ю.</i> Молекулярное кариотипирование с применением биоинформатического анализа: оценка диагностических возможностей при выявлении генных мутаций в виде вариации числа копий последовательностей ДНК	118
<i>Кучер А.Н.</i> Молекулярная генетика и нутрициология – основа персонализированного маршрута здоровья	120
<i>Лавринова А.О., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А., Милюхина И.В., Тимофеева А.А., Литусова Е.М., Гагарина П.А., Беркович О.А., Пчелина С.Н., Емельянов А.К.</i> ДНК-метилтрансфераза 1 (DNMT1) в патогенезе болезни Паркинсона	122
<i>Лаптиева С.А., Соколенко А.П., Иевлева А.Г., Корженевская М.А., Имянитов Е.Н.</i> Исследование химиочувствительности <i>CHEK-2</i> , <i>NBS1</i> - и <i>VLM</i> -ассоциированного наследственного рака молочной железы	124
<i>Лопатина Е.В., Карецкий А.В., Пасатецкая Н.А., Лопатин А.И.</i> Модуляция сигнальной функции $Na^+, K^+$ -АТФазы – новый подход к лечению нейродегенеративных заболеваний	126
<i>Маджидова Ё.Н., Усманова Д.Д., Липатова Л.В.</i> Исследование содержания фактора некроза опухоли (ФНО)- $\alpha$ у больных с хронической ишемией мозга	128
<i>Маджидова Ё.Н., Усманова Д.Д., Липатова Л.В.</i> Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных с хронической ишемией мозга в зависимости от длительности артериальной гипертензии	129
<i>Маджидова Ё.Н., Усманова Д.Д., Липатова Л.В.</i> Исследование содержания IL-1В у больных с хронической ишемией мозга	131
<i>Малышева О.В., Глотов О.С., Кинунен А.А., Полякова И.В., Сайфитдинова А.Ф.</i> Факторы, влияющие на частоту хромосомных аномалий у доимплантационных эмбрионов человека	133
<i>Минайчева Л.И., Сеитова Г.Н., Одинокова О.Н., Корф М.П., Филиппова М.О., Суханова Т.И., Джилкибаева Н.М., Пурьскина Н.Л., Назаренко Л.П.</i> Информативность эхографических маркеров у плода во втором триместре беременности для пренатальной диагностики муковисцидоза	135
<i>Миняйло О.Н.</i> Анализ ассоциации полиморфизма rs679620 гена <i>MMP3</i> с развитием язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки	137
<i>Михаленко Е.П., Щаюк А.Н., Шепетько М.Н., Кильчевский А.В.</i> Герминальные мутации у пациентов с раком легкого и первично-множественными злокачественными опухолями	139
<i>Москалева П.В., Шнайдер Н.А., Насырова Р.Ф.</i> Персонализированный выбор терапии юношеской миоклонической эпилепсии с учетом фармакогенетического профиля	141
<i>Никандров В.Н.</i> Streptokinase is a mysterious protein	143
<i>Николаев М.А., Усенко Т.С., Безрукова А.И., Богданова Д.А., Сенкевич К.А., Милюхина И.В., Пчелина С.Н.</i> Экспрессия альфа-синуклеина в CD45+ клетках периферической крови при синуклеинопатиях	145
<i>Новаков В.В.</i> <i>In silico</i> анализ функциональных эффектов полиморфизма rs1078301 гена <i>COL27A</i> , ассоциированного с развитием остеоартроза коленного сустава	147

<i>Ордян Н.Э., Малышева О.В., Холова Г.И., Акулова В.К., Пивина С.Г.</i>	
Стресс отца влияет на способность к обучению и память потомков	149
<i>Осиновская Н.С., Султанов И.Ю., Насыхова Ю.А.</i>	
Молекулярно-генетическое исследование в семьях, имеющих пробанда с недостаточностью 21-гидроксилазы и планирующих пренатальную диагностику	151
<i>Пантелеева А.А., Побожьева И.А., Разгильдина Н.Д., Драчева К.В., Полякова Е.А., Марков А.В., Бровин Д.Л., Беляева О.Д., Беркович О.А., Назаренко М.С., Пузырев В.П., Баранова Е.И., Пчелина С.Н., Мирошникова В.В.</i>	
Регуляция экспрессии генов транспортеров холестерина ABCA1 и ABCG1 в жировой ткани при ожирении и ишемической болезни сердца	153
<i>Пасатецкая Н.А., Лопатин А.И., Лопатина Е.В.</i>	
Направленная модуляция остеогенеза: вклад $\beta$ -адренорецепторов	155
<i>Петрашова Д.А., Коломейчук С.Н., Михайлов Р.Е., Пожарская В.В.</i>	
Дестабилизации генома и полиморфизм генов <i>CLOCK</i> , <i>ACE</i> , <i>PER3</i> у школьников старших классов, проживающих в Заполярье	158
<i>Пономарева А.А., Гервас П.А., Панкова О.В., Щеголева А.А., Киселев А.М., Зарубин А.А., Чердынцева Н.В., Перельмутер В.М., Денисов Е.В.</i>	
Профиль метилирования ДНК в предопухолевых и опухолевых изменениях бронхолегочного эпителия	160
<i>Пономаренко И.В., Решетников Е.А.</i>	
Генетические факторы возраста менархе у населения России	162
<i>Пуппо И.Л., Сайфитдинова А.Ф., Логинова Ю.А., Кинунен А.А., Тонян З.Н., Пастухова Ю.Р., Леонтьева О.А., Кузнецова Р.А., Панина А.Н., Чиряева О.Г., Ефимова О.А., Полякова И.В., Щербак С.Г., Глотов О.С., Бичева Н.К.</i>	
Выбор тактики преимплантационного генетического тестирования для носителей Y;аутосомных транслокаций	164
<i>Решетников Е.А.</i>	
Влияние однонуклеотидных полиморфизмов гена <i>NDRG1</i> на формирование преэклампсии	166
<i>Саженова Е.А., Лебедев И.Н.</i>	
Структура и причины нарушений геномного импринтинга при патологии пре- и постнатального развития человека	168
<i>Свинарева Д.И.</i>	
Роль полиморфных локусов матриксных металлопротеиназ при формировании глаукомы у женщин	170
<i>Сенкевич К.А., Jennifer A. Ruskey, Sandra B. Laurent, Dan Spiegelman, Stanley Fahn, Cheryl Waters, S. Pablo Sardi, Guy A. Rouleau, Roy N. Alcalay, Ziv Gan-Or</i>	
Варианты в гене <i>LRRK2</i> как модификаторы активности глюкоцеребразидазы	172
<i>Серебрякова Е.А., Кадурина Т.И., Лонишин Л.Р.</i>	
Клинический полиморфизм и генетическая гетерогенность синдрома Элерса-Данло гипермобильного типа	174
<i>Синицкий М.Ю., Кутихин А.Г., Шишкова Д.К., Цепочкина А.В., Асанов М.А., Понасенко А.В.</i>	
Оценка уровня повреждения днк и секреции проатеросклеротических цитокинов в эндотелиальных клетках, экспонированных митомицином С	176
<i>Сироткина О.В., Черныш Н.Ю., Улитина А.С., Вавилова Т.В.</i>	
Роль эритроцитарных микрочастиц в регулировании плазменного гемостаза	178
<i>Соколова М.Г., Александров Н.Ю., Лопатина Е.В., Гавриченко А.В., Лопатин А.И.</i>	
Молекулярные механизмы, влияющие на терминальный спрутинг у больных наследственной моторной и сенсорной невропатией I типа	181

<i>Соколова М.Г., Лопатин А.И., Рощина О.С.</i>	
Активность антиапоптотического белка Bcl-2 у детей наследственными формами лейкодистрофий	183
<i>Соловьева Н.И., Тимошенко О.С., Гуреева Т.А., Кугаевская Е.В.</i>	
Экспрессия матриксных металлопротеиназ и их эндогенных регуляторов при плоскоклеточной карциноме шейки матки	185
<i>Тамашевский А.В., Гармаза Ю.М., Слобожанина Е.И.</i>	
Роль металлотионеинов в поддержании окислительно-восстановительного баланса в лимфоцитах пациентов с хроническим В-лимфоцитарным лейкозом	187
<i>Тарасенко О.А., Насыхова Ю.А., Тонян З.Н., Талантова О.Е., Иващенко Т.Э.</i>	
10-летний опыт применения метода КФ-ПЦР в пренатальной диагностике наиболее распространённых анеуплоидий на базе «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»	189
<i>Тимошенко О.С., Гуреева Т.А., Кугаевская Е.В., Соловьева Н.И.</i>	
Мембраносвязанная матриксная металлопротеиназа MT1-ММП и ее эндогенные регуляторы при плоскоклеточной карциноме шейки матки	191
<i>Толмачева Е.Н., Фонова Е.А., Соловьева Е.В., Минайчева Л.И., Лопаткина М.Е., Жигалина Д.И., Кашеварова А.А., Саженова Е.А., Никитина Т.В., Затула Л.А., Павлова К.А., Лебедев И.Н.</i>	
Асимметричная инактивация X-хромосомы – перспективный биомаркер X-сцепленных CNV ПРИ невынашивании беременности и интеллектуальных расстройствах	192
<i>Тонян З.Н., Пуппо И.Л., Сайфитдинова А.Ф., Логинова Ю.А., Чиряева О.Г., Кинунен А.А., Пастухова Ю.Р., Леонтьева О.А., Бичева Н.К.</i>	
Анализ сегрегации хромосом в гаметогенезе у носителей реципрокных транслокаций аутосом	194
<i>Топчиева Л.В., Корнева В.А., Малышева И.Е.</i>	
Уровень мРНК генов <i>FOXP3</i> И <i>RORγ</i> в лейкоцитах периферической крови здоровых людей и пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией	196
<i>Трифонов Е.А., Марков А.В., Степанов В.А.</i>	
Транскриптомика плацентарной ткани: поиск ключевых биомаркеров и сигнальных путей больших акушерских синдромов	199
<i>Угаров И.В., Черных В.Б., Иванов Н.В., Шаркова И.В., Масленников В.В., Остапенко Д.К., Соловей В.В.</i>	
Применение искусственного интеллекта для оценки факторов генетической предрасположенности к колоректальному раку	201
<i>Угаров И.В., Черных В.Б., Иванов Н.В., Шаркова И.В., Масленников В.В., Остапенко Д.К., Соловей В.В.</i>	
Применение искусственного интеллекта и эпигенетических данных в диагностике аденокарциномы толстого кишечника	203
<i>Усенко Т.С., Безрукова А.И., Богданова Д.А., Сенкевич К.А., Кудреватых А.В., Милюхина И.В., Пчелина С.Н.</i>	
Уровень экспрессии генов мембранных белков и ферментов лизосом в CD45+ клетках периферической крови у пациентов с болезнью паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене <i>GBA</i>	205
<i>Хальчицкий С.Е., Согоян М.В., Филиппова А.Н., Виссарионов С.В., Дмитриев А.В.</i>	
Анализ молекулярно-генетических механизмов этиологии и патогенеза деформации позвоночника у детей с врожденным и идиопатическим сколиозом	207
<i>Хальчицкий С.Е., Согоян М.В., Назаров В.Д., Виссарионов С.В.</i>	
Опыт дифференциальной диагностики ахондроплазии и гипохондроплазии с помощью молекулярно-генетического тестирования	209



<i>Хорошилов И.Е.</i>	
Молекулярная и персонифицированная нутрициология – медицина будущего? <i>Чубарь А.В., Семенова Н.Ю., Енукашвили Н.И.</i>	211
Мезенхимные стромальные клетки из опухолевого микроокружения пациентов с множественной миеломой сохраняют изменённый фенотип после лечения <i>Чурюмова Ю.А.</i>	213
Разработка дизайна и применение панелей для таргетного секвенирования NGS в алгоритме селективного неонатального скрининга наследственных болезней обмена методом тандемной масс-спектрометрии <i>Шаповалов А.С., Герасимов А.П., Хачатрян В.А.</i>	215
Особенности диагностики и лечения спинно-мозговых грыж у новорожденных <i>Шиков А.Е., Цай В.В., Федяков М.А., Эйсмонт Ю.А., Уразов С.П., Сарана А.М., Щербак С.Г., Глотов О.С.</i>	217
Применение технологий Oxford Nanopore для анализа вариантов в митохондриальной ДНК человека <i>Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б.</i>	219
Нейрогеномные вариации: классификация, причины возникновения и фенотипические последствия <i>Яковлева Е.В., Ковальчук Т.С., Фомина Н.М., Никитина С.Ф., Вершинина Т.Л., Васичкина Е.С., Фомичева Ю.В., Первунина Т.М., Костарева А.А.</i>	221
Влияние мутаций с неопределенной клинической значимостью на клиническую картину кардиомиопатий у пациентов детского возраста	223
<b>КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ</b>	225
<i>Булатникова М.А., Василишина А.А., Ларионова В.И.</i>	
Клиническое наблюдение MED13L-синдрома (синдрома умственной отсталости с патогномичными чертами лица с пороками сердца или без них) <i>Булатникова М.А., Василишина А.А., Куринная О.С., Юров И.Ю., Ларионова В.И.</i>	225
Клиническое наблюдение и лечение синдрома Клифстры, обусловленного микроделецией в участке 9q34.3: возможное улучшение на фоне курсового приема акатинола-мемантина <i>Валиахметова Э.Ф., Папуша Л.И., Ясько Л.А., Друй А.Е., Новичкова Г.А., Карачунский А.И.</i>	228
Диффузная лептоменингеальная глионейрональная опухоль у детей: 3 клинических случая <i>Долина А.А., Яковлев Д.С.</i>	231
Роль молекулярных технологий в диагностике синдрома CADASIL <i>Ситник Н.Г., Малышева О.М., Кулакова Г.В.</i>	233
Клинические характеристики тяжелого синдрома дыхательных расстройств у двух недоношенных детей с гетерозиготными мутациями гена ABCA3 <i>Соколова М.Г.</i>	235
Митохондриальная миопатия с мутацией в гене TK2 с положительной динамикой в двигательной сфере на фоне комплексной фармакотерапии <i>Яблонская М.И., Колотий А.Д., Юров И.Ю.</i>	237
Этапность молекулярно-генетического обследования больного с сочетанной моногенной и хромосомной патологией: применение «обратного» кариотипирования	239
	241

**МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ ВОПРОСЫ СОВРЕМЕННОЙ ЭКОНОМИКИ  
МЕДИЦИНЫ**

*Беркович М.И., Волин А.Ю.*

К вопросу оценки инновационной активности в фармацевтической отрасли 241

*Кундрюков В.А., Головцова И.Г.*

Развитие превентивной медицины в контексте реализации национального проекта  
«Здравоохранение» 243

*Тозикова М.А.*

Управленческие проблемы в организациях здравоохранения 245

# СТАТЬИ

## ГЕНЕТИКА МНОГОФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ОТ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДО ПРАКТИКИ

Кучер А.Н.

*Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск*

## GENETICS OF MULTIFACTORIAL DISEASES: FROM SCIENTIFIC RESEARCH TO PRACTICE

Kucher A.N.

*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia*

E-mail: aksana.kucher@medgenetics.ru

На фоне значительных успехов применения молекулярно-генетических методов в диагностике моногенных и хромосомных болезней, в отношении многофакторных заболеваний (МФЗ) суждения о диагностической значимости и возможности практического использования молекулярно-генетических данных противоречивы. С одной стороны, генетические исследования (в том числе полноэкзомное и полногеномное секвенирование) становятся все доступнее; они рассматриваются как перспективное научно-практическое направление современной медицины, с другой – высказываются сомнения о разрешающей способности, этичности и экономической целесообразности применения генетического тестирования для определения риска развития МФЗ [1, 2]. В основе такой противоречивости суждений о возможностях генетического тестирования МФЗ – сложность самой патологии (риск развития зависит от большого числа не только генетических, но и средовых факторов), неоднозначность (зачастую и противоречивость) результатов ассоциативных исследований, а в ряде случаев – трудно-объяснимость их с точки зрения патогенеза. Однако по мере накопления знаний в этой области (в том числе благодаря широкогеномным ассоциативным исследованиям (GWAS), эпигеномным ассоциативным исследованиям (EWAS) и другим омиксным технологиям) многие вопросы снимаются, противоречия разрешаются и проясняются границы применимости геномных данных в отношении многофакторных заболеваний.

**Структурная вариабельность генома.** Наибольший объем информации о значимости генетических маркеров в формировании риска развития заболеваний многофакторной природы получен благодаря ассоциативным исследованиям – с использованием кандидатного подхода и, особенно, GWAS [3, 4]. В GWAS-каталоге [3] представлены данные более 1100 исследований; в базе DisGeNEN [4] приведена информация о более чем 600 тыс. ассоциаций

между генами и болезнями, фенотипами, признаками и о более чем 200 тыс. ассоциаций между генетическими вариантами и патологиями; при этом спектр вариантов, значимых для риска развития болезней, постоянно увеличивается [5, 6]. В целом, выполненные с использованием разных подходов ассоциативные исследования подтвердили полигенную природу большинства социально-значимых болезней и патогенетически значимых признаков.

В отличие от кандидатного подхода к изучению генетики МФЗ, базировавшегося на уже известных сведениях о патогенезе исследуемых патологий, GWAS позволили открыть много новых вариантов и генов, ассоциированных с заболеваниями, и выявить новые патогенетические звенья. Благодаря GWAS также получены интересные данные о вовлеченности генов (полиморфных вариантов) в формирование изменчивости антропометрических, биохимических и других признаков (в том числе и патогенетически значимых); установлено, что привычки, зависимости, особенности поведения, ответ на лекарственные препараты и т.д. в определенной степени генетически детерминированы. В то же время, результаты GWAS показали, что большинство ассоциированных с заболеваниями и признаками генетических вариантов локализованы в некодирующих регионах; вклад этих вариантов в риск развития болезней, как правило, невелик; иногда неблагоприятным эффектом обладают часто регистрируемые аллели (и соответственно, генотипы), а ассоциации имеют неустойчивый характер (этноспецифичны, не всегда подтверждаются в других популяциях) или даже противоречивы (неблагоприятными являются разные аллели и генотипы).

Выявление ассоциаций с МФЗ интронных и межгенных полиморфных вариантов стимулировало интерес к изучению некодирующих участков генома. В итоге был выявлен большой регуляторный потенциал этих регионов: оказалось, что ассоциированные варианты данной локализации находятся в промоторах, участках связывания микроРНК, являются eQTL, sQTL т.д., что в определенной степени подтверждает неслучайность выявленных ассоциаций. Так, многие локализованные в интронах варианты гена FTO, устойчиво ассоциированные с избыточной массой тела, ожирением, сахарным диабетом и другими заболеваниями/признаками [3], участвуют в регуляции экспрессии, причем не только гена FTO, но и близлежащих генов (IRX3, IRX5, RPGRIP1L), кодирующих белки, контролирующие адипогенез, накопление липидов и энергетический гомеостаз (см. [7]).

Установить причины, почему к МФЗ предрасполагают распространенные варианты, помогли исследования в области популяционной и эволюционной биологии, генетики и медицины [8, 9]. Оказалось, что многие ассоциированные с заболеваниями варианты не нейтральны, на определенных этапах эволюции на их распространение оказывали влияние природно-климатические факторы, инфекционные агенты, характер ведения хозяйства,

тип диеты и другие. Например, существенные различия между территориальными группами населения наблюдаются по генотипическим особенностям rs7041 гена витамин-D-связывающего белка (GC) [10] и регистрируется широтный градиент распределения частот аллелей. Для этого SNP установлены ассоциации не только с уровнем кодируемого геном GC белка, но и с уровнем витамина D, а также с астмой, тиреоидитом, диабетом, атеросклерозом, ишемической болезнью сердца, онкологическими заболеваниями и др. [3, 4]. Для ряда ассоциированных с вариантами этого гена заболеваний в качестве одного из факторов риска выступает дефицит витамина D, и можно ожидать, что и генетические варианты, и обеспеченность организма данным витамином будут в совокупности определять риск развития витамин-D-зависимых болезней.

В результате преобразования структуры современных популяций (прежде всего, вследствие интенсификации миграций) и изменения образа жизни (характера питания, физических нагрузок, экологических условий и т.д.), наблюдается несоответствие адаптированных на протяжении многих поколений к конкретным условиям генофондов народонаселения (и отдельных геномов) эволюционно новой (иногда агрессивной) среде обитания. Это приводит к увеличению распространенности многих МФЗ, а также к выявлению новых неблагоприятных генетических вариантов (повышающих риск развития болезней), которые ранее были нейтральны или проявляли себя как благоприятные. Так, лишь при неблагоприятных экологических условиях (проживание вблизи транспортных магистралей) были выявлены ассоциации ряда полиморфных вариантов генов (BMP8A, DHS, WWOX, HABP2, CNNM1, SAMSM1, FCAMR и др.) с периферической артериальной болезнью и коронарным атеросклерозом, которые, в то же время имели расово-специфичный характер [11, 12]. В зависимости от условий среды обитания, разные аллельные варианты могут обладать негативным эффектом в отношении заболеваний, как это было показано для бронхиальной астмы [13] и т.д. Таким образом, различия в условиях реализации генетической программы могут выступать в качестве одной из причин неустойчивости регистрируемых ассоциаций полиморфизмов с МФЗ.

Несмотря на достигнутые успехи, даже для наиболее изученных МФЗ совокупный вклад генетических факторов не объясняет всей наследуемости соответствующих болезней. Возникло понятие недостающей наследуемости «missing heritability» [14]. Чтобы справиться с этой проблемой был предложен ряд стратегий, в том числе: увеличение размеров выборок при проведении GWAS (с целью выявления вариантов с меньшим эффектом), поиск в качестве предрасполагающих к болезням редких вариантов и новых структурных вариантов (в том числе Copy Number Variants – CNV) и т.д. Интерес возник и к оценке вклада соматической геномной изменчивости в риск развития заболеваний многофакторной природы (причем

не только онкологических) [15, 16]. Однако до настоящего времени проблема «missing heritability» не решена и ее обсуждают как с методологических, так и с концептуальных точек зрения [14].

**Эпигенетика многофакторных заболеваний.** Эпигенетические подходы относительно недавно стали применяться при исследовании МФЗ. Наиболее активно изучается значение изменения метилирования ДНК (включая эпигеномные ассоциативные исследования – EWAS), а также роль микроРНК в развитии болезней данной категории (реже – модификации гистонов и других белков) [17, 18]. Метилирование ДНК – это один из механизмов регуляции экспрессии генов, который чувствителен к воздействию средовых факторов (в том числе – табачный дым, лекарственные препараты и др.); микроРНК регулируют экспрессию на посттранскрипционном уровне и также зависимы от средовых факторов [18–20]. Например, показано, что метформин влияет на эпигеном и уровень экспрессии генов (в том числе и многочисленных генов микроРНК), и именно с этим связывают притиводиабетический, противоопухолевый эффекты и протективные свойства данного препарата в отношении риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, ухудшения когнитивных функций и старения организма [21].

Метилирование ДНК меняется на протяжении онтогенеза разнонаправлено для разных генов, включая гены, варианты которых ассоциированы с МФЗ [20, 22]. При этом, с одной стороны, на эффект полиморфных вариантов в отношении риска развития заболеваний может влиять уровень метилирования ДНК соответствующих генов, с другой – метилирование находится под генетическим контролем (определяется в том числе структурными особенностями CpG-сайтов и CpG-островков), а также зависит от обеспеченности организма значимыми для метилирования нутриентами (фолиевой кислотой, витаминами B12, B6, ионами цинка и т.д.). Эффективность регуляции экспрессии на трансляционном уровне будет определяться статусом метилирования генов микроРНК, а также структурными особенностями генов микроРНК и сайтов связывания микроРНК на мРНК. Иными словами, структурные и эпигенетические факторы взаимозависимы, и все это создает многоуровневость в регуляции реализации записанной в геномах наследственной информации и сложность в познании генетической компоненты многофакторных патологий.

Понимание роли эпигенетических механизмов в развитии МФЗ, установление специфических факторов, влияющих как на уровень метилирования, так и на уровень микроРНК, привлекают к себе внимание с точки зрения возможности разработки на основе этих знаний таргетных лекарственных препаратов. Однако в силу широкой сферы компетенции каждой микроРНК, регистрируемой зачастую разнонаправленности их эффектов на разных стадиях развития патологического процесса, а также неспецифичности влияющих

на уровень метилирования ДНК экзогенных факторов, в клинической практике эти подходы не получили широкого применения. Даже в отношении хорошо изученных лекарственных средств (например, метформина), обладающих регуляторным потенциалом на уровне генома, отмечается все еще существующая значительная степень неопределенности в отношении долгосрочного влияния на здоровье применяющих их людей [21], и подчеркивается важность продолжения исследований в этом направлении. Следует отметить, что фармакокинетика и фармакодинамика (соответственно эффективность и риск развития побочных эффектов) метформина (как и других лекарственных препаратов) генетически детерминированы [23].

**Средовые факторы и образ жизни.** Эффекты среды (поллютантов, вредных привычек, инфекционных агентов и т.д.) и особенности образа жизни (характер питания, физическая активность) – это традиционные факторы риска, хорошо известные для многих МФЗ. Выше уже приведены примеры влияния некоторых экзогенных факторов на функционирование генома, но средовые воздействия этим не ограничиваются, между геномами и средой формируются сложные взаимосвязи. Во-первых, реализации генетической программы – это энергоемкий процесс, требующий обеспеченности структурными компонентами и физиологически активными веществами. Во-вторых, чувствительность к средовым воздействиям и потребности в нутриентах также зависят от генетических особенностей индивидов. Известны гены, продукты которых отвечают за метаболизм ксенобиотиков (включая лекарственные препараты), метаболизм белков, жиров, углеводов, участвуют в ответе на различные инфекционные агенты и т.д. [3]. Наконец, в-третьих, доказано, что на экспрессию многих генов влияют характер диеты, физическая активность, лекарственные препараты (в том числе посредством эпигенетических механизмов) [19, 24–26]. Примечательно, что указанные факторы изменяют экспрессию и генов, для вариантов которых установлены ассоциации с МФЗ, а кодируемые ими продукты обладают доказанной патогенетической значимостью. В зависимости от физической активности и особенностей диеты может меняться значимость отдельных полиморфных вариантов в отношении риска развития МФЗ (см. [7]).

Эффективность работы ферментов зависит от их структуры, количества, в ряде случаев, и от наличия кофакторов (коферментов), а также от объема субстрата. Для ферментов, метаболизирующих ксенобиотики, в роли кофакторов выступают ионы цинка, кальция, магния, железа, витамины В12, В6 и др. [27]; при их недостатке детоксикация не будет успешной. При этом участвующие в метаболизме ксенобиотиков ферменты обладают плейотропными свойствами и, помимо процессов детоксикации экзогенных веществ, кодируемые ими продукты участвуют в метаболизме липидов, стероидов, витаминов и т.д. Соответственно, как при дефиците кофакторов, так и при избыточном поступлении в организм

ксенобиотиков может нарушаться широкий спектр метаболических процессов, что также может неблагоприятно сказаться на состоянии здоровья, особенно в случае генетически обусловленных нарушений структуры и/или снижения количества ферментов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков.

Варианты генов метаболизма ксенобиотиков ассоциированы, с одной стороны, с уровнем ксенобиотиков, различных метаболитов, липидов в сыворотке крови, ответом на прием лекарственных препаратов, с другой – с онкологическими заболеваниями, болезнями нервной, бронхолегочной, сердечно-сосудистой систем, эндокринными и метаболическими нарушениями [3, 4]. Это справедливо, в частности, для генов, кодирующих цитохромы P450, для многих из которых (CYP11B2; CYP27B1; CYP2D6 и т.д.) кофактором является гемовое железо [27]. Интересно, что при дефиците железа в организме также регистрируются неврологические и психические симптомы, нарушения в работе сердечно-сосудистой системы, увеличивается риск развития опухолей [28].

Приведенные выше примеры свидетельствуют о том, что для понимания условий, при которых реализуется неблагоприятный в отношении риска развития МФЗ эффект аллелей и генотипов, важно учитывать средовые факторы и образ жизни каждого конкретного индивида.

**Генетика многофакторных заболеваний и персонализированная медицина.** Расшифровка генома человека и последующее быстрое накопление новых данных о вовлеченности генов в формирование риска развития МФЗ и изменчивости патогенетически значимых признаков, вызвало интерес исследователей, медицинской общественности и населения к возможности на основании геномных данных ставить диагноз и/или оценивать риск развития заболеваний многофакторной природы. Однако ожидания оказались завышенными, не были оправданы в полной мере, и наступил период разочарования в возможностях геномных технологий – как для диагностики, так и для профилактики МФЗ. Действительно, даже полногеномное секвенирование и учет всех индивидуальных генетических особенностей не позволяют сейчас дать высокоточный прогноз риска развития болезни многофакторной природы и, тем более, исключить вероятность ее развития. Это связано с многими причинами. Во-первых, далеко не для всех вариантов установлена их патогенетическая значимость (варианты с неопределенной патогенетической значимостью) в отношении риска развития МФЗ, не в полном объеме охарактеризована функция генов (генетических вариантов), сфера их компетенции; не выявлены все потенциальные средовые факторы риска для конкретных МФЗ. Во-вторых, даже для устойчиво ассоциированных и функционально значимых вариантов может существовать большое число модифицирующих патогенетический эффект факторов (эпистатические взаимодействия генов, генетический фон,



эпигенетические и средовые модификации). В-третьих, в основе развития одного и того же заболевания могут находиться сочетания многих генетических и многих средовых факторов с разным соотносительным вкладом как отдельных факторов, так и совокупного влияния средовых и генетических факторов. Иными словами, множественность факторов (и средовых, и генетических), предрасполагающих к развитию практически любого МФЗ, а также все еще существующая неполнота наших знаний в отношении факторов риска, создают большую долю неопределенности с точки зрения прогнозирования риска развития болезни, даже если для оценки применяют кумулятивный генетический риск (с учетом всех известных на настоящий момент неблагоприятных вариантов) и учитывается широкий спектр ген-средовых взаимодействий [5, 29].

Совсем иную диагностическую значимость могут иметь отдельные генетические (как и эпигенетические) варианты, не только повышающие риск развития МФЗ, но и способствующие формированию зависимостей (алкогольной, наркотической, пищевой), определяющие ответ на фармакологические препараты (в том числе, приводящие к атипичной и парадоксальной реакции). Среди таких генетических маркеров для разработки персонализированных подходов к образу жизни наибольший интерес представляют те, для которых установлены модифицирующие эффекты средовых факторов или образа жизни, которыми может управлять каждый индивид, чтобы минимизировать (или отменить) их возможные неблагоприятные эффекты. Такой подход согласуется с концепцией медицины будущего «5П», когда медицина рассматривается как предиктивная, профилактическая, партисипативная (предполагает активное участие пациента), персонализированная и позитивная.

Примеров о возможности управления геномом (даже не очень благоприятным) можно привести много. Например, установлено, что обладатели аллеля С rs2070951 гена NR3C2 только при низкой физической активности имеют высокий риск развития клинической депрессии [30]; соответственно, увеличение физической активности может выступать для таких индивидов как фактор, противостоящий неблагоприятному генотипу. Достаточный уровень обеспеченности организма фолатами и витамином В12 снижает неблагоприятный эффект генотипа ТТ rs1801133 (С677Т) гена MTHFR и способствует снижению уровня гомоцистеина [31]. Гомоцистеин выступает в качестве фактора риска развития многих заболеваний (сердечно-сосудистой и нервной систем, онкологических заболеваний, диабета, псориаза и др.) [4], поэтому рекомендации по питанию с добавлением витамина В12 и фолиевой кислоты рассматриваются как часть санитарного просвещения населения с целью профилактики этих заболеваний [32, 33]. Установлено, что на риск развития коронарного атеросклероза у пациентов с дислипидемией влияют rs12934922 и rs11646692 гена VCO1

в сочетании с такими управляемыми поведенческими факторами как употребление жареной пищи и десертов, физическая активность, что позволило разработать рекомендации по изменению образа жизни для индивидов с генетической предрасположенностью к атеросклерозу [34]. Ген-средовые взаимодействия показаны в отношении формирования риска развития гипертонии [5] и т.д.

Данные о возможности корректировки образа жизни на основании знаний индивидуальных генетических особенностей постоянно пополняются, но уже на настоящий момент имеющаяся информация создает хороший базис для разработки индивидуальных программ здоровья. Со временем накопленные знания в области генетики и эпигенетики МФЗ, полученные благодаря не только использованию современных молекулярно-генетических технологий (в т.ч. омиксных), но и системному подходу к сбору, хранению и анализу генетических, медицинских и прочих данных (в т.ч. с привлечением биобанков), обеспечат возможность широкого внедрения персонализированного подхода к профилактике болезней многофакторной природы с учетом индивидуальных генетических особенностей, воздействующих средовых факторов и текущего состояния здоровья любого индивида.

#### Список литературы

1. Баранов В.С. Эволюция предиктивной медицины. Старые идеи, новые понятия. Медицинская генетика. 2017, 16 (5): 4-9.
2. Baudhuin L.M., Biesecker L.G., Burke W., et al. Predictive and Precision Medicine with Genomic Data. Clin. Chem. 2020, 66 (1): 33-41.
3. Buniello A., MacArthur J.A.L., Cerezo M., et al. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics. Nucleic Acids Research 2019, 47 Database issue): D1005-D1012.
4. DisGeNET Database 6.0. [Electronic resource] – URL: <https://www.disgenet.org/> Accessed 01.2020.
5. Evangelou E., Warren H.R., Mosen-Ansorena D., et al. Genetic analysis of over 1 million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits. Nat Genet. 2018, 50 (10): 1412-1425.
6. Giri A., Hellwege J.N., Keaton J.M., et al. Trans-ethnic association study of blood pressure determinants in over 750,000 individuals. Nat Genet. 2019, 51 (1): 51-62.
7. Кучер А.Н. Ген FTO и болезни: значимость генетического полиморфизма, эпигенетических модификаций и средовых факторов. Генетика. 2020 (В печати).
8. Степанов В.А. Эволюция генетического разнообразия и болезни человека. Генетика. 2016, 52 (7): 852-864.

9. Yao S., Hong C.C., Ruiz-Narváez E.A., et al. Genetic ancestry and population differences in levels of inflammatory cytokines in women: Role for evolutionary selection and environmental factors. *PLoS Genet.* 2018, 14 (6): e1007368.
10. Ensembl Genome Browser. [Electronic resource] – URL: [www.ensembl.org](http://www.ensembl.org). Accessed 01.2020.
11. Loss G.J., Depner M., Hose A.J., et al. The Early Development of Wheeze. Environmental Determinants and Genetic Susceptibility at 17q21. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016, 193 (8): 889-897.
12. Ward-Caviness C.K., Neas L.M., Blach C., et al. Genetic Variants in the Bone Morphogenic Protein Gene Family Modify the Association between Residential Exposure to Traffic and Peripheral Arterial Disease. *PLoS One.* 2016, 11 (4): e0152670.
13. Ward-Caviness C.K., Neas L.M., Blach C., et al. A genome-wide trans-ethnic interaction study links the PIGR-FCAMR locus to coronary atherosclerosis via interactions between genetic variants and residential exposure to traffic. *PLoS One.* 2017, 12 (3): e0173880.
14. Génin E. Missing heritability of complex diseases: case solved? *Hum Genet.* 2020, 139 (1): 103-113.
15. Shaikh T.H. Copy Number Variation Disorders. *Curr Genet Med Rep.* 2017, 5 (4): 183-190.
16. Hu L., Yao X., Huang H., et al. Clinical significance of germline copy number variation in susceptibility of human diseases. *J Genet Genomics.* 2018, 45 (1): 3-12.
17. Stylianou E. Epigenetics of chronic inflammatory diseases. *J Inflamm Res.* 2018, 12: 1-14.
18. Zong D., Liu X., Li J., et al. The role of cigarette smoke-induced epigenetic alterations in inflammation. *Epigenetics Chromatin.* 2019, 12 (1): 65. doi: 10.1186/s13072-019-0311-8.
19. Abdul Q.A., Yu B.P., Chung H.Y., et al. Epigenetic modifications of gene expression by lifestyle and environment. *Arch Pharm Res.* 2017, 40 (11): 1219–1237.
20. Fragou D., Pakkidi E., Aschner M., et al. Smoking and DNA methylation: Correlation of methylation with smoking behavior and association with diseases and fetus development following prenatal exposure. *Food Chem Toxicol.* 2019, 129: 312–327.
21. Bridgeman S.C., Ellison G.C., Melton P.E., et al. Epigenetic effects of metformin: From molecular mechanisms to clinical implications. *Diabetes Obes Metab.* 2018, 20 (7): 1553–1562.
22. Pagiatakis C., Musolino E., Gornati R., et al. Epigenetics of aging and disease: a brief overview. *Aging Clin Exp Res.* 2019. Dec 6. doi: 10.1007/s40520-019-01430-0.

23. Mofu Mato E.P., Guewo-Fokeng M., Essop M.F., Owira P.M.O. Genetic polymorphisms of organic cation transporter 1 (OCT1) and responses to metformin therapy in individuals with type 2 diabetes: A systematic review. *Medicine (Baltimore)*. 2018, 97 (27): e11349.
24. Rangel-Zúñiga O.A., Camargo A., Marin C., et al. Proteome from patients with metabolic syndrome is regulated by quantity and quality of dietary lipids. *BMC Genomics*. 2015, V. 16: 509. doi: 10.1186/s12864-015-1725-8.
25. Romero S.A., Hocker A.D., Mangum J.E., et al. Update: evidence of a broad histamine footprint on the human exercise transcriptome. *Physiol*. 2018, 596 (6): 1103. doi: 10.1113/JP275834.
26. de Jong T.V., Moshkin Y.M., Guryev V. Gene expression variability: the other dimension in transcriptome analysis. *Physiol Genomics*. 2019, 51 (5): 145-158.
27. Protein knowledgebase UniProtKB. [Electronic resource] – URL: <https://www.uniprot.org/> Accessed 01.2020.
28. Скальный А.В., Рудаков И.А. Биоэлементы в медицине. М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. 272 с.
29. Thériault S., Lali R., Chong M., et al. Polygenic Contribution in Individuals With Early-Onset Coronary Artery Disease. *Circ Genom Precis Med*. 2018, V. 11(1): e001849.
30. Taylor M.K., Beckerley S.E., Henniger N.E., et al. A genetic risk factor for major depression and suicidal ideation is mitigated by physical activity. *Psychiatry Res*. 2017, 249: 304-306.
31. Ni J., Zhang L., Zhou T., et al. Association between the MTHFR C677T polymorphism, blood folate and vitamin B12 deficiency, and elevated serum total homocysteine in healthy individuals in Yunnan Province, China. *J Chin Med Assoc*. 2017, 80 (3): 147-153.
32. Liew S.C., Gupta E.D. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur J Med Genet*. 2015, 58 (1): 1-10.
33. Qin X., Spence J.D., Li J., et al. Interaction of serum vitamin B12 and folate with MTHFR genotypes on risk of ischemic stroke. *Neurology*. 2020, Jan 13. pii: 10.1212/WNL.0000000000008932.
34. Cai X., Lian F., Kong Y., et al. Carotenoid metabolic (BCO1) polymorphisms and personal behaviors modify the risk of coronary atherosclerosis: a nested case-control study in Han Chinese with dyslipidaemia (2013-2016). *Asia Pac J Clin Nutr*. 2019, 28 (1): 192-202.

**СВЕТЛАНА КЛИМЕНТЬЕВНА КЛЮЕВА (1931-2005). IN MEMORIAM**

Мхеидзе М.О.

*Академия постдипломного педагогического образования, РФ, Санкт-Петербург*

**SVETLANA KLIMENT'EVNA KLYUEVA (1931-2005). IN MEMORIAM**

Mkheidze M.O.

*Academy of postgraduate pedagogical education, Russia, St. Petersburg*

E-mail: [vamkh@yandex.ru](mailto:vamkh@yandex.ru)

15 лет назад не стало чудесного человека, Светланы Климентьевны Ключевой, профессора, доктора медицинских наук, основателя кафедры медицинской генетики СПбМАПО, преподавателя высочайших профессиональных качеств, медицинского генетика широкой эрудиции, безгранично преданного Рыцаря Ее Величества Генетики.

Ленинград, Санкт-Петербург, генетика, Светлана Климентьевна Ключева – неразделимая цепь слов, наполненных глубочайшим смыслом.

В 60-ые – 70-ые годы, когда невозможно было даже мечтать о создании кафедр медицинской генетики, Светлана Климентьевна Ключева настойчиво внедряла в головы заведующих кафедрами линейных институтов и институтов усовершенствования врачей мысль о необходимости знаний основ генетики человека и медицинской генетики для успешного движения вперед в любой области медицины, боролась за возможность преподавания этих знаний врачам-слушателям ЛенГИДУВа.

Светлана Климентьевна Ключева, невысокого роста, хрупкая, обаятельная, в течение нескольких десятилетий была трибуном, активным популяризатором, глашатаем идей и знаний, за которыми стоят великие имена Г. Менделя, Т. Моргана, Ф. Крика, Д. Уотсона, Ю.А. Филипченко, Н.К. Кольцова, Н.И. Вавилова, В.П. Эфроимсона, М.Е. Лобашева, С.Н. Давиденкова и многих других.

По окончании Саратовского медицинского института в 1954 году С.К. Ключева работала ассистентом кафедры патологической физиологии Читинского медицинского института до 1961 года. С 1962 по 1966 годы Светлана Климентьевна была научным сотрудником филиала № 3 Института биофизики АМН СССР, где, проводя медицинские исследования в области прикладной химии, подготовила кандидатскую диссертацию на тему «Влияние резко континентального климата Забайкалья на гематологические показатели здоровых людей», которую успешно защитила в ЛенГИДУВе в 1964 году.

В период 1967-1984 годов С.К. Ключева – научный сотрудник «Проблемной научно-исследовательской лаборатории по изучению генетических факторов при атеросклерозе и ишемической болезни сердца» ЛенГИДУВа, возглавляемой профессором Б.В. Ильинским. Под его руководством Светлана Климентьевна одна из первых в нашей стране и в мировой

медицинской практике стала разрабатывать проблемы генетической обусловленности заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Осознавая недостаточность своих знаний в области генетики человека, для успешного выполнения научно-исследовательской работы Светлана Климентьевна Ключева прошла полный курс обучения на кафедре генетики Ленинградского государственного университета.

С.К. Ключева успешно защитила диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук на тему «Состояние свертывающей системы крови и показателей липидного обмена при клинико-генетическом обследовании больных ишемической болезнью сердца» (13.11.1973, ЛенГИДУВ). В осуществленном исследовании Светлана Климентьевна впервые установила роль генетических факторов в формировании атеросклероза и ишемической болезни сердца и доказала генетическую гетерогенность этих заболеваний. Ею был создан уникальный банк семей, включавший более 2000 пробандов, с разными по генетической сущности формами инфаркта миокарда, архив профессионально составленных родословных пробандов, при этом длительность наблюдения охватывала три и более поколений ближайших родственников. Своей исследовательской работой С.К. Ключева привела неоспоримые доказательства необходимости проведения профилактических мероприятий для практически здоровых детей и родственников больных ранними формами инфаркта миокарда. Она показала важность дальнейшего углубленного комплексного изучения сердечно-сосудистой патологии с использованием современных методов исследования и с привлечением к исследованию представителей разных медицинских специальностей: педиатров, семейных врачей, врачей-генетиков и др. Ею был создан уникальный архив, насчитывавший почти десять тысяч пар близнецов, родившихся в Ленинграде в период с 1945 по 1956 годы. Диссертационная работа С.К. Ключевой стимулировала разработку проблемы генетики атеросклероза и ишемической болезни сердца в ряде медицинских научно-исследовательских учреждений РСФСР: в НИИ кардиологии АМН СССР (проф. В. А. Кошечкин), в Новосибирском медицинском институте (проф. Ю. П. Никитин, проф. Г. Н. Верещагина, О. В. Лисиченко и др), в НИИ кардиологии Сибирского отделения АН СССР (проф. А. А. Дзизинский и В. П. Пузырев), в Саратовском медицинском институте (проф. С. А. Халфин), и в ряде республик Советского Союза (УзССР, ГрузССР, КазССР). Однако, несмотря на большую и значимую для практической медицины работу д.м.н. Ключевой С.К., исследования по генетике атеросклероза и ишемической болезни сердца в ЛенГИДУВе были прерваны: в ноябре 1982 г. постановлением Ученого совета ЛенГИДУВа было решено закрыть Проблемную научно-исследовательскую лабораторию «в связи с неактуальностью и исчерпанностью темы»!

С 1984 по 1988 годы Светлана Климентьевна – профессор кафедры клинической

биохимии и лабораторной диагностики ЛенГИДУВа. Именно в этот период профессор Ключева С.К. читает лекции по медицинской генетике на 38 кафедрах родного института, организует циклы лекций для заведующих клиническими кафедрами, приглашает в качестве лекторов высоко профессиональных генетиков, сотрудников кафедры генетики ЛГУ М.М. Тихомирову, Л.З. Кайданова, С.Г. Инге-Вечтомова и др.

Титаническая работа по распространению генетических знаний для представителей медицинской общественности и бескомпромиссная борьба за создание кафедры медицинской генетики увенчались успехом: в 1988 году был открыт курс медицинской генетики, а в 1989 году основана кафедра медицинской генетики ЛенГИДУВа, которую возглавила профессор, д.м.н. Светлана Климентьевна Ключева.

Создавая кафедру медицинской генетики, С.К. Ключева строго придерживалась своей концепции преподавания медицинской генетики, включавшей следующие положения. На кафедре медицинской генетики необходимо а) проводить обучение врачей для последующей работы по специальности врач-генетик, б) дать врачам различных специальностей базисные знания генетики человека и клинической генетики, которые будут использоваться ими в последующей практической деятельности, в) исходя из предыдущих двух положений, преподавание медицинской генетики на организуемой кафедре должны вести специалисты с медицинским образованием, г) каждый из основных разделов генетики человека и клинической генетики должен обеспечиваться преподавателем, уникальным знатоком определенных разделов программы, при сохранении возможности взаимозаменяемости в экстренных ситуациях. Для осуществления задуманной С.К. Ключевой модели кафедры медицинской генетики ей пришлось вести длительный и упорный поиск специалистов, соответствующих ее требованиям. К началу 1989 г коллектив кафедры сложился из специалистов, имеющих медицинское образование и достаточно большой жизненный опыт, последнее обстоятельство накладывало особый отпечаток на характер руководства таким коллективом. Следует заметить, что у одних сотрудников не было достаточного опыта в преподавательской деятельности, а у других были достаточно скромные знания в области медицинской генетики. Светлана Климентьевна смогла сплотить вокруг себя сотрудников кафедры, своим примером постоянного совершенствования преподавания и поиском новой информации в области генетики человека она стимулировала сотрудников кафедры к профессиональному росту.

Важно помнить, что создание кафедры медицинской генетики ЛенГИДУВа происходило в период тяжелейших политико-экономических изменений в стране, следствием чего явилось отсутствие государственного финансирования образования и здравоохранения в необходимом объеме. Успешное преподавание медицинской генетики на современном

уровне предполагает наличие на кафедре оборудования для освоения цитогенетических, биохимических и молекулярно-генетических методов обследования пациентов. Отсутствие такого оборудования неблагоприятно отражается на педагогическом процессе.

У тысяч врачей в нашей стране знания основ медицинской генетики связаны с именем профессора С.К. Ключевой. Светлана Климентьевна с особой тщательностью и волнением готовилась к лекциям по молекулярной генетике, отдавая себе отчет в том, сколь труден этот раздел для восприятия врачами различных специальностей. Многие отечественные специалисты в области молекулярной генетики прошли циклы усовершенствования, клиническую интернатуру и ординатуру на кафедре, возглавляемой профессором С.К. Ключевой, что послужило хорошим стартом к их последующему карьерному росту.

Профессор Ключева С.К. внесла большой вклад в развитие и внедрение в практическое здравоохранение программ медико-генетической помощи населению Санкт-Петербурга и Ленинградской области, Екатеринбургa, Омска, Тольятти и многих других регионов России.

С.К. Ключева – автор более 250 публикаций, в том числе трех монографий: «Генетические факторы при ишемической болезни сердца» (в соавторстве с Б.В. Ильинским, 1978), «Ишемическая болезнь сердца и наследственность» (в соавторстве с Б.В. Ильинским, 1985), а также раздел в руководстве «Ишемическая болезнь сердца» под редакцией профессора И.Е. Ганелиной (1982) и глава «Наследственные болезни» в руководстве «Общая врачебная практика» (1996). Эти работы и до настоящего времени представляют большой научный и практический интерес для специалистов. С.К. Ключеву с полным правом можно назвать пионером в исследовании сложнейшей проблемы роли генетических факторов при мультифакторных заболеваниях.

Большое внимание профессор Ключева С.К. уделяла методической работе в процессе образования врачей всех специальностей, в том числе и врачей-генетиков, ею опубликовано более десятка учебных пособий и методических руководств.

С 1997 года Ключева С.К. занимала должность профессора кафедры медицинской генетики СПбМАПО, передав руководство кафедрой известным специалистам-генетикам член-корр. РАН, профессору, д.б.н Томилину Н.В. (1944-2009), и затем – профессору, д.м.н. Шавловскому М.М. До последних дней жизни Светлана Климентьевна Ключева активно участвовала в работе кафедры, была ее мозгом и сердцем. Ее лекции всегда получали высокую оценку слушателей циклов усовершенствования. Она тщательно прорабатывала многочисленные диссертации, представленные ей на отзыв и оппонирование. Своим примером, преданностью избранному делу она воспитывала молодых сотрудников, клинических ординаторов и аспирантов кафедры медицинской генетики.



Профессор Светлана Климентьевна Ключева награждена медалью «Ветеран труда» и почетным знаком «Отличник здравоохранения».

Светлану Климентьевну Ключеву отличали величайшая интеллигентность, исключительные порядочность и искренность в общении с людьми независимо от их возраста и занимаемого положения, доброжелательное отношение к собеседнику.

С.К. Ключева была благодарной ученицей и никогда не забывала своего дальновидного и щедрого на идеи Учителя, Бориса Вячеславовича Ильинского (1898-1994). Его портрет занимал почетное место в ее кабинете на кафедре медицинской генетики СПбМАПО

Светлана Климентьевна Ключева, профессор, доктор медицинских наук, всей своей жизнью и цельностью натуры делала честь нашему великому городу, Ленинграду-Санкт-Петербургу.

Светлый образ Светланы Климентьевны Ключевой навсегда сохранится в сердцах всех, кому посчастливилось общаться с этим умным, талантливым и красивым человеком.

**ДИАГНОСТИКА И ТЕРАПИЯ ЭПИЛЕПТИФОРМНЫХ СОСТОЯНИЙ  
МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА – АЛГОРИТМ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ  
«ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭПИЛЕПСИИ»**

Поздеев В.К.

*ФГБУ НИИ Гриппа им. А.А. Смородиной Минздрава России, Санкт-Петербург*

**DIAGNOSIS AND TREATMENT OF EPILEPTIFORM CONDITIONS OF METABOLIC  
ETIOLOGY – THE ALGORITHM TO PREVENT DRUG-RESISTANT EPILEPSY**

Pozdeev V.K.

*The Research Institute of Influenza, St. Petersburg*

E-mail: vkpozdeev@mail.ru

Отсутствие патогенетически обоснованной терапии эпилептиформных состояний, способ лечения методом «проб и ошибок» на базе среднестатистических эмпирических исследований (привязанных только к клиническим проявлениям), в основном, гепатотоксичными блокаторами ионных каналов приводит к так называемой «фармакорезистентной эпилепсии» [6, 23, 28, 32]. Так, в случае проблем в митохондриях (в дыхательной цепи, при дефиците пируватдегидрогеназы, дефектах кетогенеза и кетолизиса), назначение вальпроатов и карбамазепина активирует эпилептогенез, приводит к дополнительной инвалидизации и нередко – к фатальному исходу [10, 17, 38, 46]. Такая же ситуация наблюдается, когда нарушен катаболизм глицина, пролина, рециклинг метаболизма витамина В<sub>6</sub>, синтез ГАМК и таурина, при дефиците антиквитина ( $\alpha$ -аминоадипиновой-семиальдегид-дегидрогеназы) и пиридоксин-5'-фосфат оксидазы, дефекте транспортера GLUT1, при каналопатиях [4, 12, 15, 16, 20, 29, 31, 34]. В этих случаях вместо блокирования ионных каналов следует активировать их функцию, обеспечивая нейроны энергией и элементами структуры [2, 3, 5, 10-17, 19, 21,22, 27, 31-33, 36-43, 45-47].

От 40 до 70 % случаев эпилепсии вызваны метаболическими и генетическим дефектами, требующими современной диагностики, с последующей патогенетически обоснованной персонализированной терапией [10, 17, 28, 32, 36, 39]. Энергетическое обеспечение нейронов взрослого человека в значительной степени происходит за счет глюкозы, которая в цитоплазме преобразуется в пируват, последний транспортируется в митохондрии, где декарбоксилируется пируватдегидрогеназой с образованием ацетил-КоА, встраивающегося в цитратный цикл с образованием АТФ. У ряда пациентов не работает пируватдегидрогеназа, развивается тяжелейший дефицит энергии и эпилептиформный синдром (в частности, синдром Лея, вальпроаты для этих пациентов – приговор) [10-17, 43, 44, 46]. У этих больных вместо ацетил-КоА образуется много молочной кислоты, формируется лактат-ацидоз. Их можно вылечить, обеспечив ЦНС энергией ( $\beta$ -оксибутиратом и ацетоацетатом – кетоновыми телами) с помощью кетогенной диеты, предупредив развитие лактат-ацидоза [11-17, 19, 21, 24,27, 33, 34, 38, 40, 49]. Мозг новорожденных и детей

до 10-12-летнего возраста в основном получает энергию за счет кетоновых тел (глюкоза основным источником энергии становится по мере взросления), но при нарушении кетогенеза (синтеза кетоновых тел), кетолизиса (окисления кетоновых тел клетками ЦНС и периферических тканей) также активируется эпилептогенез. В этих случаях ребенка спасает отнятие его от грудного материнского молока (содержащего жирные кислоты) и специальные диеты после сложной метаболической диагностики. Кетогенная терапия успешно используется: при дефиците транспортера глюкозы GLUT1, который ответственен за проницаемость ГЭБ для глюкозы и аскорбиновой кислоты в ЦНС [12, 17, 34]; необходима при дефиците пируватдегидрогеназы (один из ее основных генов локализован на X-хромосоме, наследуется по сцепленному с полом механизму, то есть по женской линии), когда клетки утрачивают способность конвертировать пируват в ацетил-КоА (который включается в цитратный цикл, где окисляется с образованием АТФ). Кетогенная диета полезна при ожирении, диабете 2-го типа, болезнях Паркинсона и Альцгеймера, боковом амиотрофическом склерозе, рассеянном склерозе, инсультах, травмах и злокачественных опухолях головного мозга [4, 11-13, 17, 22, 27, 33, 40], но противопоказана при нарушениях функции печени и почек, когда эти органы не способны катаболизировать и удалять из организма продукты распада белков и жиров, предупреждать чрезмерный подъем кетоновых тел (иначе КД может вызвать обострение болезни). Классическая кетогенная диета противопоказана при ряде дефектов жирового обмена – при нарушении транспорта жирных кислот в митохондрии (недостаточности карнитинпальмитоилтрансферазы-I и II, карнитин-ацилкарнитин транслоказы), при дефектах кетогенеза и кетолизиса: при дефиците ацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот с очень длинной, средней и короткой длиной углеродной цепи; при дефиците  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА-синтетазы и  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА-лиазы, когда нарушается кетогенез и катаболизм лейцина [10-17, 27, 26, 33, 35]. Кетогенная диета противопоказана при дефиците ацетоацетил-КоА-тиолазы, осуществляющей расщепление ацетоацетил-КоА до двух молекул ацетил-КоА, которые затем окисляются в цикле трикарбоновых кислот (фермент необходим на последнем этапе кетолизиса и катаболизма изолейцина). При дефиците сукцинил-КоА-ацетоацетил-трансферазы (отвечающей за превращение ацетоацетата в ацетоацетил-КоА), приводящем к тяжелому кетоацитозу, кетогенная диета категорически противопоказана [14, 22, 26, 27, 33, 40, 49].

Наряду с каналопатиями, ферментопатиями, дефектами функции печени, почек, поджелудочной железы, кишечника особое драматическое место занимает митохондриальная этиология эпилепсии, максимально представленная среди новорожденных, детей, подростков [1-5, 10, 17, 21, 24, 41, 43, 44, 47]. Патогенез митохондриальных заболеваний, обусловленных

дефектами дыхательной цепи, связан, в основном, с дефицитом ферментных комплексов, нарушением структурных и транспортных белков митохондрий. Это приводит к глубокому расстройству всей системы тканевого дыхания, накоплению недоокисленных продуктов метаболизма, лактат-ацидозу, нарушению процессов перекисного окисления липидов, дефициту карнитина, коэнзима Q10 [1-5, 10, 17-19, 24, 35, 43, 44, 49]. При митохондриальных дисфункциях лечебные мероприятия направлены на оптимизацию процессов биологического окисления и тканевого дыхания и коррекцию дефицита отдельных метаболитов. Этим пациентам противопоказаны антиконвульсанты с токсическими для митохондрий побочными эффектами, поскольку они могут вызвать тяжелые, иногда стремительные (смертельные) реакции, сделать эпилепсию фармакорезистентной [17, 23, 28, 32, 46]. Особой важности задача – своевременная диагностика метаболических и генетических дефектов в дородовой период и в первые дни жизни, когда в значительном проценте случаев возможно предупредить тяжелое развитие эпилептиформных состояний, сохранить жизнь, исключить инвалидизацию детей [1-5, 10-19, 22, 23, 25, 32, 38, 39-47].

Необходим скрининг всех новорожденных посредством определения основных биохимических маркеров, позволяющий установить этиологию и предупредить развитие патологических состояний: рН крови, кетоновых тел, пирувата и лактата, бикарбоната, ацил-карнитиновых эфиров и свободного карнитина, аномальных органических кислот в моче и крови, глюкозы в крови (и, при необходимости, в ЦСЖ), уровень витамина В<sub>6</sub> и таурина [1-5, 7, 11-17, 18, 21, 22, 30, 42, 48]. Затем, в случае необходимости, определение активности ферментов, отвечающих за физиологический уровень соответствующих метаболитов в различных тканях, включая лимфоциты и фибробласты, ДНК-диагностика [1, 3, 4, 10-17, 18, 19, 22, 25, 39, 42]. По результатам генеалогического анамнеза для раннего выявления групп риска целесообразна пренатальная ДНК-диагностика и определение активности ферментов культивированных амниоцитов. Прогноз большинства обсуждаемых эпилептиформных состояний может быть благоприятным при своевременном диагнозе и патогенетически обоснованной терапии [1, 4, 8, 9, 10-17, 22, 25, 37, 39, 41, 45, 46].

#### **Список литературы**

1. Барашнев Ю.И., Бахарев В.А., Новиков П.В. Диагностика и лечение врожденных и наследственных заболеваний у детей. – М.: Триада-Х, 2004, 550 с.
2. Большаков А.П. Глутаматная нейротоксичность: нарушения ионного гомеостаза, дисфункция митохондрий, изменение активности клеточных систем. *Нейрохимия* 2008, 25(3): 157-169.
3. Заваденко Н.Н., Холин А.А. Эпилепсия у детей с митохондриальными заболеваниями: особенности диагностики и лечения. *Эпилепсия* 2012, 2: 21-27.

4. Мухин К.Ю., Петрухин А.С. Идиопатические формы эпилепсии: систематика, диагностика, терапия. – М.: Арт-Бизнес-Центр, 2000, 319 с.
5. Новиков П.В., Новикова И.М., Николаева Е.А. и др. Эффективность комплексной терапии при разных формах митохондриальных заболеваний у детей. Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. 2009, 6: 26-30.
6. Поздеев В.К. Медиаторные процессы и эпилепсия. – Л.: Наука, 1983, 112 с.
7. (Поздеев В.К.) Pozdeev V.K. Neurochemical heterogeneity of the pathogenesis of epilepsy. *Acta neurologica Napoli (Italy)* 1985, 7(3-4): 186-190.
8. Поздеев В.К. Метаболическая терапия эпилепсии. Больному и его близким. – Псков: Стерх, 1995, 140 с.
9. Поздеев В.К. Нейрохимические основы метаболической терапии эпилепсии. *Российский нейрохирург. ж. им. проф. А.Л. Поленова* 2011, 3(спец. вып.): 97 – 101.
10. Поздеев В.К. Терапия эпилептиформных состояний, предусматривающая физиологическое функционирование нейрональных систем ЦНС (сообщение III – каналопатии, митохондриальные заболевания и патогенетическая терапия). *Психическое здоровье* 2017, 4: 81-101.
11. Поздеев В.К. Классическая кетогенная диета (и ее модификации) – терапия эпилептиформных состояний, вызванных некоторыми дефектами обмена углеводов и жиров. (Сообщение I. Механизмы действия кетогенной диеты). *Психическое здоровье* 2018, 1: 66-83. doi: 10.25557/2074-014X.2018.01.66-83.
12. Поздеев В.К. Классическая кетогенная диета (и ее модификации) – терапия эпилептиформных состояний, вызванных некоторыми дефектами обмена углеводов и жиров. Сообщение II. Применение кетогенной диеты при дефиците транспортера глюкозы GLUT1 в ЦНС и пируватдегидрогеназы. *Психическое здоровье* 2018, 2: 63-84. doi: 10.25557/2074-014X.2018.02.63-84.
13. Поздеев В.К. Классическая кетогенная диета (и ее модификации) – терапия эпилептиформных состояний, вызванных некоторыми дефектами обмена углеводов и жиров. Сообщение III. Метаболическая терапия эпилептиформных синдромов среднепочечными жирными кислотами. *Психическое здоровье* 2018, 3: 53–67. doi: 10.25557/2074-014X.2018.03.53-67.
14. Поздеев В.К. Классическая кетогенная диета (и ее модификации) – терапия эпилептиформных состояний, вызванных некоторыми дефектами обмена углеводов и жиров. Сообщение IV. Противопоказания применения кетогенной диеты. *Психическое здоровье* 2018, 4: 79-99. doi: 10.25557/2074-014X.2018.04.79-99.

15. Поздеев В.К. Пиридоксин-зависимая и пиридоксаль-5'-фосфат-зависимая эпилепсия (сообщение I, метаболизм витамина В6, гиповитаминоз, гипервитаминоз, клинические проявления его дефицита и терапия, гипергомоцистеинемия). Психическое здоровье 2018, 11: 48-80. doi: 10.25557/2074-014X.2018.11.48-80.
16. Поздеев В.К. Пиридоксин-зависимая и пиридоксаль-5'-фосфат-зависимая эпилепсия (сообщение II, гетерогенность этиологии и патогенеза, клинические проявления, диагноз, терапевтические схемы, таурин-зависимая и ГАМК-зависимая эпилепсия). Психическое здоровье 2018, 12: 41-74. doi: 10.25557/2074-014X.2018.12.41-74.
17. Поздеев В.К., Поздеев Н.В. Метаболическая терапия эпилепсии. Больному, его близким, эпилептологам – СПб.: Реноме, 2019, 632 с.
18. Темин П.А., Казанцева Л.З. Наследственные нарушения нервно-психического развития детей. – М.: Медицина, 2001, 371 с.
19. Яхно Н.Н., Краснопольская К.Д., Жученко Т.Д. и др. Синдром MERRF (митохондриальная энцефалопатия с «рваными красными волокнами»). Неврол журн 2000, 4: 23-29.
20. Alfred L., George Jr. Inherited Channelopathies Associated with Epilepsy. Epilepsy Curr 2004, 4 (2): 65-70.
21. Alijanpour M., Sasai H., Abdelkreem E. et al. Beta-ketothiolase deficiency: A case with unusual presentation of nonketotic hypoglycemic episodes due to coexistent probable secondary carnitine deficiency. JIMD Reports 2019, 46(1): 23-27. 10.1002/jmd2.12022.
22. Angelini C, Pennisi E, Missaglia S, Taviani D. Metabolic lipid muscle disorders: biomarkers and treatment. Ther Adv Neurol Disord 2019,12:1756286419843359. doi:10.1177/1756286419843359.
23. Berkovic S.F. Treatment with anti-epileptic drugs. Aust Fam Physician 2005, 34: 1017-1020.
24. Bindoff L.A. Mitochondrial function and pathology in status epilepticus. Epilepsia 2011, 52: (8): 6-7.
25. Boneh A., Andresen B.S., Gregersen N. VLCAD deficiency: pitfalls in newborn screening and confirmation of diagnosis by mutation analysis. Mol Genet Metab 2006, 88:166-170.
26. Gasior M., Rogawski M.A., Hartman A.L. Neuroprotective and disease-modifying effects of the ketogenic diet. Behav Pharmacol 2006, 17(5-6): 431-439.
27. Hartman A.L., Vining E.P. Clinical aspects of the ketogenic diet. Epilepsia 2007, 48 (1): 31-42.
28. Heron S.E., Scheffer I.E., Berkovic S.F. et al. Channelopathies in idiopathic epilepsy. Neurotherapeutics 2007, 4(2): 295-304.

29. Hille B. Ionic channels of excitable membranes. (3rd ed.). Sunderland, MA: Sinauer, 2001, 814 p.
30. Huxtable R.J. Physiological action of taurine. *Physiol Rev* 1992, 72: 101-163.
31. Kurian M., Picard F. Inherited epilepsy syndromes and channelopathies. *Epileptologie* 2006, 75-85.
32. Kwan P., Brodie M.J. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med* 2000, 342: 314-319.
33. Laforêt P., Vianey-Saban C. Disorders of muscle lipid metabolism: diagnostic and therapeutic challenges. *Neuromuscul Disord* 2010, 20(11): 693-700. doi: 10.1016/j.nmd.2010.06.018.
34. Leen W.G., Klepper J., Verbeek M.M. et al. Glucose transporter-1 deficiency syndrome: the expanding clinical and genetic spectrum of a treatable disorder. *Brain* 2010, 133: 655-670.
35. Longo, N, Frigeni, M, Pasquali, M. Carnitine transport and fatty acid oxidation. *Biochim Biophys Acta* 2016, 1863: 2422-2435.
36. 271. Lossin C., Wang D.W., Rhodes T.H. et al. Molecular basis of an inherited epilepsy. *Neuron* 2002, 34: 877-884.
37. Miladinovic T., Nashed M.G., Singh G. Overview of Glutamatergic Dysregulation in Central Pathologies. *Biomolecules* 2015, 5 (4): 3112-3141.
38. Nei M., Bagla R. Seizure-related injury and death. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2007, 7: 335-341.
39. Ottman R. Analysis of genetically complex epilepsies. *Epilepsia* 2005, 46 (10): 7-14.
40. Paoli A., Bianco A., Damiani E., Bosco G. Ketogenic diet in neuromuscular and neurodegenerative diseases. *Biomed Res Int* 2014, 2014: 1-10.
41. Rhodes T.H., Vanoye C.G., Ohmori I. et al. Sodium channel dysfunction in intractable childhood epilepsy with generalized tonic-clonic seizures. *J Physiol* 2005, 569 (2): 433-445.
42. Rogawski M.A., Löscher W. The neurobiology of antiepileptic drugs. *Nat Rev Neurosci* 2004, 5 (7): 553-564.
43. Scheffer I.E., Zhang Y.H., Jansen F.E., Dibbens L. Dravet syndrome or genetic (generalized) epilepsy with febrile seizures plus? *Brain Dev* 2009, 31 (5): 394-400.
44. Schiff M., Mine M., Brivet M. et al. Leigh's disease due to a new mutation in PDHX gene. *Ann Neurol* 2006, 59(4): 709-714. DOI:10.1002/ana.20818.
45. Shorvon S.D. Drug treatment of epilepsy in the century of the ILAE: the second 50 years, 1959-2009. *Epilepsia* 2009, 50(3): 93-130.
46. Tsuyusaki Y., Shimbo H., Wada T. et al. Paradoxical increase in seizure frequency with valproate in nonketotic hyperglycinemia. *Brain Dev* 2012, 34: 72-75.

47. Wolf N.I., Bast T., Surtees R. Epilepsy in inborn errors of metabolism. *UK Epileptic Disord* 2005, 7(2): 67-81.
48. Wright C.E., Tallan H.H., Lin Y.Y. Taurine: biological update. *Ann Rev Biochem* 1986, 55: 427-453.
49. Zammit V.A., Ramsay R.R., Bonomini M., Arduini A. Carnitine, mitochondrial function and therapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2009, 61:1353-1362.



## ОТ РУТИННОЙ ОКРАСКИ ХРОМОСОМ ЧЕРЕЗ ПЭЙНТИНГ К КАРИОМЭПИНГУ

Рубцов Н.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск; <sup>2</sup>Новосибирский Государственный университет, Новосибирск

## FROM ROUTINE CHROMOSOME STAINING THROUGH PAINTING TO KARYOMAPPING

Rubtsov N.B.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, Novosibirsk; <sup>2</sup>Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia  
E-mail: rubt@bionet.nsc.ru

### Возникновение и эволюция методов цитогенетического анализа

Цитогенетика человека началась с препаратов метафазных хромосом, анализа морфологии хромосом и их дифференциального окрашивания, что до настоящего времени широко используется при проведении первых этапов хромосомной диагностики. Однако, уровень разрешения и надежность методов, основанных на анализе морфологии и паттернов дифференциального окрашивания хромосом, вскоре перестал удовлетворять возросшие требования медицинской диагностики. Введение в практику хромосомной диагностики методов флуоресцентной гибридизации нуклеиновых кислот *in situ* (FISH) и их совершенствование позволило принципиально повысить ее разрешение, чувствительность и надежность. Широкое использование нашло как применение огромного набора ДНК-проб, так и создание ДНК-проб из аномальных хромосом с последующей обратной FISH.

Дальнейшее развитие методов FISH позволило проводить цитогенетическую диагностику без использования препаратов метафазных хромосом. Методы интерфазной цитогенетики, позволяют определять число интересующих хромосом, хромосомных районов, выявлять конкретные структурные хромосомные перестройки. Значимым прорывом явилась сравнительная геномная гибридизация, позволяющая выявлять нарушение баланса хромосом и хромосомных районов [1], а ее проведение на микрочипах позволило значительно снизить трудоёмкость, повысить чувствительность и разрешающую способность [2]. Последующий прогресс позволил перейти на диагностику, основанную на кариотипировании индивидуальных интерфазных клеток, используя как массовое параллельное секвенирование, так и такие технологии как karyomapping, основанный на анализе гаплотипов однонуклеотидных замен в хромосомных районах, покрывающих большую часть генома [3]. Стоит отметить, что karyomapping предоставляет возможность совмещения анализа хромосомных аномалий и наследования конкретных мутаций.

## **Цитогенетика от тестирования ооцитов до постмортального анализа**

Задачи и подходы при проведении цитогенетического тестирования и диагностики на разных стадиях онтогенеза значительно отличаются. Рассмотрим следующие их варианты: 1 – тестирование ооцитов; 2 – предимплантационная цитогенетика (PGD, PGS, PGT); 3 – пренатальная диагностика; 4 – постнатальная цитогенетическая диагностика, включая цитогенетику репродуктивного периода; 5 – онкоцитогенетика; 6 – постмортальная цитогенетика. Отличия в задачах и доступности материала для проведения исследования при разных типах цитогенетической диагностики определили значительные различия в применении конкретных методов.

Если задачей анализа ооцитов и преимплантационного тестирования является рождение здорового ребенка, и результат достигается за счет выбора ооцита или эмбриона с нормальным кариотипом и отсутствием детектируемых мутаций, то при пренатальной диагностике основной задачей является описание кариотипа плода и определение возможности развития патологий при выявлении у него хромосомных аномалий. Отдельной и не простой задачей оказывается объяснение родителям возможных последствий рождения ребенка с выявленными хромосомными аномалиями. Наибольшие проблемы возникают при выявлении в кариотипе плода малых сверхчисленных маркерных хромосом и вариаций числа копий конкретных участков генома.

Постнатальная диагностика направлена на поиск причин нарушения нормального развития, а в репродуктивном периоде – также на поиск причин бесплодия и выбор инструментария для решения задач, возникающих при использовании родовспомогательных технологий. Цитогенетическая диагностика, являющаяся нередко необходимым элементом при уточнении диагноза в случае онкологических заболеваний, а также при определении эффективности проводимой терапии, часто сталкивается с проблемой дифференцировки клинически значимых и просто сопутствующих хромосомных аномалий.

В ряду исследований хромосомных аномалий человека несколько отдельно стоят постмортальные исследования, которые уже никак не помогут помочь бывшему пациенту, но могут иметь огромное значение для интерпретации результатов цитогенетической диагностики, полученных при обследовании других пациентов.

### **Детекция анеуплоидии и мозаицизма**

Введение в широкую практику родовспомогательных технологий остро поставило вопрос о проведении хромосомного анализ еще до имплантации эмбриона. Исследования в этой области неожиданно выявили очень высокая частота анеуплоидов и мозаиков. В некоторых исследования она достигала 90 %. Полученные результаты и проведение специальных исследований показали бессмысленность оценки кариотипа эмбриона

по одному бластомеру, как это делали достаточно продолжительное время, извлекая его из эмбриона на стадии 8-ми бластомер и анализируя число копий 13-ой, 18-ой, 21-ой, X и Y хромосом. Выбор этих хромосом был обусловлен возможностью рождение живого ребенка при нарушенном числе их копий. К сожалению, возможны анеуплоидии и мозаицизм и по другим хромосомам [4, 5]. Проведение надежного предимплантационного тестирования стало возможно благодаря витрификации и разработке методов из серии Comprehensive Chromosome Screening (CCS), обеспечивающих проведение надежного кариотипирования индивидуальных интерфазных клеток. При этом, как уже упоминалось выше, при использовании технологии karyomapping возможен одновременный анализ хромосомного состава клеток эмбриона и определения наследования интересующих мутаций. Рандомизированные контролируемые испытания показали эффективность проведения такой диагностики и увеличение процента успешных беременностей.

Проведение цитогенетической диагностики на более поздних стадиях сталкивается с меньшими проблемами, благодаря более доступному материалу и возможности применения более широкого спектра методов. Особенности проведения такой диагностики требует специального рассмотрения.

### **Заключение**

Стремительно развитие медицинской цитогенетики в последние годы обеспечило возможность проведения детального описания хромосомных аномалий на всех стадиях онтогенеза. В то же время оптимальная стратегия хромосомного анализа в большинстве случаев и сегодня включает анализ дифференциально окрашенных метафазных хромосом пациента.

### **Список литературы**

1. Kallioniemi A et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumours. *Science* 1992, 258:818–821.
2. Solinas-Toldo S, Lampel S et al.. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 1997, 20: 399–407.
3. Handyside AH. PGD and aneuploidy screening for 24 chromosomes by genome-wide SNP analysis: seeing the wood and the trees. *Reprod Biomed Online* 2011, 23: 686-691.
4. Evsikov S, Verlinsky Y. Mosaicism in the inner cell mass of human blastocysts. *Hum Reprod* 1998, 13: 3151-3155.
5. Mertzaniidou A et al. Evolution of aneuploidy up to Day 4 of human preimplantation development. *Hum Reprod.* 2013, 28: 1716-1724.

# ТЕЗИСЫ

## **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПОЛИМОРФИЗМА rs1173771, АССОЦИИРОВАННОГО С РАЗВИТИЕМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ (in silico анализ)**

Абрамова М. Ю.

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет*

## **FUNCTIONAL EFFECTS OF rs1173771 POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF HYPERTENSION (in silico analysis)**

Abramova M. Yu.

*Belgorod State National Research University*

E-mail: abramova\_myu@bsu.edu.ru

Артериальная гипертензия (АГ) представляет собой важную медико-социальную проблему, поскольку является самым распространенным заболеванием во всем мире. Повышение уровня артериального давления сопряжено с увеличением риска развития неблагоприятных исходов: ишемическая болезнь сердца, почечная недостаточность, геморрагический и ишемический инсульты. Патология сердечно-сосудистой системы является ведущей причиной инвалидизации и смертности в России. Установлено большое число факторов, предрасполагающих к развитию АГ, одним из которых является наследственная предрасположенность. На данный момент выявлено достаточное количество генов, вовлеченных в процесс формирования АГ, однако биологические эффекты, которые они оказывают, изучены в незначительной степени.

**Цель исследования:** Оценить функциональные эффекты значимого для АГ полиморфного локуса rs1173771 по данным каталога полногеномных исследований (GWAS), National Human Genome Research Institute.

**Материалы и методы:** Полиморфный локус для исследования был отобран по каталогу GWAS. Наличие однонуклеотидных вариантов последовательностей ДНК (SNV), находящихся с ним в неравновесии по сцеплению ( $r^2 \geq 0,8$ ), установлено при помощи программы HaploReg (v4.1). Оценка регуляторного потенциала была произведена с использованием онлайн программного обеспечения HaploReg (v4.1) и GTExportal.

**Результаты и обсуждение:** На данный момент известны 382 однонуклеотидных вариантов последовательностей ДНК, ассоциированных с АГ, по данным GWAS. Полиморфный локус rs1173771 показал значимую ассоциацию с АГ в 7 полногеномных исследованиях, 6 из которых проведены у лиц европеоидного происхождения. Данный SNV также является GWAS значимым для индекса массы тела (ИМТ) и роста.

Автором установлено, что полиморфизм rs1173771 находится в регионе гиперчувствительности к ДНКазе и в области гистонов, маркирующих энхансеры в 6 тканях. Данный SNV находится в регионах ДНК, взаимодействующих с 5 регуляторными белками: ERALPHA\_A, CJUN, JUND, GATA3, P300 и расположен в регионе регуляторного мотива ДНК к фактору транскрипции Pou1f1. SNV rs1173771 статистически значимо ассоциирован с экспрессией гена NPR3 в тканях легких ( $p = 10^{-15}$ ), большеберцового нерва ( $p = 10^{-41}$ ) и надпочечников ( $p = 10^{-7}$ ). Определены 12 SNV, находящихся с ним в неравновесии по сцеплению ( $r^2 \geq 0,8$ ), которые также имеют значимый регуляторный потенциал (3 SNV находятся в регионе гиперчувствительности к ДНКазе, 5 SNV расположены в области гистонов, маркирующих энхансеры, и 3 SNV – в области гистонов, маркирующих промоторы. Один SNV находится в регионах ДНК, взаимодействующих с 11 регуляторными белками: CJUN, GTF2F1, JUND, TBP, MAX, P300 и др., и 9 SNV расположены в регионах регуляторных мотивов ДНК к факторам транскрипции GR, NRYA, Hoxd10, NFIC, YY1 и др.). Данные SNV значимо ассоциированы также с экспрессией гена NPR3 в культуре клеток фибробластов и в тканях легких, большеберцового нерва и надпочечников.

Таким образом, полиморфный локус rs1173771 имеет значимую функциональную роль в организме человека: он расположен в регионе гиперчувствительности к ДНКазе, в области гистонов, маркирующих энхансеры в 6 тканях, в регионах ДНК, взаимодействующих с 5 регуляторными белками и регионе регуляторного мотива ДНК к фактору транскрипции Pou1f1 и ассоциирован с экспрессией гена NPR3. Значимые функциональные эффекты имеют также 10 SNV, сильно сцепленные с ним ( $r^2 \geq 0,8$ ).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ БЕЛКОВ РЕПАРАЦИИ ДНК И ДОЛГОЖИТЕЛЬНОСТЬ

Бабушкина Н.П., Постригань А.Е., Кучер А.Н.

*Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук*

### POLYMORPHISM OF DNA REPAIR PROTEINS GENES AND LONGEVITY

Babushkina N.P., Postrigan A.E., Kucher A.N.

*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC, Tomsk*

E-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru

Гены белков систем репарации ДНК представляют собой новую группу генов-кандидатов широко-распространенных заболеваний; наиболее изучены при онкопатологии, чувствительности к радиации и химическим веществам.

**Цель исследования:** анализ полиморфизма 8 SNP в шести генах белков репарации ДНК в разных возрастных когортах населения Томска, и их ассоциаций с несколькими многофакторными заболеваниями.

**Материал и методы:** Изучены 1232 образца ДНК: популяционная выборка Томска (К, n=386), долгожители (Гер, лица старше 90 лет, n=131), группы больных с различными патологиями (туберкулез легких (ТБ, n=168), аллергическая бронхиальная астма (БА, n=161) и смешанная бронхиальная астма в сочетании с артериальной гипертензией (БА\_АГ, n=191), ишемическая болезнь сердца (ИБС, n=180), аутопсийный материал больных, умерших от сердечно-сосудистых заболеваний в возрасте до 55 лет (Аут-ИБС, n=59). Более 95 % обследованных лиц являлись русскими, для всех случаев получено информированное согласие. Генотипирование проводили методом SNaPshot-анализа на платформе ABI Genetic Analyzer 3730 на базе ЦКП «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики. Статистическую обработку данных проводили с использованием общепринятых методов.

**Результаты и обсуждение:** Группа долгожителей (средний возраст 92 года) ни по одному из изученных маркеров не отличалась от популяционной выборки (средний возраст 47 лет), но статистически значимые различия были установлены при сравнении ее с выборками больных (БА, ИБС) по ряду SNP (rs1805800 в гене NBN, rs1189037 и rs1801516 в гене ATM, rs473297 в гене MRE11). В этом контексте более подробно рассмотрим результаты по маркерам генов NBN и ATM.

По частотам генотипов rs1805800 в гене NBN группа долгожителей статистически значимо отличается от группы больных БА ( $p = 0.011$ ), причем главным образом за счет перераспределения частот генотипов CC (разница составляет 16 %,  $p = 0.011$ ) и CT (18.4 %,  $p = 0.005$ ). В группе больных БА генотип CT обнаруживается с наибольшей частотой (60 %) среди всех сравниваемых групп, и он обладает рисковым эффектом для развития БА (OR=1.66

(95 % CI: 1.08-2.56),  $p = 0.02$ , по сравнению с популяционной выборкой. Частоты гомозиготных генотипов в группе долгожителей регистрируются незначительно чаще (СС – на 3.8 %, ТТ – на 2 %), а гетерозиготы – на 5.8 % реже (различия статистически не значимы), чем в популяционной выборке.

В гене АТМ изучены 2 SNP, по которым зарегистрированы статистически значимые различия по частотам аллелей и генотипов между группой долгожителей и двумя патологиями – БА (rs189037) и ИБС (rs1801516). Частота аллеля А rs189037 в группе долгожителей на 15.3 % выше ( $p = 0.0004$ ), чем у больных БА. При этом генотип АА регистрируется у долгожителей значительно чаще, чем у больных БА (на 17.1 %,  $p = 0.003$ ), соответственно, частота генотипа GG значимо ниже (на 13.6 %,  $p = 0.009$ ), и гетерозиготного генотипа – незначительно (на 3.5 %). Частота аллеля G rs1801516 у долгожителей на 8 % ( $p = 0.01$ ) выше, чем у больных ИБС, эффект реализуется через гомозиготное носительство: по сравнению с больными ИБС у долгожителей частота генотипа GG выше (на 15.4 %,  $p = 0.006$ ), а генотипа GA – ниже (на 14.5 %,  $p = 0.008$ ). Различия между группами в частотах альтернативных гомозигот составляют меньше 1 %. По обоим изученным в гене АТМ маркерам гомозиготное носительство частого аллеля способствует долголетию, этот его эффект не значим при сравнении с популяционной выборкой, однако более выражен при сравнении с патологией.

Одной из причины различий по частоте регистрации аллелей и генотипов в возрастных когортах может являться «вымывание» каких-либо генотипов из популяции либо вследствие специфичности миграционных процессов, либо в результате селективной смертности. Выявление статистически значимых различий по генетическим параметрам между долгожителями и группами больных с многофакторной патологией может указывать на то, что данные патологии снижают не только качество, но и продолжительность жизни, способствуя изменению частот анализируемых генетических маркеров.

**Заключение:** полученные результаты указывают, что изученные SNP (rs1805800 в гене NBN, rs1189037 и rs1801516 в гене АТМ) могут быть вовлечены в детерминацию продолжительности жизни, опосредуя селективную выживаемости носителей разных генотипов среди больных сложно-наследуемыми заболеваниями, а в качестве одного из факторов естественного отбора может выступать аллергическая бронхиальная астма.

## **ИНТЕРПРЕТАЦИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ХРОМОСОМНЫХ МИКРОДУПЛИКАЦИЙ ПРИ НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ФОРМАХ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ**

Беляева Е.О.<sup>1\*</sup>, Назаренко Л.П.<sup>1,2</sup>, Лебедев И.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск*

<sup>2</sup> *Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск*

## **INTERPRETATION OF THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF CHROMOSOMAL MICRODUPLICATIONS IN UNDIFFERENTIATED FORMS OF INTELLECTUAL DISORDERS**

Belyaeva E.O.<sup>1</sup>, Nazarenko L.P.<sup>1,2</sup>, Lebedev I.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC,*

<sup>2</sup> *Siberian State Medical University, Tomsk, Russia*

\*E-mail: eo-belyaeva@mail.ru

Произошедший за последнее десятилетие прорыв в развитии технологий анализа генома человека инициировал возникновение нового пласта научных исследований, изменивших клиническую практику. Для заболеваний, широко распространенных в популяции и ведущих к социальной дезадаптации, таких как интеллектуальные расстройства, выявление новых генетических факторов их возникновения и разработка мер профилактики особенно актуальны. Объектом интенсивного изучения при использовании высокоразрешающих молекулярно-цитогенетических методов являются вариации числа копий участков ДНК (copy number variation, CNV), которые могут иметь как патогенное, так и неопределённое клиническое значение. Микроделециям с доказанной патогенетической значимостью уступают микродупликации, ввиду высокой вариабельности фенотипических проявлений и частого наследования от условно здоровых родителей. Установление возможного патогенного эффекта вариантов неизвестного значения, представленных в большинстве случаев микродупликациями, требует комплексной оценки и всестороннего анализа генетических и клинических характеристик идентифицированных aberrаций. Правильная интерпретация полученных данных крайне важна для определения генетического прогноза, возможности проведения пренатальной диагностики и предотвращения повторных случаев наследственного заболевания в семье.

**Цель исследования:** Оценить патогенетическое значение микродупликаций у пациентов с недифференцированными формами интеллектуальных расстройств, используя алгоритм интерпретации клинической значимости субмикроскопических aberrаций.

**Материалы и методы:** Молекулярное кариотипирование с использованием микрочипов SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8×60K (Agilent Technologies, США) проведено 445 пациентам детского возраста с недифференцированными формами интеллектуальных расстройств и дисморфиями / врождёнными аномалиями. Патогенетически



значимые aberrации подтверждены методом количественной ПЦР в реальном времени на приборе AriaMXReal-TimePCRSytem (Agilent Technologies, США), определено происхождение микродупликаций. Для интерпретации клинической значимости CNV использован алгоритм, включающий анализ размера, наследования, количества и функций затронутых генов, а также характеристику клинических особенностей пациентов с интеллектуальными нарушениями, привлечены данные биоинформационных ресурсов (DGV, OMIM, DECIPHER, PubMed). Исследование проведено на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ с использованием материалов биологической коллекции «Биобанк населения Северной Евразии».

**Результаты и обсуждение:** С помощью алгоритма интерпретации клинической значимости идентифицированные CNV (325 делеций и 190 дупликаций) классифицированы на полиморфные, патогенные и CNV с неопределённой клинической значимостью. Согласно Базе данных геномных вариантов (DGV), 105 выявленных нами микродупликации обнаруживаются в популяции с частотой более 1%, являясь полиморфными вариантами. 8 дупликаций определены как патогенные, так как ассоциированы с известными синдромами, зарегистрированными в каталоге наследственных болезней OMIM. Стоит отметить, что отсутствие синдромов, связанных с вновь выявленной CNV, не исключает ее потенциальной патогенности. Мы оценили следующие характеристики обнаруженных CNV: размер, генный состав области aberrации, происхождение хромосомной мутации. 46 % микродупликаций были унаследованы от матери, 27 % имели отцовское происхождение, 27 % возникли de novo. Унаследованные микродупликации имели размер до 1,5 м.п.н., а для более крупных перестроек характерно происхождение de novo. Использование биоинформационных ресурсов (DECIPHER, ISCA, ECARUCA, PubMed) позволило определить гено-фенотипические корреляции и выделить идентичные, зеркальные и уникальные фенотипы при реципрокных хромосомных микроперестройках. Таким образом, произведена комплексная оценка клинико-генетических характеристик вновь выявленных частичных трисомий, и установлена их потенциальная патогенетическая значимость.

**Заключение:** Клиническая интерпретация малоизученных микроструктурных хромосомных вариаций имеет существенное значение для улучшения качества медико-генетического консультирования семьи с целью диагностики и профилактики хромосомных болезней.

## **ЭПИСТАТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНА ФИЛАГГРИНА (FLG) И РАЗВИТИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИСТИННОЙ ЭКЗЕМЫ У МУЖЧИН**

Беляева Т.М.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород*

## **EPISTATIC INTERACTIONS OF THE POLYMORPHIC LOCI OF THE FILAGGRIN GENE (FLG) AND THE DEVELOPMENT OF CHRONIC TRUE ECZEMA IN MEN**

Belyaeva T.M.

*Belgorod National Research University, Belgorod, Russia*

E-mail: elykova\_a@bsu.edu.ru

Хроническая истинная экзема (ХИЭ) является незаразным, интенсивно зудящим, воспалительным, хроническим заболеванием кожи, возникающим в младенческом и детском возрасте в семьях с атопией в анамнезе. Это часто связано с повышенным уровнем иммуноглобулина Е (IgE) в сыворотке крови. Болезнь имеет сложную иммунологическую основу, обусловленную генетической предрасположенностью, а также определенными факторами окружающей среды, образа жизни и питания.

Последние тенденции свидетельствуют о постоянном росте распространенности ХИЭ в развитых странах и в странах, переживающих быструю урбанизацию и индустриализацию. Обширные исследования пролили свет на многогранный патогенез заболевания. Сложное взаимодействие между дефицитом кожного барьера, иммунологическими расстройствами и зудом способствует развитию, прогрессированию и хронизации заболевания. В настоящее время известно об участии и взаимозависимости эпидермального барьера и иммунного ответа в этиопатогенезе атопического дерматита.

Повышенная регуляция активности сериновой протеазы вызывает неблагоприятные структурные изменения рогового слоя из-за деградации определенных белков рогового слоя, которые являются неотъемлемой частью структуры и функций эпидермиса, интерференции с образованием межклеточной липидной мембраны рогового слоя, которая обычно регулирует поток и градиент воды эпидермиса, и индукцию паттерна воспаления TH2, который является отличительным признаком атопического дерматита. Изменение соотношения липидов и изменений в липид-направленных ферментах может играть роль в нарушении барьерных функций, связанных с атопическим дерматитом. Нарушение регуляции иммунитета, включая усиление структуры воспаления TH2, усиление аллергической сенсибилизации, воспаление при длительном заживлении ран и нарушение врожденного иммунитета.

**Цель исследования:** Изучить эпистатические взаимодействия полиморфных локусов гена филаггрина (FLG) и развитие хронической истинной экземы у мужчин.

**Материалы и методы:** Обследованы 113 больных мужчин с ХИЭ и 90 индивидуумов, не имеющих заболевания (контрольная группа) на базе консультативно – диагностического и стационарного отделений ОБУЗ «Курский областной кожно-венерологический диспансер» г. Курск. Комплексное клиническое обследование, включающее общеклинические и специальные методы исследования, проводилось всем пациентам. Генотипирование проводилось с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК в режиме реального времени, с использованием наборов реагентов для амплификации ДНК с соответствующими олигонуклеотидными праймерами и зондами для 7 изученных полиморфных локусов гена филаггрина (rs4363385, rs77199844, rs3126085, rs 4711445, rs 61816761, 558269137, rs 12144049). С помощью алгоритма APSampler обнаружены сочетания аллельных вариантов генов-кандидатов, использующего метод Монте-Карло марковских цепей и байесовскую непараметрическую статистику.

**Результаты:** В результате нашего исследования было установлено во-первых, что сочетание из двух вариантов А rs3126085 и WW rs77199844 обнаруживаются у больных ХИЭ (25.5 %) в 1.78 раза чаще по сравнению с контрольной группой (14.3 %). Во-вторых, сочетание из трех вариантов А rs3126085, А rs 61816761 и W rs77199844 обнаруживаются у больных ХИЭ (25.5 %) в 1.85 раза чаще по сравнению с контрольной группой (13.8 %). Такие сочетания являются фактором риска развития ХИЭ у мужчин ( $p_{perm} = 0.074$ , OR=2.13 и  $p_{perm} = 0.064$ , OR=2.05, соответственно).

**Заключение:** Таким образом, эпистатические взаимодействия полиморфных локусов гена филаггрина (rs77199844, rs3126085, rs 61816761) ассоциированы с развитием хронической истинной экземой у мужчин.

## МУТАЦИЯ p.Arg799Trp ГЕНА ERCC4 НЕ АССОЦИИРОВАНА С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Бермишева М.А.<sup>1\*</sup>, Гилязова И.Р.<sup>1</sup>, Зиннатуллина Г.Ф.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа*

<sup>2</sup>*Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа*

## ERCC4 MUTATION p.Arg799Trp DOES NOT ASSOCIATE WITH INCREASED BREAST CANCER RISK

Bermisheva M.A.<sup>1\*</sup>, Gilyazova I.R.<sup>1</sup>, Zinnatullina G.F.<sup>2</sup>, Khusnutdinova E.K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

<sup>2</sup>*Republic Clinical Oncological Center of Bashkortostan Republic, Ufa, Russia*

\*E-mail: marina\_berm@mail.ru

Методом NGS секвенирования у женщины с наследственным раком молочной железы (РМЖ) выявлена мутация с.2395 C>T (p.Arg799Trp) в гене ERCC4. Дополнительный анализ мутации в выборке больных РМЖ и контроля из Республики Башкортостан (РБ) показал, что вариант ERCC4\*p.Arg799Trp не ассоциирован с повышенным риском развития РМЖ.

**Материалы и методы:** Скрининг варианта ERCC4\*c.2395C>T проведен у 966 пациенток с РМЖ и 686 женщин контрольной группы. Забор материала для исследования проводился на базе ГБУЗ РКОД МЗ РБ Уфы и ГБУЗ РБКБ №1 Стерлитамака за период 2000 – 2014 гг. Возрастной диапазон пациенток с РМЖ составил 24-85 лет, среднее значение – 52.2 г. Около 10 % больных сообщили о случаях заболевания РМЖ или рака яичников (РЯ) в семье. Большинство женщин с РМЖ из нашей выборки (~ 90%) принадлежат к трем этническим группам – русские, татары и башкиры. Средний возраст женщин контрольной группы – 47 лет (18-84). От участников исследования было получено информированное добровольное согласие. ДНК выделена из венозной крови с применением протеиназы К методом фенольно-хлороформной экстракции. Поиск варианта ERCC4\*p.Arg799Trp в исследуемой группе выполнен с помощью анализа кривых плавления (HRM) на CFX96 Real-Time PCR Analyzer (BioRad) с применением красителя EvaGreen. Положительный и отрицательный контроли были включены в каждый эксперимент, все образцы с изменением в кривых плавления были в дальнейшем ресеквенированы. При попарном сравнении частот генотипов и аллелей между группами больных и здоровых лиц использовали критерий  $\chi^2$  (P).

**Результаты и обсуждение:** Ген ERCC4 / FANCD1 является потенциальным геном-кандидатом наследственного рака молочной железы (РМЖ), являясь участником анемия Фанкони (АФ) / BRCA пути, необходимого для репарации ДНК. Ген ERCC4 кодирует эндонуклеазу XPF, которая функционирует в эксцизионной репарации нуклеотидов (NER),

участвует в восстановлении межцепочечных сшивок (ICL). Гетерозиготные мутации в гене *ERCC4* были выявлены при разных онкологических заболеваниях. Биаллельные мутации гена *ERCC4* являются причиной возникновения анемии Фанкони типа Q и синдрома Кокейна. АФ – это редкое наследственное заболевание, проявляющееся аномалиями развития костного мозга и повышенным риском возникновения злокачественных новообразований. Белки АФ функционируют в общем пути восстановления ДНК, т.н. «путь FA», который необходим для поддержания целостности генома. Мутации в этих генах – *BRCA1 / FANCS*, *BRCA2 / FANCD1*, *BRIP1 / FANCI*, *PALB2 / FANCD2* и *RAD51C / FANCO* – ассоциированы с высоким и умеренным риском развития опухолей молочной железы и яичников.

Мутация с.2395 C>T(p.Arg799Trp) в гене *ERCC4* была выявлена в гетерозиготном состоянии у женщины с наследственным РМЖ с применением массового параллельного секвенирования 155 генов. Вследствие отсутствия данных о частоте распространения *ERCC4*\*p.Arg799Trp в популяции нашего региона, которые необходимы для правильной интерпретации полученных результатов и оценки риска заболевания, мы провели скрининг мутантного аллеля на расширенной выборке больных РМЖ и контрольной группы. В результате исследования выявлены гетерозиготные носители *ERCC4*\*p.Arg799Trp как у пациенток с РМЖ (3 из 966), так и в группе контроля (1 из 686). У больных РМЖ частота мутантного варианта несколько выше, чем у здоровых женщин (0.31 % и 0.15 %, соответственно), но различия не достигают статистической значимости ( $p > 0.05$ ). Вариант *ERCC4*\*p.Arg799Trp обнаружен у женщин разной этнической принадлежности, проживающих в Башкортостане, не демонстрируя специфичности для одной конкретной популяции.

**Заключение:** Таким образом, результаты нашего исследования указывают на то, что вариант *ERCC4*\*p.Arg799Trp не имеет большого значения в развитии РМЖ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ №17-44-020498 p\_a, 17-29-06014 офи\_m, Программы развития биоресурсных коллекций №007-030164/2, а также с использованием оборудования ЦКП «Биомика» и УНУ «КОДИНК».

## ПЦР-АНАЛИЗ ФЕКАЛЬНОЙ ДНК ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Бутрович Г.М.<sup>1</sup>, Мирлина Е.Д.<sup>1</sup>, Хабарова И.Г.<sup>2</sup>, Вербенко В.Н.<sup>1</sup>, Вострюхина О.А.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ,

<sup>2</sup>Санкт-Петербургская клиническая больница РАН

## FECAL DNA PCR ANALYSIS FOR THE COLORECTAL CANCER DIAGNOSTICS

Butrovich G.M.<sup>1</sup>, Mirlina E.D.<sup>1</sup>, Khabarova I.G.<sup>2</sup>, Verbenko V.N.<sup>1</sup>, Vostriukhina O.A.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>NRC «Kurchatov Institute» – PNPI,

<sup>2</sup>Saint-Petersburg Clinical Hospital of the RAS

\*моб.: +7 (905) 259-29-63; e-mail: Vostriukhina\_OA@pnpi.nrcki.ru

Колоректальный рак (КРР) является одной из основных проблем общественного здравоохранения во всем мире – четвертой ведущей причиной смертности от рака у мужчин и третьей ведущей причиной у женщин в промышленно развитых странах. Несмотря на постоянное совершенствование в области хирургии и разновидностей терапии, остается явная зависимость успешного излечения КРР от обнаружения заболевания на начальных стадиях. Этим объясняется интерес к разработке новых неинвазивных методов ранней диагностики, а частота встречаемости КРР оправдывает регулярное обследование здоровых людей, особенно входящих в группу риска.

Целью данной работы явилась разработка доступного и эффективного метода диагностики КРР на основе анализа целостности фекальной ДНК, пригодного для внедрения в клиническую практику в России. Метод протяженных фрагментов ДНК известен в литературе по работам Бойнтонна, который продемонстрировал, что фрагменты ДНК, выделенные из стула больных с КРР, имели большую молекулярную массу нежели фрагменты, полученные из стула здоровых индивидуумов. Однако серьезного методического исследования до настоящего времени проведено не было.

В задачи исследования входило:

- сравнение молекулярного веса образцов ДНК, выделенной из фекалий больных КРР и здоровых волонтеров;
- выбор количества, размера и локализации в геноме протяженных фрагментов;
- оценка эффективности диагностического теста в зависимости от демографических данных пациентов и клинико-патологоанатомических характеристик опухолей;
- разработка поэтапного алгоритма диагностического теста.

Материалы и методы. Образцы фекалий (5 г) были отобраны у пациентов с КРР (103 человека) и контрольной группы волонтеров – индивидуумов, не имеющих новообразований кишечного тракта (30 человек). Наличие или отсутствие опухоли у пациентов и контрольной группы было установлено методом колоноскопии.

Выделение геномной ДНК из фекалий производили с использованием набора «ДНК-сорб-В» фирмы «АмплиСенс» ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва).

Для контроля качества выделенной ДНК и отсутствия ингибирования ПЦР осуществляли амплификацию двух коротких фрагментов ДНК (141 н.п. и 153 н.п.) из разных участков генома. Для оценки целостности геномной ДНК методом ПЦР-анализа использовали два протяженных фрагмента: гена TP53 (17p13.1) длиной 800 н.п. и гена MLH1 (3p21.3) длиной 2340 н.п.

Статистический анализ. Для анализа данных использовали программу Graphpad Instat. Различия между группами считали достоверными на уровне 95% вероятности при  $P < 0,05$ .

Результаты и обсуждение. Амплификация коротких фрагментов происходила как в случае использования образцов ДНК, полученной из фекалий больных КРР, так и здоровых индивидуумов. Амплификация протяженных фрагментов наблюдалась только в случае пациентов с диагнозом КРР.

Использование двух протяженных фрагментов генов, относящихся к двум разным фенотипам КРР (супрессорного и мутаторного типа), обеспечивают высокую чувствительность и специфичность диагностики, соответственно 76 % и 100 %. Чувствительность метода не зависит от молекулярного патогенеза выявленных новообразований, а также от стадии заболевания, что делает его пригодным для ранней диагностики КРР.

Показано также, что чувствительность предложенного метода диагностики не зависит от направления роста опухоли (экзофитный / эндофитный), однако зависит от ее локализации: для прямой кишки по сравнению с другими отделами толстой кишки она достоверно выше – 85 % против 62,5 % ( $P = 0.0314$ ).

Впервые в качестве маркера был использован фрагмент длиной более 2000 н.п., что значительно (в несколько раз) превышает размер фрагментов, упомянутых в литературе. Также впервые в качестве маркера был использован фрагмент гена MLH1, участвующего в развитии КРР с фенотипом микросателлитной нестабильности генома.

Метод протяженных фрагментов, основанный только на анализе целостности фекальной ДНК, отличается от многих предложенных в литературе быстротой, дешевизной и возможностью проводить неинвазивную диагностику колоректального рака в стандартной ПЦР-лаборатории, что открывает возможности для масштабного скрининга колоректального рака.

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У СПОНТАННЫХ АБОРТУСОВ С АНЕУПЛОИДИЕЙ

Васильев С.А.<sup>1</sup>, Толмачева Е.Н.<sup>1</sup>, Васильева О.Ю.<sup>1</sup>, Никитина Т.В.<sup>1</sup>,  
Саженова Е.А.<sup>1</sup>, Жигалина Д.И.<sup>1</sup>, Сердюкова Е.С.<sup>2</sup>, Марков А.В.<sup>1</sup>, Лебедев И.Н.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, <sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский  
государственный университет; Томск

### EPIGENETIC DISORDERS IN MISCARRIAGES WITH ANEUPLOIDY

Vasilyev S. A.<sup>1</sup>, Tolmacheva E.N.<sup>1</sup>, Vasilyeva O.Yu.<sup>1</sup>, Nikitina T.V.<sup>1</sup>,  
Sazhenova E.A.<sup>1</sup>, Zhigalina D.I.<sup>1</sup>, Serdyukova E.S.<sup>2</sup>, Markov A.V.<sup>1</sup>, Lebedev I.N.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMС, <sup>2</sup> National Research Tomsk State  
University; Tomsk, Russia  
E-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Нарушения протекания беременности у человека являются крайне частым событием, в этиологии которого важную роль играют числовые хромосомные аномалии и ошибки в эпигенетической программе формирования организма. Однако взаимосвязь между этими факторами эмбриональной гибели человека остается недостаточно исследованной. По предварительным результатам, полученным с помощью широкогеномного анализа с помощью метилочипов Infinium 27K (Illumina), у спонтанных абортусов с трисомией 16 наблюдалось значимое гиперметилирование в промоторах 90 генов ( $\Delta\text{mB} > 0.15$ ). Среди них были обогащены гены секретируемых белков (29 генов,  $p = 5.8\text{E-}8$ ), а еще 10 генов кодировали рецепторы.

**Целью настоящего исследования** являлось определение дифференциально-метилированных регионов генома в отдельных генах у эмбрионов с анеуплоидией по различным хромосомам.

**Материалы и методы:** Уровень метилирования промоторов пяти генов (ANKRD53, GATA3, CALCB, TRPV6, SCL13A4) был детально проанализирован с помощью таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования. В качестве материала использовалась геномная ДНК, выделенная из трофобласта хориона 26 спонтанных абортусов с трисомией 16, 27 спонтанных абортусов с анеуплоидией по другим хромосомам набора (2, 7, 9, 11, 13, 14, 15, 18, 20, 21, X), 9 спонтанных абортусов с нормальным кариотипом и 10 медицинских абортусов.

**Результаты и обсуждение:** Уровень метилирования исследованных генов значимо не отличался у спонтанных абортусов с нормальным кариотипом от медицинских абортусов. У спонтанных абортусов с трисомией 16 уровень метилирования ДНК был значимо выше по сравнению с медицинскими абортусами в промоторах всех исследованных генов. Для двух генов (GATA3, CALCB) уровень метилирования в группе с трисомией 16 был выше и по сравнению с группой спонтанных абортусов с нормальным кариотипом. Уровень



метилирования гена GATA3 оказался значимо выше не только в группе абортусов с трисомией 16, но и в группе спонтанных абортусов с анеуплоидией по другим хромосомам набора по сравнению с медицинскими абортусами. Были выявлены конкретные CpG-сайты, которые могут потенциально играть роль в регуляции экспрессии исследованных генов.

Таким образом, числовые хромосомные аномалии у спонтанных абортусов сочетаются с масштабными эпигенетическими нарушениями, которые могут вносить ощутимый вклад в реализацию патологических механизмов, приводящих к внутриутробной гибели эмбрионов человека. В частности, уровень метилирования гена ANKRD53 повышался пропорционально снижению доли трисомного клона у спонтанных абортусов с мозаицизмом по трисомии 16. Учитывая роль ANKRD53 в сегрегации хромосом в митозе, гиперметилирование этого гена может вносить определенный вклад в возникновение часто обнаруживаемого среди спонтанных абортусов мозаицизма по трисомии 16. Кроме того, у спонтанных абортусов с трисомией было обнаружено aberrантное метилирование регуляторной последовательности транскрипционного фактора GATA3, являющегося ключевым регулятором дифференцировки клеток трофобласта. Возможно, что нарушение экспрессии GATA3 может приводить к менее эффективной имплантации, которая становится критичной для выживания эмбриона уже на ранних стадиях беременности. Наконец, выявлено повышение уровня метилирования ДНК в промоторе гена CALCB, кодирующего сигнальный пептид, и генов рецепторов TRPV6 и SCL13A4. Показано, что сигнальные пути с участием продуктов этих генов критичны для протекания ранних стадий беременности.

**Заключение:** Полученные результаты указывают на возможное эпигенетическое нарушение стабильности генома эмбриона и регуляции сигнального взаимодействия между эмбрионом с анеуплоидией и матерью, что является потенциальной причиной прерывания беременности при наличии у эмбриона анеуплоидии.

Исследование проведено при поддержке гранта РФФ № 19-74-10026.

## **МЕТАБОЛОМИКА СТЕРОИДОВ МОЧИ НА ОСНОВЕ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ У БОЛЬНЫХ С ВРОЖДЕННОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ВСЛЕДСТВИЕ ДЕФЕКТА 21-ГИДРОКСИЛАЗЫ**

Великанова Л.И.\*, Ворохобина Н.В., Малеваная Е.В., Стрельникова Е.Г., Головнова О.Б.  
*Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова  
МЗ РФ, Санкт-Петербург*

## **URINE STEROID METABOLOMICS BY GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY IN PATIENTS WITH CONGENITAL ADRENAL HYPERPLASIA DUE TO 21-HYDROXYLASE DEFICIENCY**

Velikanova L.I.\*, Vorokhobina N.V., Malevanaia E.V., Strelnikova E.G., Golovnova O.B.  
*North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia*  
\*E-mail: velikanova46@gmail.com

В настоящее время в диагностике врожденной дисфункции коры надпочечников (ВДКН) центральное место занимают методы иммуноанализа, обладающие низкой специфичностью, что приводит к большому количеству диагностических ошибок. Нет единой точки зрения в отношении критериев диагностики дефекта фермента 21-гидроксилазы (21-Г). Определение в крови уровня 17-гидроксипрогестерона у больных с гиперандрогенией в 85% случаев не позволяет диагностировать неклассическую форму (НФ) ВДКН вследствие дефекта 21-Г. Важное значение имеет молекулярно-генетический анализ. На долю крупных делеций приходится около 20-25 % всех мутаций, тогда как 75 % мутаций – это точечные мутации, являющиеся следствием генных конверсий. Большинство лабораторий проводят диагностику лишь 3-5 наиболее крупных мутаций, характерных для классических форм (КФ) ВДКН в результате дефицита 21-Г, а для диагностики НФ ВДКН необходимо исследование точечных мутаций. ВДКН является аутосомно-рецессивным заболеванием, поэтому для подтверждения диагноза необходимо определение одновременно 2 мутаций в определяемых положениях гена. Исследование стероидных профилей мочи (СПМ) методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) позволяет оценить функциональную степень дефицита фермента путем сравнения метаболитов предшественника фермента и конечного продукта, выявить характерные для заболеваний стероидные профили и таким образом способствует улучшению диагностики заболеваний коры надпочечников, включая наследственные синдромы, обусловленные дефектами ферментов биосинтеза гормонов.

**Цель исследования:** Установить особенности метаболомики стероидов мочи методом ГХ-МС у женщин с синдромом гиперандрогении (СГА) для разработки диагностических критериев классической и неклассической форм ВДКН вследствие дефекта 21-Г.

**Материалы и методы:** Обследованы 95 женщин с СГА и 25 здоровых женщин в возрасте от 18 до 40 лет, которые составили группу контроля (ГК). СПМ исследовали

методом ГХ-МС. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программной системы STATISTICA for WINDOWS (версия 10).

**Результаты:** Диагноз ВДКН (у 29 женщин из 95 с СГА) был подтвержден традиционными методами обследования, включающими функциональные пробы и генетическое исследование. У 15 больных с НФ ВДКН вследствие дефекта 21-Г по данным ГХ-МС была увеличена экскреция андрогенов с мочой [дегидроэпиандростерона (DHEA), 16-ОН-DHEA-3 $\beta$ , андростендиола-17 $\beta$  (dA2-17 $\beta$ ), 16-охо-dA2, андростерона (An), 11-ОН-An], метаболитов прогестинов [17-ОН-прегнанолона (17-ОНР), прегнантриола (P3), 11-охо-P3, прегнендиола (dP2), прегнентриола, 16-ОН-dP2, 6-ОНР], 5 $\alpha$ -тетрагидрокортикостерона (5 $\alpha$ -ТНВ), снижение экскреции суммы  $\alpha$ - и  $\beta$ -кортизолов с мочой. У 14 пациентов с КФ ВДКН была дополнительно повышена экскреция с мочой андростендиола, метаболитов андростендиона [11-ОН-этиохоланолона (11-ОН-Et), 11-охо-Et], тетрагидро-11-дезоксикортизола (ТНС). Следует отметить, что экскреция с мочой P3 ( $p = 0.01$ ), 11-охо-P3 ( $p = 0.0007$ ) и 17-ОНР ( $p = 0.002$ ) были выше у больных с КФ ВДКН в сравнении с НФ ВДКН вследствие дефекта 21-Г.

У больных с НФ и с КФ ВДКН с дефектом 21-Г было получено увеличение соотношений 11-ОН-An/11-ОН-Et, 5 $\alpha$ -ТНВ/5 $\beta$ -ТНВ и 5 $\alpha$ -ТНФ/5 $\beta$ -ТНФ, что свидетельствует о повышении активности 5 $\alpha$ -редуктазы, дополнительным признаком которого было увеличение соотношения An/Et до 1,6 (1,4-1,8) у пациентов с КФ ВДКН в сравнении с ГК [1,2 (0,8-1,3),  $p = 0.04$ ]. Снижение соотношений суммы тетрагидрокортизола (ТНФ), 5 $\alpha$ -ТНФ и тетрагидрокортизона (ТНЕ) к P3, к 11-охо-P3 и к 17-ОНР были получены как у больных с НФ ВДКН, так и у пациентов с КФ ВДКН вследствие дефекта 21-Г. Однако у пациентов с КФ ВДКН данные соотношения были ниже ( $p < 0.01$ ), чем у пациентов с НФ ВДКН. По данным ГХ-МС определены пороговые значения основных биомаркеров КФ ВДКН с дефектом 21-Г: 11-охо-P3 > 1300 мкг/24 ч, P3 > 4000 мкг/24 ч, 17-ОНР > 2500 мкг/24ч, 21-дезоксид-ТНФ > 310 мкг/24ч, соотношения суммы тетрагидрокортизола (ТНФ), 5 $\alpha$ -ТНФ и тетрагидрокортизона (ТНЕ) к 11-охо-P3 < 1.0, к P3 < 0.7 и к 17-ОНР < 2.0. Только у больных с КФ ВДКН была определена экскреция с мочой 11-охо-прегнентриола и получены признаки недостаточности 11 $\beta$ -гидроксилазы. У 3-х пациентов с КФ ВДКН экскреция с мочой ТНС была больше 1000 мкг/24 ч, соотношение (ТНФ+5 $\alpha$ -ТНФ+ТНЕ)/ТНС < 5.0 мкг/24 ч.

**Заключение:** Получены диагностические критерии неклассической и классической форм ВДКН вследствие дефекта 21-гидроксилазы на основании исследования стероидных профилей мочи методом газовой хромато-масс-спектрометрии.

## НАРУШЕНИЯ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧНЫХ МОДЕЛЯХ ПОЛИГЛУТАМИНОВЫХ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КАК ОСНОВА СЕЛЕКТИВНОЙ ГИБЕЛИ НЕЙРОНОВ

Вигонт В.А.<sup>1,\*</sup>, Грехнев Д.А.<sup>1</sup>, Гусев К.О.<sup>1</sup>, Лебедева О.С.<sup>2</sup>, Ключников С.А.<sup>3</sup>,  
Казначеева Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ФНКЦ Физико-химической медицины ФМБА, Москва; <sup>3</sup>Научный центр неврологии, Москва

## ALTERATIONS IN CALCIUM SIGNALING IN PATIENT-SPECIFIC MODELS OF POLYGLUTAMINE NEURODEGENERATIVE DISEASES UNDERLY SELECTIVE VULNERABILITY OF NEURONS

Vigont V.A.<sup>1,\*</sup>, Grekhnev D.A.<sup>1</sup>, Gusev K.O.<sup>1</sup>, Lebedeva O.S.<sup>2</sup>, Klyushnikov S.A.<sup>3</sup>,  
Kaznacheeva E.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, <sup>2</sup>FRCC of Physical-Chemical Medicine FMBA, Moscow; <sup>3</sup>Research Center of Neurology, Moscow  
\*E-mail: vvigand@gmail.com

Нейродегенеративные заболевания являются одной из наиболее острых социально-значимых проблем современности. Для изучения молекулярных механизмов нейродегенерации, равно как и для проведения исследований, связанных с поиском новых лекарств, исключительно важным является создание адекватных моделей заболевания. Особый интерес представляют модели наследственных нейродегенеративных патологий, основанные на эндогенной экспрессии мутантных форм белков в нейронах, дифференцированных из пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Подобные модели наиболее точно воспроизводят нарушение молекулярных механизмов исследуемых заболеваний и, кроме того, позволяют изучать именно тот тип клеток, который подвержен селективной гибели при той или иной конкретной патологии.

**Цель:** изучить и сравнить паттерны нарушения работы кальциевых каналов плазматической мембраны в срединных шипиковых нейронах стриатума (СШН), полученных путем дифференцировки iPSCs, специфичных для болезни Хантингтона (БХ) и спиноцеребеллярных атаксий 1го (СЦА1) и 17го (СЦА17) типов.

**Материалы и методы:** нашими коллабораторами из Научного центра неврологии были взяты биопсии у пациентов с БХ, СЦА1 и СЦА17. Далее нашими соавторами из ФНКЦ Физико-химической медицины ФМБА были получены специфичные для этих заболеваний линии ИПСК и дифференцированы в СШН. Для каждой линии ИПСК было проведено комплексное исследование, подтверждающее плюрипотентный статус клеток, контроль кариотипа и т. д. Для полученных СШН была подтверждена экспрессия специфичного маркера DARPP32, проведены тесты доказывающие электровозбудимость полученных нейрональных линий. Далее клетки были рассеяны на стекла, покрытые матригелем,

и использованы для проведения электрофизиологических экспериментов по регистрации ионных токов через плазматическую мембрану методом локальной фиксации потенциала (patch clamp) в условиях отведения от целой клетки (конфигурация whole-cell).

**Результаты и обсуждение:** Мы показали, что в пациент-специфичных ГАМК-эргических СШН, моделирующих такие нейродегенеративные патологии, как БХ и СЦА17, наблюдается существенное повышение входа кальция через потенциал- и депо-управляемые каналы, что, по всей видимости, является токсичным для клеток. Необходимо отметить, что СШН являются наиболее уязвимыми при БХ и одними из наиболее уязвимых для СЦА17, но не для СЦА1. Эти данные хорошо коррелируют с тем фактом, что для нейронов, моделирующих СЦА1, сильных нарушений кальциевой сигнализации не наблюдалось: вход кальция через депо-управляемые каналы был снижен приблизительно на 30%, а вход через потенциал-управляемые каналы был статистически неотличим от такового в контрольных клетках, полученных путем генетического репрограммирования биологического материала от здорового донора. Схожие паттерны нарушения притока кальция через каналы плазматической мембраны для нейронов, моделирующих БХ и СЦА17, не являются неожиданными, если учесть то, что клиническая картина у пациентов страдающих от этих заболеваний очень похожа, что нашло свое отражение во втором названии СЦА17 – Хантингтон-подобная патология 4 типа. Вполне вероятно, что схожесть клинических проявлений данных заболеваний может быть связана с одинаковой дестабилизацией нейронального кальциевого гомеостаза. Полученные данные могут свидетельствовать о центральной роли нарушения кальциевого гомеостаза в селективной гибели нейронов разных отделов головного мозга при различных нейродегенеративных патологиях, что говорит о важности разработки дифференцированных терапевтических подходов к лечению различных полиглутаминовых нейродегенеративных патологий. При этом белки, опосредующие приток ионов кальция через плазматическую мембрану в нейроны можно рассматривать как новый класс перспективных мишеней для лекарственного воздействия при терапии вышеупомянутых заболеваний.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта РФ № 17-74-20068 (ВВА, ГДА, ГКО, КСА), гранта Президента РФ № МК-2335.2019.4 (ВВА, ГДА), гранта РФФИ № 17-54-80006 (КЕВ), КНВШ Правительства Санкт-Петербурга. Коллектив авторов выражает благодарность член-корр. РАН Иллариошкину Сергею Николаевичу (Научный центр неврологии, Москва) и член-корр. РАН Лагарьковой Марии Андреевне (ФНКЦ Физико-химической медицины ФМБА, Москва) за осуществление руководства работами по выделению, культивированию и дифференцировке пациент-специфичных ИПСК.

## МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ В СЕМЬЯХ, ИМЕЮЩИХ ДЕТЕЙ С НЕСБАЛАНСИРОВАННЫМИ АНОМАЛИЯМИ ГЕНОМА

Воинова В.Ю.<sup>1,2,3\*</sup>, Ворсанова С.Г.<sup>1,3</sup>, Юров И.Ю.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

<sup>2</sup>ГБОУ «Московский государственный психолого-педагогический университет»,

<sup>3</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

## MEDICAL GENETIC COUNSELLING OF FAMILIES WITH CHILDREN WITH UNBALANCED GENOME ANOMALIES

Voinova V.Y.<sup>1,2,3\*</sup>, Vorsanova S.G.<sup>1,3</sup>, Iourov I.Y.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National University, <sup>2</sup>Moscow State University of Psychology & Education;

<sup>3</sup>Mental Health Research Center; Moscow, Russia

\* E-mail: vivoinova@yandex.ru

В настоящее время проблемы медико-генетического консультирования семей с наследственными заболеваниями тесно связаны с разработкой и внедрением современных методов молекулярной медицины, а именно с возможностью диагностики различных аномалий генома, выявляемых молекулярно-цитогенетическими и молекулярно-генетическими технологиями. На основании изучения результатов обследования семей с детьми, у которых обнаружены несбалансированные аномалии генома (CNV), разработан алгоритм медико-генетического консультирования (МГК) семей с определённой патологией. Уточняется, унаследованы ли CNV от родителей или обусловлены новыми (de novo) мутациями (1-й этап). При возникновении аномалий генома de novo риск повторного рождения больного ребенка в семье равен общепопуляционному. Если CNV унаследованы от родителя, необходимо тщательное обследование последнего на наличие патологических симптомов

(2-й этап). В случае, когда родитель имеет клинические проявления заболевания, аналогичные пробанду, риск для последующих беременностей составляет 50% для CNV, связанных с аутосомами; при X-сцепленных CNV, если больна мать, риск заболевания составит 50% для детей обоих полов, но тяжесть проявления патологии у дочери зависит от особенностей X-инактивации. Ряд Y-сцепленных заболеваний отца (бесплодие ввиду делеции локуса AZF на хромосоме Y) передаются сыновьям. Наиболее сложны для определения риска случаи унаследованных геномных аномалий, когда родитель является здоровым носителем: 1) при неполной пенетрантности CNV может не проявляться у родителя, следовательно, риск заболевания у будущих детей может достигать 50 %; 2) при варьирующей экспрессивности родитель-носитель CNV может иметь легкие симптомы болезни, следовательно, риск достигает 50 %; 3) возможны эффекты импринтинга – болезнь будет проявляться только при наследовании CNV от определенного пола; 4) у пробанда, имеющего CNV, могут

проявляться симптомы аутосомно-рецессивного заболевания, когда другая (точковая) мутация не определяется методом молекулярного кариотипирования, и риск для будущих беременностей 25 %; 5) при мозаицизме по CNV у родителя риск повторных случаев заболевания детей повышен, если патологический клон клеток затрагивает гонады родителя; 6) могут обнаружиться CNV, сцепленные с хромосомой X, у пациента мужского пола, унаследованные от клинически здоровой матери. Отсутствие болезни матери может быть результатом преимущественной инактивации хромосомы X, несущей мутацию. В этом случае риск передачи заболевания матерью для ее сыновей –50%. Таким образом, МГК семей с геномными аномалиями требует комплексного подхода к диагностике, который связан с обследованием детей и членов их семей с помощью цитогенетических, молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических методов.

Работа поддержана Госзаданием Минздрава России № АААА-А18-118051590122-7.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МОЗАИЧНЫХ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ

Ворсанова С.Г.<sup>1,2</sup>, Юров Ю.Б.<sup>1,2</sup>, Кравец В.С.<sup>1,2</sup>, Куринная О.С.<sup>1,2</sup>, Зеленова М.А.<sup>1,2</sup>, Васин К.С.<sup>1,2</sup>, Колотий А.Д.<sup>1,2</sup>, Демидова И.А.<sup>1,2</sup>, Юров И.Ю.<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия

## MOLECULAR CYTOGENETIC DIAGNOSIS OF MOSAIC CHROMOSOMAL ANOMALIES

Vorsanova S.G.<sup>1,2</sup>, Yurov Y.B.<sup>1,2</sup>, Kravets V.S.<sup>1,2</sup>, Kurinnaia O.S.<sup>1,2</sup>, Zelenova M.A.<sup>1,2</sup>, Vasin K.S.<sup>1,2</sup>, Kolotii A.D.<sup>1,2</sup>, Demidova I.A.<sup>1,2</sup>, Iourov I.Y.<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National University, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Mental Health Research Center, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education, Moscow, Russia

\*E-mail: ivan.iourov@gmail.com

За последнее десятилетие было получено достаточно большое количество данных о том, что соматические мутации (наличие двух или более генетически отличных друг от друга клеточных популяций в одном организме) вносят значительный вклад в патогенез различных заболеваний человека. Тем не менее, роль, которую играют соматические мутации в виде мозаичных хромосомных и геномных вариаций в нарушении развития центральной нервной системы (ЦНС) у детей, остается на сегодняшний день мало изученной и актуальной.

**Целью настоящего исследования** явилось изучение соматических мутаций в виде мозаичных хромосомных аномалий и нестабильности, а также геномных изменений в группе детей с нарушением развития ЦНС.

**Материалы и методы:** Объектом цитогенетического и молекулярно-цитогенетического исследования явились клетки лимфоцитов периферической крови 10000 детей с нарушением развития ЦНС в виде умственной отсталости, аутистических расстройств, эпилепсии и с врожденными пороками развития. Помимо этого, были изучены 560 геномов детей из этой группы с помощью высокоразрешающего молекулярного кариотипирования (разрешение не менее 1 тысяч пн) в сочетании с оригинальной биоинформатической технологией, позволяющей определять функциональные последствия геномной патологии.

**Результаты и обсуждение:** В проведенном исследовании соматические хромосомные мутации были обнаружены у 5.9 % детей (n = 590). Хромосомная нестабильность была выявлена у 4.35 % детей (n = 435). При анализе методом сканирования генома (молекулярное кариотипирование) мозаичная геномная патология была выявлена у 10.3 % детей (n = 61). У 4-х пациентов (0.7 %) выявлена особая форма хромосомной нестабильности



(хромотрипсис). С помощью биоинформатического анализа результатов сканирования генома было обнаружено, что у детей с хромосомной аномалией и мозаицизмом наблюдаются генетические вариации, предрасполагающие геном к нестабильности. Было также выявлено, что молекулярные процессы регуляции клеточного цикла, репарации/репликации ДНК, а также запрограммированная клеточная гибель нарушены у этих детей за счет выявленных геномных вариаций, являясь причиной хромосомной нестабильности.

**Заключение:** Настоящее исследование демонстрирует высокую частоту соматических мутаций у детей с нарушением развития ЦНС. Более того, биоинформатический анализ геномных вариаций у детей с хромосомным мозаицизмом и/или геномной/хромосомной нестабильностью показал, что эти феномены являются механизмом нарушения развития ЦНС у обследованных детей. Таким образом, при разработке адекватной терапии генетически обусловленной патологии ЦНС у детей необходимо принимать во внимание соматическую вариабельность (нестабильность) генома.

Работа выполняется при финансовой поддержке РФФИ и СИТМА в рамках научного проекта № 18-515-34005.

## МУТАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ МНОЖЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ДВУХ ПАЦИЕНТОВ

Вострюхина О.А.<sup>1\*</sup>, Мирлина Е.Д.<sup>1</sup> Шахматова А.Д.<sup>1</sup>, Бутрович Г.М.<sup>1</sup>, Поляцкин И.Л.<sup>2</sup>,  
Артемяева А.С.<sup>2</sup>, Гуляев А.В.<sup>2</sup>, Вербенко В.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ

<sup>2</sup>НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова; Санкт-Петербург

## MUTATIONAL ANALYSIS OF MULTIPLE TUMORS OF TWO PATIENTS

Vostriukhina O.A.<sup>1</sup>, Mirlina E.D.<sup>1</sup>, Shakhmanova A.D.<sup>1</sup>, Butrovich G.M.<sup>1</sup>, Polytskiy I.L.<sup>2</sup>,  
Artemieva A.S.<sup>2</sup>, Gulyaev A.V.<sup>2</sup>, Verbenko V.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Petersburg Nuclear Physics Institute n.a. B.P. Konstantinov of National Research Centre  
«Kurchatov Institute», Gatchina,*

<sup>2</sup>*N.N. Petrov NMRC of Oncology, St. Petersburg*

\*E-mail: Vostriukhina\_OA@pnpi.nrcki.ru

Первично-множественные опухоли (ПМО), или полинеоплазии, – это одновременное или поочередное образование очагов злокачественного роста, которые развиваются самостоятельно и независимо друг от друга в пределах одного или нескольких органов. ПМО в настоящее время привлекают все более пристальное внимание клиницистов вследствие увеличения частоты их выявления и сложности лечения этой категории больных. Основные трудности возникают при дифференциальной диагностике между второй опухолью и рецидивом, т.е. прорастанием или метастазом первой злокачественной опухоли.

**Целью** данной работы явился ретроспективный анализ генетических изменений, накапливающихся в клетках двух больных – пациента с тремя мультифокальными аденокарциномами желудка и пациента с 7-ю последовательно возникающими опухолями разной локализации. Предполагалось, что идентичные мутационные профили опухолей подразумевают метастатический характер второй (и далее) карциномы, а различные мутационные профили свидетельствуют об их независимом происхождении.

**Методы:** Мутационные профили опухолей определяли с применением техники Real-time PCR, PCR-SSCP и метода электрофореза в денатурирующих условиях. Анализировали наличие повреждений в микросателлитах BAT26 и BAT40, в генах – мишенях дефектной работы системы коррекции неспаренных оснований ДНК – TGFBRII, BAX, MSH3, MSH6, IGF1R и др., в «горячих точках» мутагенеза генов TP53, BRAF, APC, KRAS, PTEN и в маркерах потери гетерозиготности (TP53, CHRNB1 и D17S786).

Полноэкзомное NGS секвенирование осуществлялось в Центре Генетики и Репродуктивной Медицины «ГЕНЕТИКО».

Для пациента с тремя опухолями желудка полученные результаты молекулярно-генетического анализа опухолей были сопоставлены с клинико-патологоанатомическими данными пациентов, на основе чего составлена предположительная схема поэтапного развития заболевания, которое носило в основном метастатический характер.

Из 15 исследованных маркеров лишь в двух маркерах – потери гетерозиготности в локусе TP53 и в 6-м экзоне гена TP53 – выявлены отличия, появившиеся по всей видимости при прогрессии сформировавшихся опухолей.

Для части образцов пациента с семью опухолями было, кроме того, осуществлено полноэкзомное NGS секвенирование:

- для образцов нормы (кровь и парафинизированные срезы);
- для соматических мутаций в опухолевых образцах.

**Результаты и обсуждение:** Выявлена ранее не описанная гетерозиготная мутация в 3 экзоне одного из генов системы коррекции неспаренных оснований (КНО) MSH6, приводящая к преждевременной терминации трансляции белка (р. Gly162 Ter). Гетерозиготные варианты в данном гене, ассоциированные с потерей функции белка, могут приводить к аутосомно-доминантному опухолевому синдрому – наследственному неполипозному раку толстой кишки тип 5, (синдрому Линча), сопровождающемуся развитием разного типа опухолей, таких, как рак толстой кишки, эндометрия, яичников, поджелудочной железы, молочной железы и других, как правило, во взрослом возрасте.

Кроме этого, в отдельных образцах выявлены соматические мутации в генах – мишенях дефектной работы системы КНО (MSH6, BLM и TGFBR2), а также в «горячих точках» мутагенеза гена KRAS и некоторых других.

**Заключение:** По совокупности молекулярно-генетических данных можно предположить, что опухоли данного пациента имеют различающиеся между собой мутационные профили, что, возможно, указывает на их независимое происхождение.

# **ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ЦИНК И ЕГО РОЛЬ В РАЗВИТИИ УСТОЙЧИВОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

Гармаза Ю.М., Слобожанина Е.И.\*

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,  
Минск, Республика Беларусь*

## **INTRACELLULAR ZINC AND ITS ROLE IN DEVELOPMENT OF RESISTENCE TO OXIDATIVE STRESS IN HUMAN ERYTHROCYTES UNDER NORMAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS**

Harmaza Y.M., Slobozhanina E.I.\*

*Institute of Biophysics and Cell Engineering of National Academy of Sciences of Belarus,  
Minsk, Belarus*

\*E-mail: slobozhanina@ibp.org.by

Цинк – микроэлемент, незаменимый для жизни, который существует в организме как двухвалентный катион и в физиологических условиях не проявляет редокс-активности. Именно это свойство в итоге и объясняет разнообразные физиологические функции цинка в различных биологических процессах. Однако в научной литературе до сих пор широко обсуждается вопрос о количестве цинка, необходимого для нормального функционирования клеток. Известно, что его физиологическая концентрация в сыворотке крови человека составляет 2–15 мкМ, в то время как цитозольный свободный уровень в большинстве клеток чрезвычайно низкий (<1нМ). Этот факт свидетельствует о существовании контроля свободного цинка внутри клетки, который чувствителен к различного рода патофизиологическим изменениям.

**Цель работы:** установить связи между цинковым гомеостазом и функционированием эритроцитов человека и выявлению участия внутриклеточного  $Zn^{2+}$  в формировании защитных механизмов клеток при окислительном стрессе в норме и при патологии.

**Материалы и методы:** В работе использована кровь здоровых доноров и пациентов с ишемической болезнью сердца с диагностированными и нет метаболическими нарушениями. Для проведения исследований были использованы методы проточной цитофлуориметрии и спектрофлуориметрии с применением флуоресцентных зондов FluoZin-3-AM, Calcein-AM,  $H_2DCF-DA$ , рекомбинантного белка аннексина-V-FITC, моноклонального антитела UC1MT и изотипического контроля IgG1-FITC, а также фотометрические подходы для оценки концентрации восстановленного глутатиона (GSH) и ферментов антиоксидантной защиты клетки.

**Результаты и обсуждение:** Используя специфический ионофор, внутриклеточный (TPEN) и внеклеточный (DTPA) хелаторы для  $Zn^{2+}$ , продемонстрировано существование специфических рецепторов на поверхности эритроцитов и внутриклеточных депо, отвечающих за поддержание цинкового гомеостаза. В то же время было показано,

что увеличение цитозольного пула лабильного  $Zn^{2+}$  свыше 100 нМ приводит к запуску процессов эриптоза, а цитотоксические эффекты цинка обусловлены внутриклеточными молекулярными механизмами, приводящими к выходу  $Zn^{2+}$  из клеточных депо.

Воздействие  $H_2O_2$  на эритроциты человека *in vitro* приводит к дозозависимому увеличению внутриклеточного пула  $Zn^{2+}$  и снижению жизнеспособности эритроцитов, причем полученный эффект зависит от концентрации  $H_2O_2$  и времени инкубации клеток. Впервые продемонстрировано, что сочетанное воздействие пероксида водорода и TPEN снимает цитотоксичный эффект  $H_2O_2$ , а добавление  $Zn^{2+}$  в среду инкубации эритроцитов с окислителем приводит к усилению его действия. Установлено, что одним из механизмов, приводящим к высвобождению  $Zn^{2+}$  из внутриклеточных связывающих сайтов в эритроцитах при  $H_2O_2$ -индуцированном окислительном стрессе, может являться уменьшение количества небелковых тиольных групп за счет снижения уровня GSH.

Моделирование Zn-дефицитного состояния в эритроцитах с помощью TPEN приводит к достоверному снижению внутриклеточного пула  $Zn^{2+}$  и увеличению эстеразной активности клеток, что не наблюдалось при истощении ионов цинка, используя ДТРА. Продемонстрировано, что одним из возможных механизмов развития окислительного стресса в эритроцитах в условиях дефицита цинка является ингибирование активности основных ферментов антиоксидантной защиты – каталазы и глутатионпероксидазы, на фоне разнонаправленного изменения уровня GSH, а также увеличения экспрессии цистеин-обогащенных белков металлотионеинов.

Оценка цитозольного пула лабильного цинка в эритроцитах периферической крови ИБС-пациентов с диагностированным сахарным диабетом II типа выявила снижение его количества, что, по-видимому, является индуктором в нарушении редокс-статуса клеток и проявляется в 2-2.8-кратном снижении концентрации GSH. Увеличение уровня экспрессии металлотионеинов на фоне значительного снижения концентрации GSH в эритроцитах ИБС-пациентов с метаболическими нарушениями свидетельствует о функционировании данных белков в качестве дополнительной системы антиоксидантной защиты эритроцитов при данной патологии.

**Заключение:** Полученные результаты свидетельствуют о существовании в эритроцитах человека механизмов регуляции лабильного пула цинка и тонкой концентрационной грани между его эссенциальными и токсичными свойствами, нарушение которой может привести к запуску патологических процессов, что было продемонстрировано на примере сахарного диабета II типа, в этиопатогенезе которого цинковый гомеостаз играет важную роль.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МИШЕНИ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ И НЕЙРОРЕАБИЛИТАЦИИ

Герасимов А.П.<sup>1,2\*</sup>, Иванова Н.Е.<sup>3</sup>, Кравцова С.В.<sup>3</sup>, Баранцевич Е.Р.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, <sup>2</sup>ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, <sup>3</sup>«Российский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ; Санкт-Петербург, Россия

## GENETIC TARGETS FOR PERSONALIZED NEUROPROTECTION AND NEUROREHABILITATION

Gerasimov A.P.<sup>1,2\*</sup>, Ivanova N.E.<sup>3</sup>, Kravtsova S.V.<sup>3</sup>, Barancevich E.R.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, <sup>2</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, <sup>3</sup>Polenov Neurosurgical Institute, branch of the Almazov National medical research center, St. Petersburg, Russia  
\*E-mail: APGerasimow@rambler.ru

К настоящему времени в связи с интенсивным развитием технологий молекулярной медицины появилась возможность выработки персонализированного прогноза при гипоксии нервной системы. При этом следующим шагом является выбор индивидуальных алгоритмов профилактики и лечения с учетом особенностей энергообмена у пациента. Данный подход востребован применительно как к цереброваскулярным заболеваниям, так и к фармакорезистентной эпилепсии.

Проведенный нами биоинформатический анализ по базе данных OMIM, а также сопоставление возможностей методов молекулярной диагностики с их ценами дали следующие результаты.

В настоящее время цены на полноэкзомное секвенирование (кодирующие последовательности около 20 000 генов) и на большие генетические панели (500-1000 генов) оказались сопоставимы. В этой ситуации вопрос о разработке «гипоксической панели» теряет актуальность и сменяется вопросом о формировании списка генов для биоинформатического анализа.

Продукция АТФ в ткани мозга связана преимущественно с углеводным обменом и определяется состоянием систем кровообращения и дыхания, уровнем глюкозы в крови, скоростью лимитирующих реакций гликолиза и цикла Кребса, состоянием белков цепи переноса электронов в митохондриях.

Из генов, влияющих на уровень гликемии, особого внимания заслуживают гены, связанные с гликогенозами с гипогликемией: I тип фон Гирке (OMIM: 232200) – ген G6PC, IV тип Андерсена (OMIM: 232500) – ген GBE1, VI тип Херса (OMIM: 232700) – ген PYGL, 0 тип (OMIM: 240600) – ген GYS2.

Из гликолитических ферментов наибольший интерес представляют катализирующие лимитирующие реакции – гексокиназа, фосфофруктокиназа и пируваткиназа. Их кодируют

ген НК1, гены субъединиц PFKM, PFKL, PFKP и ген PKLR соответственно. При этом необходимо учитывать тканевую специфичность. С данными генами также связан ряд заболеваний с поражением нервной системы.

Из ферментов цикла Кребса лимитирующими могут быть цитратсинтаза, изоцитратдегидрогеназа (в наибольшей степени) и альфа-кетоглутаратдегидрогеназа. Их кодируют гены CS, IDH1 и OGDH соответственно.

Количество генов, связанных с функциями митохондрий (и митохондриальными заболеваниями), составляет несколько десятков, включая гены тРНК. При этом часто может отмечаться умеренное снижение функции белков с субклиническим течением, но риском быстрой декомпенсации в виде метаболического ацидоза при ишемии и наркозе.

Необходимо понимать, что мягкие субклинические и условно нейтральные мутации могут по совокупности формировать конституциональную интолерантность к гипоксии, влияющую на прогноз лечения и реабилитации. В данном контексте становится необходимым использование методов функциональной геномики, включая мониторинг кислотно-щелочного состояния и соотношения лактат/пируват.

Таким образом, на настоящем этапе в связи со сравнительной дешевизной полноэкзомного секвенирования разработка специальной панели утратила актуальность, но остается актуальной проблема оценки межгенного взаимодействия. Основные объекты нейропротективной антигипоксической терапии (гликолиз, цикл Кребса, митохондрии) имеют связь с конкретными генами и, в ряде случаев, с генетическими заболеваниями. Оценка функции данных генов может влиять на назначение и дозировку соответствующих препаратов.

## **МЕТОДИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОЧАГОВЫХ И ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫХ ФОРМ ЭПИЛЕПСИИ**

Герасимов А.П.<sup>1,2\*</sup>, Иванова Н.Е.<sup>3</sup>, Щеколдина М.С.<sup>1</sup>, Одинцова Г.В.<sup>3</sup>, Хачатрян В.А.<sup>1</sup>,  
Ушанов В.В.<sup>2,3</sup>, Шалыгин Д.Ю.<sup>4</sup>, Баранцевич Е.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, <sup>2</sup>ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, <sup>3</sup>«Российский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова» — филиал ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, <sup>4</sup>ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ;  
Санкт-Петербург, Россия.

## **METHODOLOGICAL PROBLEMS OF GENETIC DIAGNOSIS OF FOCAL AND GENERALIZED FORMS OF EPILEPSY**

Gerasimov A.P.<sup>1,2\*</sup>, Ivanova N.E.<sup>3</sup>, Tschekoldina M.S.<sup>1</sup>, Odintsova G.V.<sup>3</sup>,  
Khachatryan W.A.<sup>1</sup>, Ushanov V.V.<sup>2,3</sup>, Shalygin D. Yu.<sup>4</sup>, Barancevich E.R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, <sup>2</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, <sup>3</sup>Polenov Neurosurgical Institute – branch of the Almazov National medical research center, <sup>4</sup>North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov;  
St. Petersburg, Russia

\*E-mail: APGerasimow@rambler.ru

Стремительный прогресс молекулярной диагностики как моногенных, так и мультифакторных заболеваний привел к широкому применению данных методов в диагностике эпилепсии. При этом наметилась тенденция назначения обследования врачами, не имеющими подготовки в области генетики, исходя из текущих возможностей учреждений и пациентов, а не клинической необходимости. Также существует опасность неправильной трактовки мутаций, не связанных с эпилептогенезом.

Проведенный нами анализ клинических наблюдений случаев эпилепсии взрослого и детского возраста, в том числе ранее нами опубликованных, в сопоставлении с данными цитогенетической и молекулярно-генетической диагностики дал следующие результаты.

Мы наблюдали случаи эпилепсии при сбалансированных хромосомных транслокациях, а также при делеции домена SRY. В первом случае точки разрыва не попадали на гены, связанные с эпилептогенезом, во втором случае мутация закономерно привела к нарушению половой дифференцировки в сочетании с симптоматическими судорогами коморбидного характера.

Нами ранее был опубликован случай судорог при молекулярно-генетически подтвержденном случае синдрома Корнелии де Ланге. При этом гены, ассоциированные с синдромом, связаны с когезиновым комплексом, но не с эпилептогенезом. Описанные в мировой литературе случаи судорог при синдроме Корнелии де Ланге были, как и в нашем случае, связаны с сопутствующей патологией.

За последние два года мы наблюдали два случая заболеваний с эпизодами судорог при наличии в гетерозиготном состоянии мутаций, связанных с аутосомно-рецессивными



заболеваниями. У одного пациента имелись одновременно мутации в 2 генах, ассоциированных с ранними инфантильными эпилептическими энцефалопатиями. У другого больного имелась мутация в гене DHCR7, связанном с синдромом Смита-Лемли-Опица. В обоих случаях база данных OMIM допускает существование компаунд-гетерозигот, что затрудняет однозначную клиническую трактовку.

При повторном молекулярно-генетическом обследовании пациентки, опубликованной нами как синдром Шпринцена-Гольдберг, вместо ранее описанной мутации в гене FBXN1 была выявлена мутация в гене SCNA1, который связан с синдромом Драве.

Таким образом, в каждом клиническом случае фокальной и генерализованной эпилепсии при выявлении мутации необходимо доказательство ее патогенного эффекта. Случаи, подозрительные в отношении компаунд-гетерозигот, в данный момент сложны для клинической трактовки и дальнейшей молекулярной диагностики. Сохраняется риск ложноположительных и ложноотрицательных заключений как на стадии биоинформатического анализа, так и на этапе клинической интерпретации.

## **NGS И НОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КАРТА РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА**

Глотов О.С.<sup>1,2\*</sup>, Глотов А.С.<sup>1,2,3</sup>, Полякова И.В.<sup>1</sup>, Федяков М.А.<sup>1</sup>, Шиков А.Е.<sup>1,3</sup>, Цай В.В.<sup>1</sup>, Романова О.В.<sup>1</sup>, Барбитов Ю.А.<sup>2,3,4</sup>, Полев Д.Е.<sup>4</sup>, Лобенская А.Ю.<sup>4</sup>, Иващенко Т.Э.<sup>2</sup>, Уразов С.П.<sup>1</sup>, Щербак С.Г.<sup>1,3</sup>, Баранов В.С.<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup>СПб ГБУЗ «Городская больница №40», <sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ АГуР им. Д.О. Отта», <sup>3</sup>ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», <sup>4</sup>ООО «Сербалаб»; Санкт-Петербург

## **NEW GENETIC MAP OF REPRODUCTIVE HEALTH FOR THE DIAGNOSIS OF HUMAN MONOGENIC DISEASES BY NGS**

Glotov O.S.<sup>1,2\*</sup>, Glotov A.S.<sup>1,2,3</sup>, Polyakova I.V.<sup>1</sup>, Fedyakov M.A., Shikov A.E.<sup>1,3</sup>, Tsay V.V.<sup>1</sup>, Romanova O.V.<sup>1</sup>, Barbitoff Y.A.<sup>2,3,4</sup>, Polev D.E.<sup>4</sup>, Labenskaya A.Yu.<sup>4</sup>, Ivashchenko T.E.<sup>2</sup>, Urazov S.P.<sup>1</sup>, Scherbak S.G.<sup>1,3</sup>, Baranov V.S.<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup>City hospital N. 40, <sup>2</sup>Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology n.a. D.O. Ott, <sup>3</sup>St. Petersburg State University, <sup>4</sup>LTD "Cerbalab"; St. Petersburg, Russia  
E-mail: olglotov@mail.ru

На сегодняшний момент для оценки эффективности скрининга нами произведено исследование более 850 экзотов пациентов с разными нозологиями и в контрольной группе. Было показано, что применение NGS секвенирования повышает эффективность диагностики различных моногенных заболеваний в сравнении с другими методами молекулярной биологии. Так для моногенных форм диабета эффективность диагностики возрастает до 55 % [1], для болезни Вильсона-Коновалова до 96 % [2].

Технологии геномного и экзомного секвенирования уже стали стандартным подходом к диагностике наследственных заболеваний. Данные о частоте аллелей из крупных проектов секвенирования экзота и генома, таких как база данных секвенирования генома (gnomAD), имеют решающее значение для интерпретации данных секвенирования. Тем не менее, частоты аллелей могут существенно отличаться в слабо изученных популяциях, таких как население России, не включенных в масштабные мировые проекты. Нами показан широкий спектр ранее не зарегистрированных генетических вариаций, которые имеются в российской популяции, причем до 12% вариаций экзота не представлены в современных базах данных, таких как dbSNP [3]. Выявлено статистически значимое представление «патогенных» вариантов для различных заболеваний, включая синдром Элерса-Данлоса, болезнь Вильсона-Коновалова, фенилкетонурии многих других патологий с рецессивным типом наследования в нашей популяции по сравнению с мировыми данными. При анализе носительства моногенных заболеваний выявлено, что около 30 % «условно здоровых» людей имеют в своем геноме варианты, ассоциированные с моногенными заболеваниями. Таким образом, клинические примеры демонстрируют необходимость более широкого внедрения технологий экзомного секвенирования в медико-генетическую практику.

Учитывая высокую частоту (около 30 %) носительства моногенных заболеваний, уже сегодня становится актуальным предварительное тестирование супругов на носительство моногенных заболеваний с последующим планированием беременности, используя в том числе метод NGS. Данный подход является развитием концепции Карты репродуктивного здоровья человека, сформулированной нами в 2009 году [4]. Установление точного диагноза позволит не только провести пренатальную и/или преимплантационную диагностику, родить здорового ребенка, но и повысить качество жизни пациента.

#### Список литературы

1. Glotov O.S., Serebryakova E.A., Turkunova M.S., Efimova O.A., Glotov A.S., Barbitoff Y.A., Nasykhova Y.A., Predeus A.V., Polev D.E., Fedyakov M.A., Polyakova I.V., Ivashchenko T.E., Shved N.Yu., Shabanova E.S., Romanova O.M., Sarana A.M., Pendina A.A., Scherbak S.G., Musina E.V., Petrovskaya-Kaminskaya A.V., Lonishin L.R., Ditkovskaya L.V., Zhelenina L.A., Tyrtova L.V., Berseneva O.S., Suspitsin E.N., Bashnina E.B., Baranov V.S. Whole-exome sequencing for monogenic diabetes in Russian children reveals wide spectrum of genetic variants in MODY-related and unrelated genes. // *Molecular Medicine Reports* Received March 16, 2019; Accepted August 28, 2019 October 16, 2019.

2. Balashova Mariya S., Tuluzanovskaya Inna G., Glotov Oleg S., Glotov Andrey S., Barbitoff Yury A., Fedyakov Mikhail A., Alaverdian Diana A., Ivashchenko Tatiana E., Shikov Anton E., Romanova Olga V., Sarana Andrey M., Scherbak Sergey G., Baranov Vladislav S., Filimonov Marat I., Zhuchenko Natalya A., Ignatova Tatiana M., Asanov Aliy Y. The spectrum of pathogenic variants of the ATP7B gene in Wilson disease in the Russian Federation // *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2019 Available online 25 October 2019, 126420.

3. Yury A. Barbitoff, Rostislav K. Skitchenko, Olga I. Poleshchuk, Anton E. Shikov, Elena A. Serebryakova, Yulia A. Nasykhova, Dmitrii E. Polev, Anna R. Shuvalova, Irina V. Shcherbakova, Mikhail A. Fedyakov, Oleg S. Glotov, Andrey S. Glotov, Alexander V. Predeus. Whole exome sequencing provides insights into monogenic disease prevalence in Northwest Russia // *Mol Genet Genomic Med*. 2019;00:e964.

4. Баранов В.С., Иващенко Т.Э., Глотов А.С., Глотов О.С., Швед Н.Ю., Асеев М.В., Кречмар М.В., Потин В.В., Зайнулина М.С., Беспалова О.Н., Мозговая Е.В., Ермолинская М.И., Оржанова О.Н., Тарасова М.А., Лаврова О.С. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья: методические рекомендации. Под ред. В. С. Баранова и Э. К. Айламазяна. – СПб.: «Изд-во Н-Л», ООО, 2009. – 66 с.

## ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *GPIIIA*, *ITAG2*, *F13A1* В ФОРМИРОВАНИИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Головченко О.В., Рудых Н.А., Алтухова О.Б.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород*

## STUDY ON THE ROLE OF *GPIIIA*, *ITAG2*, AND *F13A1* GENE POLYMORPHISM IN THE FORMATION OF PREECLAMPSIA

Golovchenko O. V., Rudyh N. A., Altukhova O. B.

*Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod National Research University», Belgorod, Russia*

Email: rudyh@bsu.edu.ru

Преэклампсия – мультисистемное патологическое состояние, возникающее во второй половине беременности (после 20-й недели). Перинатальные потери при ПЭ в 4 раза превышают таковые в группе здоровых женщин. Показатель перинатальной смертности при преэклампсии составляет 23-27%. Выявление ассоциаций генетических факторов при формировании преэклампсии (ПЭ) на сегодняшний момент является малоизученным и актуальным.

**Цель исследования:** Изучение роли полиморфизма генов rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985F13A1 в формировании преэклампсии.

**Материалы и методы:** В группу для исследования были отобраны 183 беременных с преэклампсией и 316 здоровых женщин (контрольная группа). Клиническое и клинико-лабораторное обследование беременных проводилось в Перинатальном центре областной клинической больницы Святителя Иоасафа.Белгорода. Геномную ДНК выделяли из периферической крови и проводили ПЦР в реальном времени. Для исследования полиморфизмов использовали готовые наборы реагентов производства ООО «Синтол». Ассоциации аллелей и генотипов изученных полиморфных генов с развитием преэклампсии оценивали с помощью анализа таблиц сопряженности 2×2 с расчетом критерия  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность и отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом.

**Результаты и обсуждение:** Исследование распределения генотипов полиморфных маркеров изучаемых генов у беременных с преэклампсией и беременных контрольной группы показало, что эмпирическое распределение генотипов соответствовало теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга (HWE) ( $p > 0.05$ ). Нами проведен анализ частот генотипов и аллелей полиморфных локусов трех генов rs5918 *GPIIIa*, rs1126643 *ITAG2*, rs5985F13A1. В результате нашего исследования было установлено, что у беременных с преэклампсией частота гомозигот ТТ гена rs5918 *GPIIIa* составила 70.1%, гетерозигот ТС – 27.2 %, гомозигот СС – 2.7 %, частоты аллелей Т и С равны 83.7 % и 16.3 %

соответственно. У лиц контрольной группы установлены следующие частоты генотипов: ТТ – 73.6 %, ТС – 25.2 %, СС – 1.3 %, частоты аллелей Т и С равны 86.1 % и 13.8 % соответственно; частота гомозигот СС гена rs1126643 ITAG2 составила 31.1 %, гетерозигот СТ – 48.1 %, гомозигот ТТ – 20.8 %, частоты аллелей С и Т равны 44.8 % и 55.2 %, соответственно. У лиц контрольной группы СС равен 32.3 %, СТ – 50.6 %, ТТ – 17.1 %, частоты аллелей С и Т равны 57.6 % и 42.4 %, соответственно; частота гомозигот GG гена rs5985F13A1 составила 54.1%, гетерозигот GT – 32.2 %, гомозигот ТТ – 13.7 %, частоты аллелей G и T равны 70.2 % и 29.8%, соответственно. У лиц контрольной группы установлены следующие частоты генотипов: GG – 48.9 %, GT – 39.9 %, ТТ – 11.2 %, частоты аллелей G и T равны 68.8 % и 31.2 %, соответственно. При сравнительном анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов трех генов rs5918 GPIIa, rs1126643 ITAG2, rs5985F13A1 статистически значимые отличия не выявлены ( $p > 0.05$ ).

**Заключение:** На основании проведенных исследований можно заключить, что генетические полиморфизмы rs5918 GPIIa, rs1126643 ITAG2, rs5985F13A1 не ассоциированы с развитием преэклампсии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОДТИПЫ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ НА ОСНОВЕ МУТАЦИОННОЙ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ

Гончарова Р.И.<sup>1\*</sup>, Смаль М.П.<sup>1</sup>, Никитченко Н.В.<sup>1</sup>, Большакова Д.В.<sup>1</sup>, Ролевич А.И.<sup>2</sup>, Красный С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси*, <sup>2</sup>*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова*

## MOLECULAR SUBTYPES OF BLADDER CANCER BASED ON MUTATIONAL AND EPIGENETIC STATUS OF KEY GENES

Goncharova R.I.<sup>1\*</sup>, Smal, M.P. <sup>1</sup>, Nikitchenko N.V.<sup>1</sup>, Balshakova D.V.<sup>1</sup>, Rolevich A.I.<sup>2</sup>, Krasny S.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus*, <sup>2</sup>*N.N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus*

\*E-mail: R.Goncharova@igc.by

Транскриптомный анализ образцов уротелиальных карцином показал, что две основные формы рака мочевого пузыря (РМП) – РМП без мышечной инвазии (РМПБМИ) и мышечно-инвазивный рак (МИРМП) – существенно различаются между собой на молекулярном уровне. При этом каждая из них характеризуется высокой гетерогенностью и, по данным разных авторов, может включать от 3 до 6 подтипов, представляющих собой отдельные заболевания со специфичным спектром генетических изменений и определенным клиническим течением. В настоящее время отсутствует унифицированная система, позволяющая классифицировать уротелиальные карциномы на различные подтипы. Результаты молекулярного профилирования уротелиальных карцином, полученные различными научными группами с учетом данных об экспрессии генов, не всегда согласуются между собой, а порой, носят и противоречивый характер.

**Цель исследования:** Выявление молекулярных подтипов РМП на основе мутационной и эпигенетической изменчивости ключевых генов канцерогенеза мочевого пузыря, анализ их ассоциации с клиническими параметрами и отдаленными результатами лечения.

**Материал и методы:** В исследование проспективно включены 355 белорусских пациентов с подтвержденным диагнозом РМП, в опухолевом материале которых проведен поиск мутаций в протоонкогенах FGFR3, PIK3CA, HRAS, KRAS, NRAS, в гене-онкосупрессоре TP53, анализ потери гетерозиготности генов CDKN2A, PTEN и RB1, оценка статуса метилирования генов некоторых транскрипционных факторов RUNX3, HOXA9, SOX1, TBX4, а также генов p16 и TIMP3.

Из всех изученных генов для молекулярного типирования были отобраны шесть (FGFR3, PIK3CA, HRAS, TP53, RUNX3, TBX4), структурные или эпигенетические нарушения которых проявляли выраженную связь с теми или иными клинико-морфологическими

параметрами, являющимися классическими прогностическими маркерами. Так, активирующие мутации в протоонкогенах FGFR3, PIK3CA и HRAS более характерны для РМПБМИ, а молекулярные изменения генов TP53, RUNX3 и TBX4 являются превалирующими при МИРМП.

**Результаты и обсуждение:** Сформированы три молекулярных подтипа (МП): МП1, МП2 и МП3, расположенные в порядке увеличения агрессивности заболевания. Первая группа включала опухоли мочевого пузыря, в которых обнаружены только мутации гена FGFR3, только мутации гена HRAS или только сочетание мутаций генов FGFR3 и PIK3CA. В состав МП3 вошли уротелиальные карциномы, которые несли исключительно мутации гена TP53, сочетание мутации TP53 и метилирования RUNX3 или мутации TP53 и метилирования TBX4. К МП2 отнесены опухоли со всеми остальными комбинациями молекулярных изменений отобранных генов.

В группе РМПБМИ МП1 значимо чаще встречался в неинвазивных высокодифференцированных low-grade опухолях, МП3, наоборот, – в инвазирующих подслизистый слой низкодифференцированных high-grade карциномах ( $p < 0.05$ ). Подтип МП3 являлся независимым предиктором высокого риска прогрессирования (HR 75.29, 95%ДИ 7.55-750.9,  $p < 0.001$ ) и неблагоприятного исхода РМПБМИ (HR 30.08, 95%ДИ 3.32-272.2,  $p = 0.002$ ).

В группе МИРМП МП1 зарегистрирован исключительно у пациентов с папиллярными опухолями, не выходящими за пределы органа. В то же время значительная доля уротелиальных карцином, относящихся к МП3, имела солидный характер роста ( $p = 0.001$ ), высокую степень злокачественности ( $p = 0.009$ ) и сопровождалась метастатическим поражением лимфоузлов и/или отдаленных органов ( $p = 0.012$ ). Анализ Каплана-Мейера в группе МИРМП показал, что наиболее высокие уровни 5-летней онкоспецифической выживаемости обнаружены у пациентов с МП1 (80 %), а наиболее низкие – у пациентов с МП3 опухолями (41 %) (log-rank test,  $p = 0.008$ ).

**Заключение:** Таким образом, проведенное нами молекулярное типирование на основе шести генов позволяет выделить в пределах РМПБМИ и МИРМП группы высокого и низкого риска прогрессирования, метастазирования и неблагоприятного исхода заболевания и стратифицировать пациентов для разных видов терапии. Связь МП1 и МП3 с конкретными клинико-морфологическими параметрами и отдаленными результатами лечения, а также спектр составляющих их молекулярных изменений указывают на то, что МП1 соответствует люминальному, а МП3 – базальному подтипу РМП.

## РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 И ЕГО РЕЦЕПТОРА ПРИ АУТОИММУННОЙ ПАТОЛОГИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ

Гончарова Р.И.<sup>1\*</sup>, Яцкив А.А.<sup>1</sup>, Синявская Е.С.<sup>1</sup>, Кужир Т.Д.<sup>1</sup>, Достанко Н.Ю.<sup>2</sup>,  
Чичко А.М.<sup>2</sup>, Ягур В.Е.<sup>2</sup>, Сукало А. В.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>*Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*, <sup>2</sup>*УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь*  
Email: R.Goncharova@igc.by

## POLYMORPHIC VARIANTS OF THE IL6 AND IL6-R GENES IN CHILDREN AND ADULT PATIENTS WITH THE AUTOIMMUNE CONNECTIVE TISSUE PATHOLOGY IN THE BELARUSIAN POPULATION

R.I. Goncharova<sup>1</sup>, H.A. Yatskiu<sup>1</sup>, E.S. Siniauskaya<sup>1</sup>, T.D. Kuzhir<sup>1</sup>, N.Y. Dostanko<sup>2</sup>,  
A.M. Tchitchko<sup>2</sup>, V.E. Yagur<sup>2</sup>, A.V. Sukalo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*  
<sup>2</sup>*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*  
Email: R.Goncharova@igc.by

**Введение:** Аутоиммунные заболевания (АИЗ) детского и взрослого населения, включающие ревматоидный артрит (РА), системную красную волчанку (СКВ) и другую патологию соединительной ткани, относятся к многофакторным болезням и распространены повсеместно. В связи с этим актуальна проблема выяснения молекулярно-генетических основ различных АИЗ с учетом этнической принадлежности пациентов.

**Цель исследования:** Оценить влияние аллельного полиморфизма генов интерлейкина-6 (IL-6) и его рецептора (IL-6R) на вероятность возникновения наиболее распространенных аутоиммунных ревматических заболеваний в Республике Беларусь.

**Материалы и методы:** Общий объем исследуемой выборки детского контингента, генотипированной по полиморфным вариантам генов IL-6 -174 G>C rs1800795, рецептора IL-6R rs2228145 и rs4845618, составил 542 человека и был разделен на четыре группы: 288 детей без аутоиммунных и воспалительных заболеваний (негативный контроль), 127 пациентов с установленным ювенильным идиопатическим артритом (ЮИА), 127 детей с суставным синдромом (СС) различного генеза, 28 детей с установленными диагнозами СКВ и люпус-нефрита. Выборка из 598 взрослых состояла из 187 пациентов с клинически установленным РА, 30 с СКВ и 380 здоровых доноров крови. Молекулярно-генетический анализ осуществляли с помощью ПЦР в реальном времени. Статистическую обработку проводили с использованием онлайн-сервиса VassarStats.

**Результаты и обсуждение:** В группе детей с ЮИА установлена ассоциация заболевания с полиморфным вариантом rs1800795 гена IL-6 как аллеля С (OR [95 % CI] = 1.43 [1.07–1.94], p = 0.018), так и гомозиготного генотипа СС (OR [95 % CI] = OR 2.39 [1.48–3.86],



$p = 0.0008$ ). В то же время минорные аллели в полиморфных локусах гена IL-6R оказались ассоциированы с суставным синдромом отличного от ЮИА генеза, при этом рисковым потенциалом обладали гомозиготы CC (OR 2.07 [1.13–3.78],  $p = 0.00018$ ) и аллель C (OR 1.63 [1.20–2.22],  $p = 0.0018$ ) в локусе rs2228145, а также гомозиготы TT (OR 1.91 [1.19–3.05],  $p = 0.02$ ) и аллель T (OR 1.41 [1.05–1.91],  $p = 0.023$ ) в локусе rs4845618.

Показано, что группы пациентов с ЮИА и СС различаются между собой: так, носители гомозиготы CC в локусе rs1800795 гена IL-6 (OR = 2.01 [1.14 – 3.55],  $p = 0.04$ ) значительно чаще выявляются среди детей с ЮИА, в то время как у детей с СС, напротив, более распространены минорные аллели, а также соответствующие гомозиготные генотипы полиморфных локусов IL6R ( $p = 0.0014$  и  $p = 0.043$  в случае rs2228145;  $p = 0.02$  и  $p = 0.04$  в случае rs4845618).

Также было установлено, что гомозиготный генотип CC в локусе rs1800795 гена IL-6 ассоциирован с РА у взрослых (CC vs. GG+GC,  $p = 0.0456$ , OR 1.52 [1.02 – 2.27]). Характерной особенностью нашей работы является отсутствие связи данного полиморфного варианта с СКВ как у детей, так и у взрослых, что требует дальнейшего изучения, а при подтверждении может стать основой для выделения молекулярно-генетических маркеров, специфических для этих двух заболеваний.

Генотипирование выборки взрослого контингента по локусам IL-6R rs4845618 и IL-6R rs2228145 не выявило статистически значимых различий в распределении наблюдаемых частот аллелей / генотипов. Данные по полиморфизму гена IL-6R в группе РА соответствуют результатам анализа этих полиморфных вариантов у детей, вероятно, демонстрируя их неэффективность в качестве маркеров предрасположенности к ревматоидному артриту детей и взрослых в Беларуси.

**Заключение:** Таким образом, полиморфизм гена IL6 повышает чувствительность белорусской популяции как к ЮИА, так и к РА, тогда как полиморфные варианты гена IL6R (rs2228145, rs4845618), по-видимому, позволяют дифференцировать суставной синдром от ЮИА у детей.

## **СТИМУЛЯЦИЯ Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА АНТИГЕНОМ, ИММОБИЛИЗОВАННОМ НА ЧАСТИЦАХ ИЗ ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ И ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ**

Гошина А.Д.<sup>1,\*</sup>, Вишня А.А.<sup>2</sup>, Сахабеев Р.Г.<sup>3</sup>, Поляков Д.С.<sup>3</sup>, Шавловский М.М.<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУ «Санкт-Петербургский государственный университет», <sup>2</sup>Российский государственный педагогический университет имени А. И. Герцена, <sup>3</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; Санкт-Петербург

## **STIMULATION OF THE T-CELL IMMUNE RESPONSE BY AN ANTIGEN IMMOBILIZED ON POLY (LACTIC ACID) AND POLY (ETHYLENE GLYCOL) BASED PARTICLES**

Goshina A.D.<sup>1,\*</sup>, Vishnya A.A.<sup>2</sup>, Sakhabeev R.G.<sup>3</sup>, Polyakov D.S.<sup>3</sup>, Shavlovsky M.M.<sup>3</sup>  
*St. Petersburg State University, <sup>2</sup>The Herzen State Pedagogical University of Russia, <sup>3</sup>Institute of Experimental Medicine; St. Petersburg, Russia*  
\*E-mail: arina8goshina@gmail.com

В современной медицине большое внимание уделяется технологиям с использованием микро- и наночастиц. Наиболее популярными являются липосомы, фуллерены, углеродные нанотрубки, частицы на основе полимеров и т.д. [1]. Нано- и микрочастицы на основе полимолочной кислоты находят применение в различных отраслях биологии и медицины [2]. Важнейшими преимуществами использования полимерных частиц является их способность к постепенному высвобождению активного агента, позволяющая уменьшить число повторных инъекций [3]. Связанные с частицами антигены активно реагируют с антигенпрезентирующими клетками и, что немаловажно, индуцируют мощный гуморальный иммунный ответ [4].

**Целью данной работы** являлось установление влияния полимерных микро- и наночастиц из полимолочной кислоты (ПМК) и сополимера полимолочной кислоты и полиэтиленгликоля (ПМК-ПЭГ) на развитие клеточного иммунного ответа на иммобилизованный антиген. В задачи работы входили: 1) Получение в очищенном виде модельного белка  $\beta$ 2-микроглобулина человека, сшитого с зеленым флуоресцентным белком ( $\beta$ 2M-sfGFP); 2) Конъюгация модельного белка с частицами на основе ПМК с диаметром 1400 нм, полученных методом одинарной эмульсии, с частицами на основе ПМК-ПЭГ с диаметром 100 нм, полученных методом наноосаждения; 3) Анализ эффективности связывания модельного белка со всеми типами частицам; 4) Иммунизация 4 групп мышей, модельным конъюгатом и контрольным зеленым белком, получение сыворотки крови иммунизированных мышей; 5) Изучение клеточного иммунного ответа у мышей на полученные конъюгаты при внутрибрюшинном введении препаратов.

**Материалы и методы:** Для получения модельного рекомбинантного белка мы использовали метод аффинной хроматографии на никель-агарозном сорбенте. Получение и связывание полимерных частиц с белком осуществляли в Институте высокомолекулярных

соединений Российской Академии Наук. В работе использовали самок-гибридов F1 (СВА х С57BL) массой в среднем 20-25 г (возраст 4-6 месяцев). Для оценки клеточного иммунного ответа использовали метод внутриклеточного окрашивания цитокинов.

**Результаты и обсуждение:** В ходе работы был выделен  $\beta$ 2M-sfGFP, и произведено дальнейшее связывание этого белка со всеми типами частиц. Связывающая способность  $\beta$ 2M-sfGFP к частицам основе ПМК с диаметром 1400 нм составила 2,3 мкг белка на 1 мг частиц. Связывающая способность  $\beta$ 2M-sfGFP к частицам основе ПМК-ПЭГ с диаметром 100 нм, составила 10 мкг белка на 1 мг частиц.

Были проиммунизированы 4 группы мышей. Первую группу мышей иммунизировали конъюгатом частиц на основе сополимера полимолочной кислоты и полиэтиленгликоля диаметром 100 нм с модельным белком. Вторую смесью этих же частиц с модельным белком. Третью – иммунизировали конъюгатом частиц на основе полимолочной кислоты диаметром 1400 нм с модельным белком. Четвёртую – смесью этих же частиц со свободным  $\beta$ 2M-sfGFP.

Сравнение иммунного ответа в группах проводили при помощи непараметрического критерия Краскела-Уоллиса с поправкой Тьюки. Было показано, что количество антигенспецифических Т-клеток фенотипа CD4<sup>+</sup> (Т-хелперы), вырабатываемых к модельному белку, значимо выше при иммунизации мышей конъюгатом частиц и  $\beta$ 2M-sfGFP по сравнению с контрольными группами, где иммунизация проводилась смесью белка и немодифицированных частиц. Такие результаты объясняются тем, что иммунный ответ в данном случае осуществлялся с участием макрофагов и белков второго класса главного комплекса гистосовместимости.

В дальнейшем предполагается приступить к изучению развития Т-клеточного ответа на основе выработки CD8<sup>+</sup> клеток.

#### Список литературы

1. Taylor BR. On the evolution of prokaryotes. *Evol Dev J* 2013, 105:1111.
2. Kim BY, Rutka JT, Chan WC. Nanomedicine. *N Engl J Med* 2010, 363:2434-2443.
3. Panyam J, Labhsetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2012, 64(Suppl): 61-71.
4. Ataman-Önal Y. et al. Surfactant-free anionic PLA nanoparticles coated with HIV-1 p24 protein induced enhanced cellular and humoral immune responses in various animal models *Journal of Controlled Release* 2006, 112(2):175-185.

**ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК КОЖИ БОЛЬНЫХ RDEB,  
АНАЛИЗ МУТАЦИЙ COL VIIA1 И ОСОБЕННОСТЕЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ  
ЭКСПРЕССИИ. МОЖНО ЛИ ВСЕ ПОЛУЧЕННЫЕ ОТЛИЧИЯ ОБЪЯСНИТЬ  
ТОЛЬКО МУТАЦИЯМИ COL VIIA1?**

Гурская Н.Г.<sup>1\*</sup>, Бейлин А.К.<sup>1</sup>, Савостьянов К.В.<sup>2</sup>, Кондратьев Н.В.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, <sup>2</sup> ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» МЗ РФ, <sup>3</sup> ФГБНУ НЦПЗ, Москва

**PRODUCTION OF PRIMARY SKIN CELLS CULTURES FROM RDBE PATIENTS,  
MUTATION ANALYSIS OF COLVIIA1 AND FEATURES OF DIFFERENTIAL  
EXPRESSION. COULD ALL THE OBTAINED DIFFERENCES BE EXPLAINED ONLY  
BY MUTATIONS IN COLVIIA1?**

Gurskaya N.G.<sup>1\*</sup>, Beilin A.K.<sup>1</sup>, Savostyanov K.V.<sup>2</sup>, Kondratyev N.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pirogov RNRMU, <sup>2</sup> NMRC for Children's Health, <sup>3</sup> MHRC, Moscow

\*E-mail: ngurskaya@mail.ru

Врожденный буллезный эпидермолиз (ВБЭ) – гетерогенная группа орфанных генодерматозов, распространенность которых в России не имеет официальной статистики. Среди этих заболеваний наиболее тяжелое – рецессивный ВБЭ (RDEB), вызванный мутациями в гене COLVIIa, кодирующем коллаген VII типа (OMIM 120120). Этот белок образует прикрепляющие фибриллы, связывающие дерму с эпидермисом. В зависимости от мутации, в коже больных либо вообще не формируется эта структура, либо она присутствует частично, вызывая разделение тканей на уровне плотной пластинки зоны базальной мембраны. Спектр клинических проявлений RDEB довольно широк – от локализованных пузырей между слоями дермы на руках и стопах до генерализованных тяжелых форм, при которых страдает не только кожа, но и слизистые оболочки внутренних органов. У больных с тяжелой формой RDEB обнаруживается склонность к развитию высоко агрессивной плоскоклеточной карциномы (SCC), которая диагностируется более чем у 90 % пациентов с RDEB к 55-летнему возрасту. У пациентов с тяжелой формой генерализованного RDEB (RDEB-sev. gen) отмечается раннее метастазирование опухолей и связанная с ним смертность уже в возрасте 30-40 лет. Для больных RDEB показано развитие более агрессивной формы SCC, чем для людей без RDEB. До настоящего времени не существует адекватной терапии для RDEB SCC. В России, в отличие от большинства стран Европы и США, не проводится широкомасштабное секвенирование генома пациентов с ВБЭ при том, что большое популяционное разнообразие в РФ, удаленность и замкнутость некоторых популяций создают предпосылки для накопления орфанных мутаций.

**Цели работы:** создание коллекции пациент-специфических культур клеток, полученных из биоптатов кожи пациентов с ВБЭ, характеристика первичных культур клеток кожи больных ВБЭ и клеток здоровых доноров, идентификация мутаций и анализ дифференциальной экспрессии соответствующих генов в культурах клеток больных RDEB.

**Результаты и обсуждение:** Результаты полноэкзомного секвенирования, подтвержденного методом секвенирования по Сэнгеру, позволили выявить мутации в Col7A1 гене у 5 пациентов, имеющих предварительный диагноз RDEB. Это были следующие мутации: с.425A>G р.К142R в экзоне 3, в гомозиготном состоянии, а также составные гетерозиготные мутации в интроне 5 с.682+1G>A и в экзоне 74 с.6205C>T. Из 3-х описанных ранее мутаций, 2 – мутации сайтов сплайсинга. После получения первичных культур фибробластов дермы и эпидермальных кератиноцитов от больных и здоровых доноров проведен транскриптомный анализ. Биоинформатическое сравнение данных RNAseq позволило выявить набор дифференциально экспрессирующихся транскриптов. С помощью базы данных метаболических путей KEGG PATHWAY показано наличие нескольких кластеров, специфичных для анализируемых групп фибробластов. Помимо очевидных отличий от нормы, связанных с отсутствием структурного белка кожи COL7A1, в клетках пациентов обнаружены несколько дифференциально экспрессирующихся генов – несколько из HOX кластера, металлоредуктаза STEAP4 (TNFAIP9), альдокеторедуктаза AKR1C3. Уровень мРНК гена DPT, кодирующий протеогликан дерматопантин, был приблизительно в 10 раз больше в исследуемой группе клеток RDEB. Ранее было показано, что оверэкспрессия DPT приводит к возрастанию свойств застывания раны у культивируемых дермальных фибробластов. Функция DPT связана с активацией и усилением работы сигнальных каскадов TGFβ. DPT взаимодействует также с декорином (DCN) и конкурирует с ним за связывание с активированным TGFβ. Сайленсинг гена DPT приводит к апоптозу, повышение его экспрессии ассоциируют с пролиферативной активностью клеток. Ранее дифференциальная экспрессия гена, кодирующего DCN, была обнаружена у больных с RDEB разной тяжести. В частности, было показано, что повышение экспрессии DCN связано с более мягким течением RDEB у одного из однояйцевых близнецов, имеющих одну и ту же мутацию в COL7A1 гене.

**Заключение:** Большая гетерогенность первичных культур фибробластов и малые выборки больных и здоровых людей для сравнения транскриптомов не дают возможности говорить о различиях в паттернах экспрессии, ассоциированной с RDEB. Однако есть основания полагать, что помимо мутаций в COL7A1 гене, существует ряд других факторов, определяющих тяжесть проявления симптомов RDEB и, возможно, риск развития на его фоне SCC.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-29-04044.

## ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЯ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ МИКРОРНК-21 ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

Давыдова В.Г.<sup>1\*</sup>, Бежанишвили Т.Г.<sup>2</sup>, Филатова М.Е.<sup>2</sup>, Андреева С.Е.<sup>2</sup>, Полякова А.А.<sup>1</sup>, Зарайский М.И.<sup>2</sup>, Гудкова А.Я.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, <sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург

## CHARACTERIZATION OF CIRCULATING MIRNA-21 LEVEL IN CHRONIC HEART FAILURE IN PATIENTS WITH HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY

Davidova V.G.<sup>1\*</sup>, Bezhanishvili T.G.<sup>2</sup>, Filatova M.E.<sup>2</sup>, Andreeva S.E.<sup>2</sup>, Polyakova A.A.<sup>1</sup>, Zaraiskii M.I.<sup>2</sup>, Gudkova A.Ya.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, <sup>2</sup>I.P. Pavlov First State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation  
\*Email: victoria\_lp@mail.ru

МикроРНК регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне и играют важную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. МикроРНК-21 является предиктором сердечной недостаточности при ишемической болезни сердца, однако ее роль при ХСН у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) мало исследована.

**Цель исследования:** Изучить уровень циркулирующей микроРНК-21 при хронической сердечной недостаточности (ХСН) у пациентов с ГКМП.

**Материалы и методы:** В исследование включены 60 симптомных пациентов с ГКМП в возрасте от 19 до 86 (51.5 [нижний-верхний квартили: 36.2, 65.7]). Контрольную группу составили 44 донора, сопоставимых по возрасту и полу с обследуемыми пациентами.

Тотальную РНК выделяли из плазмы. Изучение уровней экспрессии генов микроРНК проводили методом обратной транскрипции с использованием технологии StemLoop с последующим проведением полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме «реального времени» с помощью микроРНК-специфических праймеров и набора реагентов фирмы «Синтол» на амплификаторе DTLite. Вычисление относительного уровня экспрессии гена микроРНК-21 проводили в соответствии со стандартной процедурой 2-ΔCt. Статистическая обработка осуществлялась с помощью пакетов Microsoft Excel 2010, IBM SPSS.

**Результаты и обсуждение:** В группе ГКМП уровень микроРНК-21 варьировал от 0.13 до 477.7 (4.92 [1.77; 13]) и был статистически значимо выше, чем в группе контроля, в которой этот показатель составил от 0.01 до 9.85 (0.84 [0.55, 1.23]) ( $p = 0.001$ ), соответственно.

В двух случаях (3.3 %) явления ХСН соответствовали I ф.кл., у 40 пациентов (66.7 %) – II ф.кл., у 16 (26.7 %) – III ф.кл. и у двух (3.3 %) – IV ф.кл. по классификации NYHA (New York Heart Association).

В зависимости от тяжести ХСН выделены 2 группы: 1 группа – I-II ф.кл. (n=42), 2 группа – III-IV ф.кл. (n=18). При тяжелой ХСН, соответствующей III-IV ф.кл., уровень микроРНК-21 варьировал от 1.1 до 477.7 (13[3.88; 41]) и был значимо выше ( $p = 0.003$ ), чем у пациентов с I-II ф.кл., в которой этот показатель варьировал от 0.1 до 119.4 (3.25 [1.41, 6.06]). Уровень микроРНК-21 в анализируемых группах значимо выше в сравнении с контролем ( $p < 0.001$ ).

**Заключение:** У пациентов с ГКМП уровень циркулирующей микроРНК-21 значимо выше, чем у здоровых лиц. При тяжелой ХСН обнаружены повышенные уровни микроРНК-21. МикроРНК-21 требует дальнейшего изучения в качестве прогностического биомаркера ХСН.

## **БАНК КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ КАК ОСНОВА ДЛЯ КЛЕТОЧНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ**

Данилова А.Б.\*, Нехаева Н.Л., Авдонкина Н.А., Просекина Е.А., Блохина М.Л., Емельянова Н.В., Скачкова О.В., Новик А.В., Пипиа Н.П., Зозуля А.Ю., Балдуева И.А.  
*ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург*

## **BANK OF SOLID TUMOR CELL LINES AS A BASIS FOR CELLULAR MODELING**

Danilova A.B. \*, Nekhaeva T.L., Avdonkina N.A., Prosekina E.A., Blokhina M.L., Emelyanova N.V., Skachkova O.V., Novik. A.V., Pipia N.P., Zozulya A.U., Baldueva I.A.  
*N.N. Petrov' National Medical Cancer Research Center, Saint-Petersburg*  
\*E-mail: anna\_danilova@bk.ru

В настоящее время созданию клеточных моделей *in vitro* из компонентов опухолей больных придается большое значение, так как экспериментальное клеточное моделирование позволяет изучать механизмы, лежащие в основе канцерогенеза и событий на клиническом уровне, таких как терапевтический эффект, резистентность к тому или иному лечебному воздействию, рецидивирование, метастазирование. Кроме того, исследования с использованием клеточных линий позволяют производить эффективный первичный скрининг лекарственных средств и являются важнейшим инструментом в реализации одного из основных принципов исследований *in vivo*, связанного с уменьшением количества лабораторных животных, используемых во время первичного скрининга лекарств: «замена, сокращение и уточнение».

**Цель работы:** Создать банк охарактеризованных клеточных линий солидных злокачественных новообразований однотипно пролеченных больных.

**Материалы и методы:** За период с 2001 по 2020 гг. обследованы 917 пациентов, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова. Для создания клеточных линий использовали фрагменты солидных опухолей, полученные интраоперационно: 465 образцов меланомы кожи, 121 – сарком мягких тканей и остеогенных сарком, 161 – рака почки, 17 – колоректального рака, 46 – рака молочной железы, 13 – яичников, 15 – предстательной железы, 55 – мочевого пузыря, 24 – легкого. Для выделения опухолевых клеток и длительного культивирования *in vitro* был разработан протокол на основе рекомендаций Freshney, включающий этапы автоматической механической дезагрегации, использования питательной среды DMEM/F12, обогащенной 20 % сыворотки эмбрионов крупного рогатого скота (Биолот, Россия), глутамином (365 мг/л), инсулином (5 мкг/мл), трансферрином (5 мкг/мл), селеном (5 нг/мл) (Invitrogen, USA), с добавлением пенициллина (100 ед/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) (Sigma, USA). Суспензии опухолевых клеток эпителиального происхождения высевали на пластиковую посуду, обработанную 0.2 % раствором желатина (Sigma, USA). По достижении монослоя культуры опухолевых клеток пересевали с использованием



равновесного раствора 0.25 % трипсина и 0.02 % EDTA (Биолот, Россия). Культуры, пассированные 5 раз, подвергали процедуре криоконсервации, которую повторяли каждые 5 пассажей.

**Результаты и обсуждение:** Для характеристики полученных культур злокачественных клеток был создан алгоритм ведения, анализа и создания клеточных линий солидных опухолей пациентов. Наблюдаемые неудачи в культивировании составили в среднем 33.5 % и могут быть классифицированы в четыре основные группы: 1) малое количество опухолевого материала; 2) малая жизнеспособность и/или низкая пролиферативная активность опухолевых клеток; 3) контаминация стромальными клеточными элементами; 4) бактериальная контаминация. Критической точкой культивирования считали 5-й пассаж, после которого клеточную культуру рассматривали как «кандидат» в клеточные линии и проводили первую криоконсервацию культивируемых клеток. Выход жизнеспособных клеточных культур на 5 пассаже составил 60.9 % случаев. Осуществляли анализ пролиферативной активности, миграционного и инвазивного потенциала, экспрессии опухолеассоциированных антигенов (ОАА), продукции иммуносупрессивных факторов. В большинстве случаев до 10-го пассажа культивируемые клетки солидных опухолей сохраняли признаки гистотипической принадлежности, затем в процессе длительного культивирования малигнизированные клетки теряли экспрессию ОАА и антигенов главного комплекса гистосовместимости, что было ассоциировано с увеличением пролиферативной активности, подвижности и продукции спектра факторов, блокирующих функции клеток иммунной системы. Длительное пассирование субкультур злокачественных клеток позволило выделить опухолевые клеточные линии, обладающие стабильными пролиферативными и синтетическими характеристиками в 21.5 % случаев.

**Заключение:** Данное исследование демонстрирует сложность и многоступенчатость процесса создания хорошо охарактеризованных клеточных линий солидных опухолей, обладающих стабильными свойствами, так как генетическая гетерогенность и нестабильность злокачественных новообразований приводит к постоянной эволюции свойств малигнизированных клеток, которая протекает *in vivo* и *in vitro*. Для получения стабильных клеточных линий солидных опухолей необходимо работать с большим количеством исходных образцов, строго воспроизводя условия культивирования, криоконсервации, и осуществлять регулярный мониторинг основных функциональных параметров.

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛЕЙ С  
МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТЬЮ (MSI) И НАГРУЗКОЙ ВИРУСОМ  
ЭПШТЕЙН-БАРР (EBV) ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА**

Данишевич А.М.<sup>1,2</sup>, Поспехова Н.И.<sup>1</sup>, Строганова А.М.<sup>1</sup>, Головина Д.А.<sup>1</sup>, Любченко Л.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский  
исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» МЗ РФ

<sup>2</sup>Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Москвы «Московский  
Клинический Научно-Практический центр имени А.С. Логинова Департамента  
здравоохранения Москвы»

**CLINICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF EPSTEIN-BARR VIRUS-  
POSITIVE (EBV) AND MICROSATELLITE INSTABILITY-ASSOCIATED (MSI)  
TUMORS IN GASTRIC CANCER**

Danishevich A.M.<sup>1,2</sup>, Pospekhova N.I.<sup>1</sup>, Stroganova A.M.<sup>1</sup>, Golovina D.A.<sup>1</sup>, Lubchenko L.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.N. «Blokhin National Medical Research Center of Oncology»

<sup>2</sup>A.S. Loginov Moscow Clinical Research and Practical Center,  
Moscow Healthcare Department; Moscow

E-mail: Danisham7@gmail.com

EBV-ассоциированные и микросателлитно-нестабильные опухоли рака желудка (РЖ) отнесены к отдельным подтипам в молекулярной классификации, опубликованной в 2014 г. исследователями The Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network. Статусы MSI и EBV служат прогностическими и предиктивными маркерами чувствительности к таргетной и иммунотерапии.

**Цель работы:** Выполнить исследование нагрузки вирусом Эпштейн-Барр и уровня микросателлитной нестабильности в парафиновых срезах послеоперационных образцов опухолевой ткани и оценить корреляцию клиническо-морфологических особенностей Эпштейн-Барр-положительных (EBV+) и MSI-опухолей при раке желудка.

**Материалы и методы:** В исследование вошли 150 образцов послеоперационной опухолевой ткани, заключенной в парафиновые блоки, больных РЖ I-IV стадии, проходивших лечение на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 2013 по 2019 гг. включительно. Группа включала 76 женщин и 74 мужчины в возрасте от 16 до 80 лет, средний возраст составил 55.05 лет.

Выделение ДНК из образцов послеоперационной опухолевой ткани, заключенной в парафин, проводилось с использованием набора «Cobas® DNA Sample Preparation Kit» (Roche, Германия) согласно инструкции производителя. В качестве контрольного образца использовали ДНК, выделенную из лимфоцитов периферической крови набором «Проба-ГС-Генетика» (ДНК-технология, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Измерение концентрации и оценку качества ДНК проводили с помощью спектрофотометра «NanoDrop™ Lite» (Thermo Fisher Scientific, США). Статус MSI определялся методом фрагментного анализа на секвенаторе «GenomeLab™ GeXP» (Thermo Fisher Scientific, США)

с использованием пяти квазимономорфных мононуклеотидных маркеров (NR21, NR24, NR27, VAT25, VAT26). Для качественной оценки уровня ДНК вируса Эпштейн-Барр методом ПЦР в реальном времени использовался набор реагентов «РеалБест ДНК ВЭБ (комплект 1)» (Вектор Бест, Россия), полученные результаты оценивались в соответствии с инструкцией производителя.

**Результаты и обсуждение:** Вирусная нагрузка EBV и высокий уровень микросателлитной нестабильности (MSI-High) выявлены в 13 (8.7 %) и 11 (7.3 %) опухолевых образцах, соответственно. Среди них 92.3 % EBV-позитивных ( $n = 12$ ;  $p < 0.05$ ) и 54% MSI-High-неоплазий ( $n = 6$ ;  $p > 0.05$ ) наблюдались у мужчин. Средний возраст манифестации EBV+ РЖ составил 54.5 лет, тогда как MSI – High РЖ – 57.5 лет. Чаще EBV- ассоциированный ( $n=8$ ; 61.5 %) и MSI-High ( $n=7$ ; 63.6 %) рак возникал у пациентов старше 55 лет. В 30.8 % ( $n=4$ ) и 54.5 % ( $n=6$ ) случаев EBV+ рак выявлен на II и III стадиях, соответственно. MSI-High-опухоли чаще диагностировались на III ( $n=6$ ; 54.5 %) стадии, в то время как на I этот тип рака не был выявлен. Половина EBV+ новообразований ( $n=7$ ; 53.85 %) обнаружено в теле желудка, 38.5% ( $n=5$ ) располагались в дне или кардиально. Как и EBV+, MSI – рак преимущественно поражал тело желудка ( $n=5$ ; 45.45 %), в 36.4 % ( $n=4$ ) случаев занимал более одной топографической области, но не наблюдался в антруме и пилорическом отделе желудка. Диффузный и смешанный гистотипы часто ( $n=8$ ; 61.5 %) ассоциировались с нагрузкой EBV, а большинство MSI-High – образцов ( $n=7$ ; 77 %) были представлены кишечной аденокарциномой. В нашем исследовании не выявлены образцы, в которых наблюдалось сочетание высокого уровня MSI и нагрузки вирусом Эпштейн-Барр.

**Заключение:** Результаты проведенного исследования открывают новые возможности для выбора тактики терапевтического лечения больных РЖ в России, что является важным аспектом ввиду агрессивности и гетерогенности опухолей этой локализации. Полученные данные согласуются с показателями в ранее опубликованных зарубежных работах.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТЫ РЕДКИХ ВАРИАНТОВ В ГЕНЕ *PAH* У БОЛЬНЫХ ФЕНИЛКЕТОНУРИЕЙ В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Дерябина С.С.<sup>1,2\*</sup>, Лагутина О.В.<sup>1</sup>, Подолина В.К.<sup>1</sup>, Николаева Е.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ СО «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка», <sup>2</sup>ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»; Екатеринбург

## DETERMINATION THE FREQUENCY OF RARE *PAH* MUTATIONS IN PATIENTS WITH PHENYLKETONURIA IN SVERDLOVSK REGION

Deryabina S.<sup>1,2\*</sup>, Lagutina O.<sup>1</sup>, Podolina V.<sup>1</sup>, Nikolaeva E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical Center "Health Care of Mother and Child", Yekaterinburg

<sup>2</sup>Ural Federal University n.a. the first President of Russia B.N. Yeltsin" Yekaterinburg, Russia

\*E-mail: ssderyabina@gmail.com

Неонатальный скрининг на фенилкетонурию (ФКУ) – одного из самых серьезных наследственных заболеваний, рекомендованных ВОЗ для ранней диагностики, – имеет более чем полувековую историю. Развитие современных технологий молекулярно-генетического анализа позволяет детектировать не только частые мутации, характерные для классической фенилкетонурии, но и редкие генетические варианты, скрывающиеся под маской диагнозов «гиперфенилаланинемия» или «атипичная ФКУ». Проведение расширенной ДНК-диагностики для таких пациентов в большинстве случаев приводит к изменению диагноза с неопределенного «гиперфенилаланинемия» на «фенилкетонурия, мягкая форма», что, несомненно, влечет за собой коррекцию проводимой терапии и изменение статуса больного ребенка и его семьи.

**Целью настоящей работы** был поиск мутаций в гене *PAH* у 39 детей разного возраста из Свердловской области, наблюдавшихся в КДЦ «Охрана здоровья матери и ребенка» Екатеринбурга с диагнозом «гиперфенилаланинемия».

**Пациенты и методы:** В исследовании участвовали 39 семей, молекулярно-генетическое тестирование получили 39 пробандов, 16 сиблингов и 64 родителя. Диагноз «гиперфенилаланинемия» был установлен по результатам неонатального скрининга, клинических наблюдений и данных биохимических анализов крови. Возраст пациентов составил от одного месяца до 19 лет, в этническом отношении более 90 % были русскими, около 10 % являлись представителями национальностей из Средней Азии. Около трети пробандов были протестированы на 25 частых мутаций в Медико-генетическом центре им. Н.П. Бочкова (Москва), у них были выявлены по одной патогенной мутации (в большинстве случаев – мажорная p.R408W), остальные дети (в основном до 2004 года рождения) не имели результатов генетического тестирования. Всем пациентам была проведена прямая ДНК-диагностика гена *PAH* методом секвенирования по Сэнгеру, родителям и сибсам выполнена подтверждающая диагностика обнаруженных семейных вариантов.

**Результаты исследования:** Заменяв традиционный метод скринирования только на частые мутации проведением генетического тестирования PАН, у 35 пациентов (89.8 % случаев) были обнаружены по 2 патогенные мутации, у 4 пациентов (10.2 %) – по 1 мутации. По итогам исследования 39 уральских семей с ФКУ, общий спектр генетических вариантов PАН составил 23 мутации, при этом выборка патогенных аллелей, характерных для популяции Свердловской области, пополнилась 12-ю новыми вариантами: p.R413P, p.V230I, p.R297C, p.F55Lfs\*6, IVS7+1G>A, p.S350Y, p.L444F, p.V245A, p.R241C, p.L348V, p.R68G, p.P119S. В исследуемой когорте детей с наибольшими частотами были зарегистрированы мутации p.R408W, p.A403V, p.R413P (41 %, 9 % и 5.1 %, соответственно). Сравнительно частыми вариантами, кроме указанных, были p.R252W, p.V230I, p.I306V, p.R297C (частота каждого из них составила 3.8 %). Чуть менее распространены оказались варианты p.L48S, p.A300S, IVS4+5G>T – с индивидуальными частотами 2.6 %. Частоту чуть более 1 % имели оставшиеся 13 вариантов измененной последовательности ДНК (p.R261Q, p.P281L, p.F55Lfs\*6, IVS2+5G>C, IVS7+1G>A, IVS12+1, p.S350Y, p.L444F, p.V245A, p.R241C, p.L348V, p.R68G, p.P119S).

**Заключение:** В результате исследования выборки неродственных больных с фенилкетонурией в популяции Свердловской области выявлено широкое разнообразие вариантов генотипов по гену PАН, включая ряд не описанных ранее для региона мутаций различного функционального типа, что несомненно требует расширения линейки общероссийской скрининговой панели ФКУ. В частности, для уральского региона в качестве потенциальных кандидатов определены варианты p.R413P, p.V230I и p.R297C.

## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОМАРКЕРОВ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ ЭПИЛЕПСИИ

Докукина Т.В.<sup>1</sup>, Асташонок А.Н.<sup>2</sup>, Липатова Л.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>РНИЦ психического здоровья, Минск, Беларусь; <sup>2</sup>РНИЦ эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь; <sup>3</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

### A STUDY ON BIOMARKERS OF NEURODEGENERATION IN EPILEPSY

Dokukina T.<sup>1</sup>, Astashonok A.<sup>2</sup>, Lipatova L.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Republic Research and Practice Center for Mental Health, Minsk, Belarus; <sup>2</sup>The Republic Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus; <sup>3</sup>Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

E-mail: l\_lipatova@mail.ru

Существует двусторонняя коморбидность эпилепсии и деменции, что связано с общими механизмами развития гипервозбудимости головного мозга и когнитивного ухудшения (Sánchez MP et al. Tau-Induced Pathology in Epilepsy and Dementia: Notions from Patients and Animal Models. Int J Mol Sci 2018, 19(4):1092). К патогенетическим изменениям при болезни Альцгеймера относятся нарушение метаболизма белка-предшественника амилоида (APP) и его последующее отложение в виде сенильных бляшек, а также гиперфосфорилирование тау-белка (позиции p181, p231) с последующим образованием нейрофибриллярных сплетений («клубков») в ЦНС. Наибольший диагностический потенциал доказан для трех маркеров: амилоида A $\beta$ 40, амилоида A $\beta$ 42 и различных эпитопов фосфорилированного тау-белка, отражающих ключевые патогенетические признаки болезни Альцгеймера. В последние годы было показано, что увеличение или снижение количественных показателей ряда биомаркеров ( $\beta$ -амилоидов, PrP27-30,  $\alpha$ -синуклеина, хантингтина) в плазме крови может усиливать проницаемость сосудов, реактивный астроглиоз, окислительный стресс и т.д., отражая прогрессивность патологического процесса.

**Цель исследования:** изучение биомаркеров нейродегенерации у больных фармакорезистентной эпилепсией (БЭ).

**Материалы и методы:** Уровни  $\beta$ -амилоидов A $\beta$ 1-40 и A $\beta$ 1-42, фосфорилированного тау-белка (ph-Tau) в образцах крови 33 БЭ и 36 здоровых контрольных лиц (ЗК) исследовались методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA).

**Результаты и обсуждение:** Средние значения количественных показателей амилоидов A $\beta$ 1-40, A $\beta$ 1-42 в образцах крови 33 БЭ женского и мужского пола в возрасте от 20 до 70 лет не отличались от таковых у индивидов контрольной группы, подобранных по возрасту и полу, и находились в пределах 0-10 пг/мл для A $\beta$ 1-40, 30-40 пг/мл – для A $\beta$ 1-42. При этом значения ph-Tau у больных эпилепсией почти в три раза превышали показатели нормы (0-10 пг/мл) и составляли 28.64 пг/мл. Уровни фосфорилированного тау-белка, амилоидов A $\beta$ 40, A $\beta$ 42

являются ранними предикторами нейродегенеративного процесса, отражающего ключевые патогенетические признаки болезни Альцгеймера.

**Заключение:** Можно предположить, что наличие гиперфосфорилированного тау-белка может быть сопряжено с последующим образованием нейрофибриллярных сплетений («клубков») в головном мозге и развитием когнитивных нарушений и быть ранним биомаркером нейродегенеративного процесса до развития клинически очерченных стадий деменции, что позволит использовать «терапевтическое окно» для болезнь-модифицирующей терапии.

## **ЭКСПРЕССИЯ МИКРОРНК-27а В КРОВИ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МАРКЕР ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА БЕЗ ПОДЪЕМА СЕГМЕНТА ST**

Драганова А.С.\*, Полякова Е.А., Колодина Д.А., Беляева О.Д., Беркович О.А.,  
Зарайский М.И.

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

## **SERUM EXPRESSION OF MICRORNA-27a AS A POTENTIAL MARKER OF ACUTE CORONARY SYNDROME WITHOUT ST-SEGMENT ELEVATION**

Draganova A.S., Polyakova E.A., Kolodina D.A., Belyaeva O.D., Berkovich O.A.,  
Zarauski M.I.

*First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St Petersburg, Russia*

\*E-mail: anna.s.draganova@gmail.com

В последние годы ведется поиск принципиально новых факторов развития и прогрессирования ишемической болезни сердца (ИБС), к которым, в первую очередь, относятся генетические и эпигенетические маркеры. Среди эпигенетических факторов особую роль отводят микроРНК, осуществляющим регуляцию экспрессии генов, в том числе кандидатных для ИБС, на посттрансляционном уровне. МикроРНК-27а – одна из активно изучаемых микроРНК, ассоциированных с атеросклерозом и ИБС. Вместе с тем, ее роль при остром коронарном синдроме без подъема ST (ОКСБПСТ) до конца не определена и требует уточнения.

**Цель исследования:** Определить уровень экспрессии микроРНК-27а в сыворотке крови у больных ОКСБПСТ, перенесших чрескожное коронарное вмешательство.

**Материалы и методы:** Обследованы 60 больных ОКСБПСТ, которые составили основную группу. Группы сравнения: 80 больных со стабильным течением ИБС и 20 обследованных без атеросклеротического поражения коронарных артерий. За больными ОКСБПСТ проведено проспективное наблюдение длительностью 12 месяцев с целью выявления комбинированной конечной точки (нестабильная стенокардия/инфаркт миокарда, тромбоз стента/функционально значимый рестеноз стента, острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу, летальный исход) и оценки влияния уровня экспрессии микроРНК-27а на риск ее возникновения. Всем пациентам была выполнена коронароангиография. Уровень экспрессии микроРНК-27а определяли в сыворотке крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

**Результаты и обсуждение:** У больных ОКСБПСТ и у больных со стабильным течением ИБС уровень экспрессии микроРНК-27а в сыворотке крови был выше, чем у обследованных без ИБС (3.25 (1.74–5.66) УЕЭ, 1.87 (0.57–4.84) УЕЭ и 1.08 (0.31–2.66) УЕЭ, соответственно;  $p < 0.05$ ). Более того, у больных ОКСБПСТ уровень экспрессии микроРНК-27а в сыворотке крови был выше, чем у больных со стабильным течением ИБС: 3.25 (1.74–5.66) УЕЭ,



1.87 (0.57–4.84) УЕЭ, соответственно;  $p < 0.05$ ). Уровень экспрессии микроРНК-27а в сыворотке крови более 2.07 УЕЭ ассоциирован с повышением риска ОКСб/ПСТ у больных ИБС в 3 раза (ОШ 3.07, 95 % ДИ 1.29-7.27,  $p < 0.05$ ). За время проспективного наблюдения у 39 (37.5 %) больных ОКСб/ПСТ была задокументирована комбинированная конечная точка. Методом одномерной регрессионной модели Кокса было установлено, что экспрессия микроРНК-27а в сыворотке крови не является значимым предиктором возникновения комбинированной конечной точки ( $p > 0.05$ ). Вместе с тем установлено, что у больных, имеющих уровень экспрессии микроРНК-27а в крови, соответствующий среднему тертилю (1.8-4.91 УЕЭ) риск возникновения неблагоприятных событий был выше по сравнению с больными, имеющими уровень экспрессии микроРНК-27а в крови, соответствующий нижнему тертилю ( $< 1.8$  УЕЭ) (ОР 95 % ДИ 5.17 (1.16-23.10),  $p = 0.031$ ).

**Заключение:** Повышение уровня экспрессии микроРНК-27а в сыворотке крови более 2.07 УЕЭ может рассматриваться как потенциальный маркер ОКСб/ПСТ у больных ИБС. Данное обстоятельство, наиболее вероятно, связано с тем, что при ОКСб/ПСТ, микроРНК-27а, являясь кардиоспецифичной молекулой, способна высвобождаться из кардиомиоцитов в циркулирующую кровь и ее уровень в сыворотке крови может повышаться. Вместе с тем, ассоциация уровня экспрессии микроРНК-27а с неблагоприятным прогнозом у больных ОКСб/ПСТ носила нелинейный характер, таким образом, убедительные данные о влиянии микроРНК-27а на прогноз у этой категории больных не были получены.

## **ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕРМИНАЛЬНЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ**

Дрибноходова О.П.\*, Дунаева Е.А., Ярыгина Е.А., Бухарина А.Ю., Лёшкина Г.В.,  
Миронов К.О.

*ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва*

## **APPLICATION OF THE PYROSEQUENCING TECHNOLOGY FOR THE DETERMINATION OF GERMINAL AND SOMATIC MUTATIONS**

Dribnokhodova O.P.\*, Dunaeva E.A., Yarygina E.A., Bukharina A.Yu., Lyoshkina G.V.,  
Mironov K.O.

*Central Research Institute of Epidemiology, Moscow*

\*E-mail: [dribnokhodova@cmd.su](mailto:dribnokhodova@cmd.su)

Определение герминальных и соматических мутаций, ассоциированных с развитием онкологических заболеваний, широко используется для диагностики наследственных опухолевых синдромов, определения предрасположенности к развитию злокачественных новообразований, подтверждения и уточнения диагноза, выбора терапии и предсказания эффективности лекарственных препаратов, мониторинга лечения, прогнозирования течения заболевания и риска рецидива. Пиросеквенирование позволяет выявлять уже известные герминальные и соматические мутации, проводить поиск новых мутаций и при необходимости определять долю мутантного аллеля в количественном формате с высокой чувствительностью.

Обнаружение герминальных мутаций в генах BRCA1/2 может быть использовано для подтверждения диагноза наследственного рака молочной железы и яичников, как маркер эффективности различных лекарственных средств, для оценки риска развития повторных опухолей, а также для выявления лиц, относящихся к группе высокого риска развития онкологических заболеваний, с целью медико-генетического консультирования, проведения профилактических мероприятий и ранней диагностики. С целью выявления частых мутаций в генах BRCA1/2 разработана форма комплектации «BRCA-скрин» набора «АмплиСенс® Пироскрин» (ФБУН ЦНИИЭ, РУ № ФСР 2012/13246), которая позволяет детектировать мутации 5382insC (rs80357906), 4153delA (rs80357711), 300T>G (C61G, rs28897672), 2080delA (rs80357522) и 185delAG (rs80357914) в гене BRCA1, и мутацию 6174delT (rs80359550) в гене BRCA2. Использование пиросеквенирования помимо определения этих мутаций позволяет выявлять редкие генетические варианты и мутации, расположенные в секвенируемых фрагментах (например rs80357783 (BRCA1 185insA) и rs80357407).

Активирующие соматические мутации в генах BRAF, KRAS, HRAS и NRAS приводят к развитию различных типов опухолей, они также ассоциированы с эффективностью некоторых таргетных препаратов. Высокая частота мутаций в гене BRAF при ряде онкологических заболеваний позволяет использовать их для подтверждения и дифференцировки диагноза, а также при решении сложных случаев, например, для уточнения диагноза при неопределенном цитологическом заключении результата тонкоигольной биопсии узловых образований щитовидной железы. Самой частой мутацией

в гене BRAF является p.V600E (с.1799 T>A), ее частота доходит до 90 % – 95 % при разных опухолях. Вторая по частоте – p.V600K, реже обнаруживаются другие мутации в 600, 601, 597 и 594 кодонах. Мутации в генах RAS чаще всего возникают в 12, 13 и 61 кодонах. Разработана методика, которая позволяет определять нуклеотидную последовательность 592-601 кодонов BRAF и выявлять все клинически значимые мутации в этом участке. Разработан алгоритм анализа для дифференцировки мутаций в 600-601 кодонах. Предел детекции методики составляет 1% мутантного аллеля в образце для V600R и V600K, 2 % Тозикова М.А.

Управленческие проблемы в организациях здравоохранения для V600M и 3 % для V600E, независимо от концентрации ДНК (от 100 до 10000 копий в реакцию). Методика определения мутаций в гене KRAS методом пиросеквенирования (PMID: 24340949) позволяет количественно определять все возможные мутации в 12-13 кодонах с пределом детекции 3 %. В настоящее время разрабатываются методики для определения мутаций в 12, 13 и 61 кодонах генов HRAS и NRAS.

Определение соматических мутаций в генах JAK2, MPL и CALR используется в дифференциальной диагностике хронических миелопролиферативных новообразований, для мониторинга уровня клонального гемопоэза при лечении и оценке эффективности терапии. Мутация V617F в гене JAK2 выявляется в 96 % случаев истинной полицитемии, 55 % эссенциальной тромбоцитемии и 45 % – 68 % первичного миелофиброза. Еще 2 % истинной полицитемии связаны с мутациями в 12 экзоне гена JAK2. Мутации в гене MPL, чаще всего W515L/K, обнаруживаются в 4 % случаев при эссенциальной тромбоцитемии и в 8 % – при первичном миелофиброзе. Мутации в гене CALR, чаще всего del152 L367fs\*46 и insTTGTC K385fs\*47, наблюдаются в 67 % случаев при эссенциальной тромбоцитемии и в 88 % – при первичном миелофиброзе. Разработан комплекс методик для определения мутации V617F в гене JAK2 в количественном формате (PMID: 25850251) на основе формы комплектации «ТРОМБО-скрин» набора «АмплиСенс® Пироскрин», для секвенирования области активирующих мутаций в 12 экзоне JAK2, и выявления наиболее часто встречающихся мутаций в 9 экзоне гена CALR и в 10 экзоне гена MPL. Модификация методики с использованием аллель-специфичной ПЦР позволяет определять мутацию V617F с чувствительностью 0.25 % (PMID: 30615403).

В настоящее время в Центральном НИИ Эпидемиологии разрабатываются и уже созданы наборы реагентов и методики для определения ряда герминальных и соматических мутаций, которые могут быть использованы в клинической и научной практике для решения широкого спектра задач.

# ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РЕЦЕПТОРА СЕРОТОНИНА 2А НА ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В КАЧЕСТВЕ БИОМАРКЕРА РАЗВИТИЯ РАССТРОЙСТВ ШИЗОФРЕНИЧЕСКОГО СПЕКТРА И ПРОГНОЗА АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Заботина А.М.<sup>1,2\*</sup>, Грунина М.Н.<sup>1</sup>, Насырова Р.Ф.<sup>3</sup>, Тараскина А.Е.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, <sup>2</sup>ФГБУ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова, <sup>3</sup> ФГБУ Национальный Санкт-Петербург медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии имени В.М. Бехтерева; Санкт-Петербург, Россия

## STUDY OF THE MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF THE SEROTONIN 2A RECEPTOR ON LYMPHOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD AS A BIOMARKER FOR THE DEVELOPMENT OF SCHIZOPHRENIC DISORDER AND PROGNOSIS OF ANTHROSIS

Zabotina A.M.<sup>1,2</sup>, Grunina M.N.<sup>1</sup>, Nasyrova R.F.<sup>3</sup>, Taraskina A.E.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Petersburg Nuclear Physics Institute n.a. B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, <sup>2</sup>First St. Petersburg State Medical University n.a. I.P. Pavlov, <sup>3</sup>National St. Petersburg Medical Research Center for Psychiatry and Neurology n.a. V.M. Bekhterev; St. Petersburg, Russia  
\*E-mail: a.zabotina@gmail.com

Расстройства шизофренического спектра (РШС) – комплекс серьезных психических патологий, нуждающихся в антипсихотической фармакотерапии. Несмотря на огромную эволюцию антипсихотических препаратов, актуально повышение эффективности и безопасности терапии. Рецептор серотонина 2А (5-НТ<sub>2А</sub>) отвечает за стабилизацию дофаминергической нейротрансмиссии в отделах головного мозга, ассоциированных с развитием когнитивных, негативных и позитивных симптомов психических патологий, и является мишенью действия большинства атипичных антипсихотиков не только в ЦНС, но и на лимфоцитах периферической крови (ЛПК).

**Цель работы:** оценить вклад молекулярно-генетических характеристик рецептора 5-НТ<sub>2А</sub> ЛПК (количество белка, относительный уровень экспрессии НТ<sub>2А</sub> и вариантов сплайсинга II экзона гена НТ<sub>2А</sub>: Etr, E2+, E2-) в патогенез РШС и прогноз антипсихотической терапии.

**Материалы и методы:** В исследование включены 112 пациентов мужского пола (31±8 лет) с первым психотическим эпизодом РШС (F20.0 МКБ-10) (n=61) и коморбидным течением РШС с синдромом алкогольной зависимости (САЗ) (F.20.0+F.10.2 МКБ-10) (n=51), рандомно разделенные на две группы фармакотерапии (галоперидол/оланзапин) а также 40 лиц контрольной группы, соответствующих по полу и возрасту. Эффективность терапии определялась по редукции суммарной шкалы PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale). Развитие экстрапирамидных симптомов – по шкалам Barnes Akathisia Rating Scale (BARS) и Simpson Angus Scale (SAS), для акатизии и паркинсонизма, соответственно. Определение

количества белка рецептора 5-HT<sub>2A</sub> проводили с использованием набора ELISA (Cloud-Clone Corp, США), с нормировкой на общий белок (нг/мг клеточного лизата). Количественный анализ транскриптов II экзона HTR2A – методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) в присутствии EVA GREEN. Уровень мРНК гена HTR2A измерялся ПЦР-РВ (TaqMan, Синтол, Россия), референсные гены: GAPDH и АСТВ. Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета программы SPSS версия 21.0 (IBM, USA).

**Результаты и обсуждение:** На фоне фармакотерапии у всех пациентов, включенных в исследование, наблюдался положительный ответ: снижение общего рейтинга по PANSS ( $p < 0.001$ ). При сравнении показателей рецептора 5-HT<sub>2A</sub> между пациентами до начала терапии и контролем, у пациентов с коморбидным течением РШС с САЗ отмечалось более низкие показатели и количества белка 5-HT<sub>2A</sub> ( $p < 0.001$ ) и уровня экспрессии HTR2A ( $p < 0.001$ ); уровень мРНК изучаемых транскрипционных изоформ был повышен по сравнению с контролем как у пациентов с неотягощенным РШС, так и при коморбидном течении заболевания ( $p < 0.001$ ). *Кроме того, непараметрический анализ для связанных выборок показал отсутствие статистически значимых различий в уровне экспрессии Etr, E2- и E2+ у здоровых доноров, в то время как у пациентов с психическими патологиями паттерн экспрессии имел отличия: экспрессия альтернативной E2-изоформы была в 1.3 раза выше при неотягощенном течении РШС ( $p = 0.034$ ) и в 1.9 при коморбидном течении заболевания ( $p < 0.0001$ ), чем конститутивной E2+. Антипсихотическая терапия в течение 28 дней не оказывала влияния на уровень мРНК как всего гена HTR2A, так и изоформ Etr, E2- и E2+. При этом количество белка рецептора 5-HT<sub>2A</sub> статистически значимо снижалось при терапии оланзапином в большей степени, что связано, по всей видимости, с большим аффинитетом препарата к рецептору.*

В ходе исследования не были установлены ассоциации между уровнем мРНК, количеством рецептора и прогнозом терапии: эффективностью, антипсихотик-индуцированным набором веса, развитием негативных экстрапирамидных симптомов. Отмеченная выше редукция количества белка наблюдалось только в случаях безопасной терапии, при развитии негативных побочных эффектов (как набора веса, так и развития экстрапирамидных симптомов) снижение количества рецептора 5-HT<sub>2A</sub> не происходило.

**Заключение:** изменение паттерна транскрипции II экзона *HTR2A* ассоциировано с развитием психических патологий. Снижение количества рецептора 5-HT<sub>2A</sub> в ЛПК при антипсихотической терапии – маркер безопасности проводимой терапии.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-315-00321.

## ГИСТОПРОТЕОМИКА ПРИ ОЧАГОВОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Забродская Ю.М.<sup>1\*</sup>, Герасимов А.П.<sup>2,3</sup>, Ситовская Д.А.<sup>1</sup>, Соколова Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>«Российский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова» — филиал ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, <sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, <sup>3</sup>ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова МЗ РФ; Санкт-Петербург

## HISTOPROTEOMICS OF FOCAL EPILEPSY

Zabrodskaya Yu.M.<sup>1\*</sup>, Gerasimov A. P.<sup>2,3</sup>, Sitovskaya D. A.<sup>1</sup>, Sokolova T. V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polenov Neurosurgical Institute – branch of the Almazov National medical research center, <sup>2</sup>Almazov National Medical Research Centre, <sup>3</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; St. Petersburg, Russia

\*E-mail: zabrjulia@yandex.ru

Современный подход к изучению этиопатогенеза различных заболеваний включает в себя исследование генетической основы и продуктов их работы, частью которой является протеомика. Полиморфность проявлений эпилепсии, трансформация одних видов эпилепсий в другие, а также существование фармакорезистентных форм, определяют сложность диагностики и влекут за собой неправильную тактику лечения [сообщение комиссии ИЛАЕ, 2004] Подобная ситуация убедительно демонстрирует необходимость поиска новых методологических подходов для патогенетической базы, необходимой для разработки новых медикаментозных методов лечения, поскольку в настоящее время при рефрактерной эпилепсии основным является хирургический метод.

**Цель работы:** Определить возможность использования тканевых образцов эпилептических очагов для исследования протеомики фармакорезистентной эпилепсии (ФРЭ).

**Материалы и методы:** Исследован биопсийный материал фрагментов височной доли и гиппокампа ПАО РНХИ им. проф. А.Л. Поленова, полученный интраоперационно от 16 пациентов с локально обусловленной ФРЭ в возрасте от 21 до 54 лет. Изучались гистологические срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, толуидиновым синим по методу Ниссля, по Шпильмейеру. Иммуногистохимический метод использован для определения функционального состояния клеток по экспрессии белков S100, GFAP, Vim, NF, caspase-3.

**Результаты и обсуждение:** При гистологическом исследовании фрагментов височной доли и гиппокампа в зоне эпилептической активности были выявлены фокальная кортикальная дисплазия (ФКД) в 87.5 %; гетеротопия (ГТ) нейронов в белое вещество; реактивно-деструктивные изменения нейронов (РДИ: дистрофические изменения нейронов, саттелитоз, апоптоз) – в 100 %; атрофия коры – в 12.5 %, т.н. «склероз» гиппокампа – в 18.8 %, глиоз – в 100 %.

При иммуногистохимическом исследовании диморфные нейроны экспрессировали нейрофиламенты, в отличие от обычных нейронов коры. Накопление нейрофиламентов в дисморфных нейронах – нарушение метаболизма и белкового состава клетки. В измененных участках экспрессия белка S100 выявлялись во всех структурах головного мозга, в коре подчеркивая форму тела нейронов, кроме того, интенсивность окраски ярко выражена в цитоплазме нейронов белого вещества с глиозом. GFAP-положительная реакция отмечалась в фиброзных астроцитах коры, выявляя неравномерное распределение этих клеток с участками интенсивного скопления и участками их отсутствия. Обращало на себя наиболее выраженная реакция GFAP в астроцитах субкортикальной зоны. Обнаруживались Vim-положительные клетки с умеренной степенью интенсивности окрашивания в коре и слабо положительная реакция клеток в белом веществе головного мозга в очагах глиоза. Установленное изменение экспрессии белков S100, Vim, GFAP глиоцитов свидетельствует об активации глиальных элементов в эпилептических очагах при локально обусловленной фармакорезистентной эпилепсии, которая может являться результатом повреждения ткани в очаге эпилептической активности. Во всех случаях у больных с эпилепсией выявлена экспрессия caspase-3 в глиоцитах и нейронах с преимущественной локализацией в коре височной доли. Глио-нейрональный апоптоз может влиять на прогрессирование заболевания, создавая условия для развития эпилептического статуса и когнитивных расстройств.

**Заключение:** Изменения экспрессии генов нейроспецифических белков в эпилептическом очаге могут являться выходом на генетические повреждения при эпилепсии, что позволит найти новые пути эпилептогенеза и разработки новых подходов в лечении эпилепсии.

**ВАРИОМНЫЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ ЧИСЛА КОПИЙ  
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК (CNV) С ПОМОЩЬЮ АЛГОРИТМА  
«ЦИКЛИЧЕСКОЙ ФИЛЬТРАЦИИ» (LAUNDERING)**

Зеленова М.А.<sup>1,2</sup>, Юров Ю.Б.<sup>1,2</sup>, Ворсанова С.Г.<sup>1,2</sup>, Куринная О.С.<sup>1,2</sup>, Юров И.Ю.<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;

<sup>2</sup>ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

<sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия

**VARIOMIC ANALYSIS OF DATA OF COPY NUMBER VARIATIONS OF DNA  
SEQUENCES (CNV) BY MEANS OF ALGORITHM OF “CYCLIC FILTRATION”  
(LAUNDERING)**

Zelenova M.A.<sup>1,2</sup>, Yurov Y.B.<sup>1,2</sup>, Vorsanova S.G.<sup>1,2</sup>, Kurinnaia O.S.<sup>1,2</sup>, Iourov I.Y.<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Mental Health Research Center, <sup>2</sup>Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National University

<sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education; Moscow, Russia

\*E-mail: ivan.iourov@gmail.com

Приоритизация геномных данных является в настоящее время одним из важнейших методов определения фенотипических последствий вариаций генома (в частности, вариаций числа копий последовательностей ДНК или CNV) и механизмов заболеваний. Одним из основных направлений современных геномных исследований является анализ нарушения функционирования головного мозга при нервных и психических болезнях. В подобных работах приоритизация геномных данных направлена на выявление патологической значимости вариаций генома, которые предположительно приводят к нарушению работы головного мозга. Мы разработали алгоритм «циклической фильтрации» (laundering) данных, предназначенный для приоритизации и исследования информации о CNV у пациентов с нарушением функционирования головного мозга (например, умственная отсталость, аутизм, эпилепсия). Алгоритм содержит семь последовательных стадий обработки данных о CNV. На первом этапе данные сравниваются с внутренними и внешними базами данных для выявления повторяющихся и непатогенных CNV. На втором этапе происходит сбор данных об экспрессии генов; в дальнейший анализ включаются только CNV, содержащие гены, преимущественно экспрессирующиеся в различных областях головного мозга. На третьем этапе получают данные о взаимодействиях генов, затронутых каждой потенциально патогенной CNV. На четвертом этапе формируется интерактом – сеть взаимосвязанных элементов с генами, затронутыми «отфильтрованными CNV» как в каждом индивидуальном геноме, так и в группе исследованных индивидуумов. На пятом этапе получают данные о геномных сетях, в которые вовлечены элементы интерактома. На шестом этапе полученные геномные сети приоритизируют. На седьмом этапе значимые геномные сети кластеризуют в соответствии с онтологическими характеристиками



(набор специфических свойств отдельных генов и кластеров генов). Предложенный нами алгоритм был применен к большому массиву (191) геномных данных о CNV, полученному при исследовании детей с нарушениями функционирования головного мозга (умственная отсталость и заболевания аутистического спектра) с помощью молекулярного кариотипирования методом SNP array (Affymetrix Cytoscan HD). Были выявлены 13 значимых кластеров геномных сетей (39 процессов/475 генов), вероятно вовлеченных в фенотипические проявления у данной группы пациентов. Наиболее значимыми после приоритизации были определены такие кластеры геномных сетей, как «протеосома», «нейродегенеративные заболевания», «регуляция TP53», «функционирование везикул», «передача сигналов с помощью NOTCH», «функционирование актина». Таким образом, разработанный алгоритм выявления измененных молекулярных путей при заболеваниях головного мозга может быть использован для выявления механизмов заболевания и анализа корреляций генотип-фенотип. Результаты применения «циклической фильтрации» могут также быть применены для разработки терапевтических стратегий при терапии болезней психики.

Работа выполняется при финансовой поддержке РФФИ и СИТМА в рамках научного проекта № 18-515-34005.

## **СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ МЕТОДАМИ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ И ОТ-ПЦР У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ**

Зеркаленкова Е.А., Михайлова Е.В., Кашпор С.А., Солдаткина О.И., Илларионова О.И.,  
Лебедева С.А., Масчан А.А., Масчан М.А., Новичкова Г.А., Ольшанская Ю.В., Попов А.М.  
*ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ, Москва*

## **COMPARISON OF THE MINIMAL RESIDUAL DISEASE ASSESSMENT BY FLOW CYTOMETRY AND RT-PCR IN CHILDREN WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA**

Zerkalenkova E.A., Mikhailova E.V., Kashpor S.A., Soldatkina O.I., Illarionova O.I., Lebedeva  
S.A., Maschan A.A., Maschan M.A., Novichkova G. A., Olshanskaya Yu.V., Popov A.M.  
*Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology,  
Oncology and Immunology, Moscow  
Email: eazerkalenkova@gmail.com*

Уровень минимальной остаточной болезни (МОБ) является важным фактором в оценке эффективности терапии острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Для определения МОБ при ОМЛ используются два основных метода – многоцветная проточная цитометрия (МПЦ) и полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). В связи с гетерогенностью опухолевой популяции, а также способностью лейкемических клеток изменять свой иммунофенотип и/или генетические особенности в процессе терапии, при мониторинге МОБ одним из двух методов могут возникать как ложноотрицательные, так и ложноположительные результаты, приводящие к ошибкам в тактике дальнейшего лечения пациентов.

**Цель исследования:** сравнение результатов оценки МОБ методами ОТ-ПЦР и МПЦ при у детей с различными генетическими вариантами ОМЛ, а также на разных этапах терапии.

**Материалы и методы:** В исследование были включены 153 образца костного мозга от 59 пациентов с ОМЛ за период с февраля 2018 года по январь 2020 года. 45 пациентов получали лечение по национальному протоколу ОМЛ-MRD 2018, остальные – по протоколам группы BFM. Панель антител для МПЦ состояла из двух пробирок: CFU (CD38-FITC, CD371-PE, CD34-ECD, CD117-PC5.5, CD33-PC7, CD99-APC, CD123-APC-A700, CD45RA-APC-A750, HLA -DR-PB, CD45-KrO) и LAIP (CD15-FITC, CD34-ECD, CD117-PC5.5, CD33-PC7, CD14-APC-A700, CD11b-APC-A750, HLA-DR-PB, CD45-KrO) (Beckman Coulter, США). Образец считали МОБ-положительным, если он содержал кластер по меньшей мере из 50 опухолевых клеток, которые удовлетворяли по меньшей мере двум из трех критериев: отличие от нормальных клеток; наличие лейкоз-ассоциированного иммунофенотипа, обнаруженного во время диагностики; наличие незрелого иммунофенотипа. Экспрессию химерных транскриптов измеряли с помощью ОТ-ПЦР в режиме реального времени и нормализовали по контрольному транскрипту ABL. МОБ определяли количественно

как десятичный логарифм отношения нормализованного числа копий исследуемого транскрипта на лечении к нормализованному числу копий в инициальной точке.

**Результаты и обсуждение:** Из 59 пациентов, включенных в исследование, у 22 была обнаружена  $t(8;21)(q22;q22)/AML-ETO$  (55 образцов), у 8 –  $inv16/t(16;16)/CBF\beta-MYH11$  (23 образца), у 26 – различные транслокации с участием гена  $KMT2A$  (64 образца). Минорные генетические подгруппы были представлены  $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$  (2 пациента, 6 образцов) и  $t(10;11)(p11-15;q21)/PICALM-MLLT10$  (1 пациент, 5 образцов). При сравнении результатов оценки МОБ с помощью ОТ-ПЦР и МПЦ самая низкая сходимость наблюдалась для  $RUNX1-RUNX1T1$  (56,4%), тогда как для ОМЛ с перестройками  $KMT2A$  она была близка к 100%. Общая сходимость для 153 образцов составила 77,8%. Для 80 образцов пациентов, получавших терапию по протоколу ОМЛ-MRD 2018, сравнивали результаты МФЦ и ОТ-ПЦР в различных точках лечения. Самая низкая сходимость наблюдалась после консолидации НАМ (точка 2, 61,5%), самая высокая – после индукции или на 42 день блока АМЕ (точка 1, 71,4%), что может быть связано с обеднением костного мозга клеточными элементами после индукционной терапии. Среди образцов, для которых были получены дискордантные результаты двух методов оценки МОБ, 33 из 34 были отрицательными по данным МПЦ и положительными по данным ОТ-ПЦР. Все эти образцы были получены от пациентов с  $CBF-OML$ . Одним из возможных объяснений расхождения в результатах определения МОБ двумя методами является достоверно более низкий детектируемый уровень химерного транскрипта в МОБ-негативных по данным МПЦ образцах по сравнению с МОБ-позитивными в нашем исследовании (33 и 25 образцов соответственно,  $p = 0.017$ ). Другой вероятной причиной более низкой сопоставимости результатов двух методов определения МОБ при  $CBF-OML$  является более высокая в сравнении с другими генетическими вариантами ОМЛ изменчивость иммунофенотипа опухолевых клеток в процессе терапии. Нами было показано, что в половине случаев ОМЛ с  $RUNX1-RUNX1T1$  опухолевые клетки утрачивают коэкспрессирующиеся лимфоидные маркеры, которые бы могли помочь в гейтировании лейкоэмической популяции при определении МОБ. В противоположность этому,  $KMT2A$ -ассоциированные ОМЛ демонстрировали более стабильный иммунофенотип. Таким образом, для повышения уровня точности определения МОБ при ОМЛ может быть использовано сочетание ОТ-ПЦР и МПЦ.

Определение МОБ методом ОТ-ПЦР при ОМЛ с перестройками гена  $KMT2A$  было поддержано грантом РФФИ № 17-29-06052.

## **КОРРЕЛЯЦИИ ГЕНОТИП-ФЕНОТИП ПРИ АКРОЦЕФАЛОСИНДАКТИЛИИ**

*Иванов В.П.<sup>1\*</sup>, Герасимов А.П.<sup>1,2</sup>, Ким А.В.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, <sup>2</sup>ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург*

## **GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATIONS IN ACROCEPHALOSYNDACTYLY**

*Ivanov V.P.<sup>1\*</sup>, Gerasimov A. P.<sup>1,2</sup>, Kim A.V.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, <sup>2</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; St. Petersburg, Russia*

*\*E-mail: dr.viom@gmail.com*

Акроцефалосиндактилии – группа патологических состояний, проявляющихся краниосиностозами с деформацией головы и микроцефалией различной выраженности, а также, во многих случаях, синдактилиями. В нее включают: I тип – синдром Апера-Крузона (ОМIM: 101200), II тип – синдром Карпентера 1 типа (ОМIM: 201000), III тип – синдром Сетре-Хотцена (ОМIM: 101400), IV тип – синдром Гудмана (ОМIM: 201020), V тип – синдром Пфейффера (ОМIM: 101600). К ним близки синдромы Робинова (ОМIM: 180750), Джексона-Вейсса (ОМIM: 123150), Антли-Бикслера (ОМIM: 207410), Баллера-Герольда (ОМIM: 218600), Мюнке (ОМIM: 602849), а также черепно-лобно-носовая дисплазия (ОМIM: 304100) и глазо-зубо-пальцевой синдром (ОМIM: 164200). Особое положение занимает синдром Потоки-Шеффера (ОМIM: 601224), возникающий вследствие делеции области 11p12-p11.2. Фенотипически сходную картину дает фетальный аминоптериновый синдром.

Большая часть вышеуказанных моногенных состояний относится к аутосомно-доминантным, что в клинической практике означает переменную пенетрантность и экспрессивность, включая стертые малосимптомные формы. С учетом возможных случаев спонтанных мутаций семейные истории таких пациентов могут существенно отличаться от классического менделевского наследования.

С позиций молекулярной генетики значительная часть акроцефалосиндактилий ассоциирована с мутациями в генах рецепторов фактора роста фибробластов. Так, с мутациями в гене FGFR2 связаны синдромы Апера, Крузона, Пфейффера, Сетре-Хотцена, Джексона-Вейсса, Антли-Бикслера и др. При этом разные мутации могут давать несколько отличающиеся фенотипы. С геном FGFR1 также ассоциированы синдромы Пфейффера, Джексона-Вейсса и др. Мутации в гене FGFR3 могут приводить к развитию синдромов Крузона, Мюнке, но также и заболеваний группы гипо- и ахондроплазий.

С учетом поражения одних и тех же генов и сходства клинической картины отмечается тенденция слияния синдромов. Так, синдром Апера-Крузона клинически и генетически перекрывается с синдромом Пфейффера. Синдром Гудмана в последние годы рассматривается

как частный случай синдром Карпентера. Отмечается фенотипическая близость синдрома Мюнке к синдрому Сетре-Хотцена при несколько различном спектре мутаций.

Таким образом, группа акроцефалосиндактилий представлена группой синдромов со сходной клинической картиной, и связанных с мутациями в одних и тех же генах, в основном – рецепторов к фактору роста фибробластов. Намечается тенденция к слиянию синдромов по мере уточнения их клинической картины и характера мутаций. В силу хорошего витального прогноза и сохранного интеллекта при своевременной коррекции краниостеноза адекватная клиническая и молекулярная диагностика определяют прогноз для последующих поколений.

## **АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ПРАВОВОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ БИОБАНКИРОВАНИЯ: ВОПРОСЫ ТЕОРИИ И ПРАКТИКИ**

Иванов Д.В.

*Санкт-Петербургский государственный архитектурно-строительный университет, Россия*

## **BIOBANKING LEGAL REGULATION ACTUAL PROBLEMS: THEORY AND PRACTICE ISSUES**

Ivanov D.V.

*St. Petersburg State University of Architecture and Civil Engineering, Russia*

E-mail: ivanov.main@gmail.com

Биобанкирование, несмотря на наблюдаемое в нашей стране, – по крайней мере последнее десятилетие, – бурное развитие, продолжает пребывать в «серой правовой зоне». Необходимость принятия специального законодательства о биобанкировании по-прежнему является темой для обсуждения.

Тем не менее, существует ряд принципиальных вопросов, которые нуждаются нормативной регламентации. В частности, следует определиться с понятийным аппаратом в сфере биобанкирования, в первую очередь выработать формально-юридический подход к определению биобанка. Исходя из этого, должны быть установлены нормативные требования к структурам управления и условиям деятельности биобанков (в том числе, в области технического регулирования), а также наиболее подходящие для управления биобанковскими коллекциями организационно-правовые формы. В каких случаях и в каком порядке должны формироваться контрольно-надзорные органы, осуществляющие полномочия в сфере биобанкирования? Должны ли в каждом случае создаваться комитеты по этике, или они необходимы только в отношении крупномасштабных исследований?

Большое количество вопросов связано с поисками оптимального правового режима объекты биобанкирования. Среди них необходимость признания и содержание имущественных прав на биообразцы и биобанковские коллекции (право собственности, исключительные права и др.); обеспечение прав и законных интересов доноров в отношении соответствующего биоматериала (в частности, право на возврат биоматериала) и информации (например, условия отзыва согласия на обработку персональных данных, право на доступ к результатам исследований); право третьих лиц на доступ к биообразцам, а равно возможность приобретать на них какие-либо права и др. Здесь также нет однозначных ответов.

Особое внимание должно быть уделено проблематике обработки персональных данных и обеспечения конфиденциальности информации в рассматриваемой сфере. Действующее информационное законодательство достаточно подробно регулирует соответствующие правоотношения. Однако оно абсолютно не учитывает «семейную природу» генетической информации. Вызывают дискуссии перспективы использования полученной биобанками

информации со стороны органов государственной власти. В отношении геномной информации вполне обоснованно ставится под сомнение возможность гарантировать анонимность таких данных в принципе. Применительно к биобанкированию приходится подвергнуть сомнению традиционный (индивидуалистический) подход к обеспечению конфиденциальности информации.

Не менее актуальными являются вопросы оформления информированного согласия, которое должно быть получено от донора биологического материала. Не секрет, что российское законодательство предусматривает оформление двух разных по своему содержанию и предназначению документов: (1) информированного добровольного согласия гражданина или его законного представителя на медицинское вмешательство; (2) согласия субъекта персональных данных на обработку его персональных данных. Однако биобанкирам было бы удобнее работать, используя единое, по возможности унифицированное, информационное согласие. Поэтому на практике нередко приходится сталкиваться с тем, что оформляется суррогатный документ, который содержит в себе как отдельные элементы информированного добровольного согласия на медицинское вмешательство, так и элементы согласия на обработку персональных данных. Некоторые идут дальше, предпринимая таким образом попытки легализовать передачу прав на биоматериал. Какой юридической квалификации заслуживает подобная практика – вопрос дискуссионный.

Требует научного обсуждения перспектива нормативного закрепления в практике биобанкирования «общего», или «широкого», информированного согласия, призванного упростить бюрократические процедуры и уменьшить юридические риски, сопровождающие работу биобанков. В качестве альтернативы широкому информированному согласию может быть востребован зарубежный опыт правового регулирования в таких странах, как Великобритания, Канада, Исландия и др.

## **ВОЗМОЖНОСТИ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ**

Исупова Н.Ю.  
*ООО Аналит Продактс*

### **CAPACITIES OF PHYSICAL-CHEMICAL METHODS OF THE ANALYSIS FOR CLINICAL DIAGNOSTICS**

Isupova Natalia  
*Analit Ltd*  
E-mail: isupova@analit-spb.ru

Исследование молекулярных и генетических основ этиологии и патогенеза заболеваний необходимо для ранней диагностики и разработки эффективной терапии. Реализация такого подхода требует получения информации о молекулярном составе организма. Речь идет об информации о составе и концентрации метаболитов в биологических жидкостях, тканях, составе белков, а также об информации о составе на генном уровне.

Проведение быстрой и надежной диагностики становится неразрывно связанным с аналитическими методами, обеспечивающими определение химического состава на молекулярном и внутримолекулярном уровнях.

Таким методом в первую очередь является хроматомасс-спектрометрия (ХМС). Хроматографическая колонка обеспечивает разделение компонентов сложной смеси на составляющие, а масс-детектор регистрирует индивидуальные соединения и дает возможность идентификации на основании информации об их масс-спектрах.

В настоящее время ХМС используется в клинической практике для определения некоторых классов соединений, информация о концентрации которых дает возможность врачу делать диагностическое заключение. Это стероидные гормоны, витамины, ацилкарнитины, аминокислоты, катехоламины. Кроме того, возможно проведение мониторинга содержания в организме назначаемых лекарственных препаратов.

Помимо перечисленных приложений, связанных с анализом конкретных целевых компонентов, ХМС позволяет определять огромное количество соединений, что открывает возможности поиска веществ-маркеров, связанных с определенными типами заболеваний. В мире уже существуют разработки, в результате которых на основе масс-спектрометрических исследований выявлены вещества-маркеры, позволяющие диагностировать ранние стадии колоректального рака, рака поджелудочной железы, а также идентифицировать типы опухолей надпочечников. Продемонстрирована продуктивность такого подхода для диагностики болезни Альцгеймера.

Японская компания Shimadzu известна как крупнейший мировой производитель оборудования для медицинской диагностики и в то же время как производитель широчайшей



линейки аналитических приборов, включая хроматомасс-спектрометры, оборудование для элементного анализа. Благодаря технологиям сверхбыстрого детектирования аналитические приборы Shimadzu успешно внедряются в практику лабораторий, занимающихся молекулярной диагностикой, а также научных лабораторий. Разнообразие типов выпускаемых Shimadzu приборов обеспечивает поддержку медико-биологических исследований на всех уровнях – метаболомном, протеомном, генетическом, включая визуализацию распределения молекул в тканях.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ЭТИОТРОПНОГО ЛЕЧЕНИЯ ВРОЖДЕННЫХ СКЕЛЕТНЫХ МИОПАТИЙ

Карпичева О.Е.<sup>1\*</sup>, Аврова С.В.<sup>1</sup>, Редвуд Ч.С.<sup>2</sup>, Боровиков Ю.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Россия, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>Университет Оксфорда, Великобритания, Оксфорд

## MOLECULAR BASES OF ETIOTROPIC TREATMENT OF CONGENITAL SKELETAL MYOPATHIES

Karpicheva O.E.<sup>1\*</sup>, Avrova S.V.<sup>1</sup>, Redwood C.S.<sup>2</sup>, Borovikov Y.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russia <sup>2</sup>University of Oxford, UK, Oxford

\*E-mail: olexiya6@ya.ru

Известно, что мутации в генах тропомиозина и других мышечных белков могут инициировать возникновение редких врожденных заболеваний скелетной мышечной ткани человека, характеризующихся слабостью и гипотонией мышц. Клинические симптомы скелетных миопатий, как правило, проявляются в раннем детском возрасте. Осложнения, вызванные дисфункцией мышц, варьируются от легкой степени сколиоза и задержки развития двигательных функций до трудностей в передвижении и дыхательной и сердечной недостаточности. Вариант скелетной миопатии диагностируется на основании гистологического анализа биоптатов мышечной ткани и обнаружения специфических ультраструктурных особенностей. Однако гистологических признаков часто недостаточно для постановки диагноза, а клинические и генетические критерии этой группы заболеваний крайне неоднородны. Отсутствие ранней дифференциальной диагностики миопатий и недостаточность данных о молекулярных механизмах мышечной дисфункции является причиной того, что эффективной этиотропной терапии скелетных миопатий не существует.

Целью работы является исследование влияния мутаций в тропомиозине, связанных с несколькими вариантами скелетной миопатии, на структуру и функционирование актин-миозинового мотора, а также разработка основных подходов к лечению дисфункции скелетных мышц на молекулярном уровне. Наше внимание концентрируется на механизмах немалиновой и кэп-миопатии, CFTD и DA, а также неспецифических вариантов миопатий, не охарактеризованных до сих пор. Исследование проводится в одиночном мышечном волокне при моделировании различных стадий АТФазного цикла с помощью метода поляризационной микрофлуориметрии, обладающего высокой чувствительностью к конформационным перестройкам мышечных белков. Специфическая модификация мономеров актина, моторного домена миозина и тяжелой тропомиозина с помощью флуоресцентных зондов позволяет получить приоритетные данные о конформационных перестройках актина и миозина и об отличительных особенностях регуляции тропомиозином актин-миозинового взаимодействия в присутствии мутаций в тропомиозине.

Показано, что мышечная слабость может быть вызвана аномальным изменением позиции тропомиозина на тонких нитях и количества миозиновых мостиков в конформации сильного связывания с актином в ответ на изменение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в саркоплазме. Для CFTD и DA типичным было «замораживание» тропомиозина в открытой позиции и тонких нитей во включенном состоянии, а также резкое увеличение количества миозиновых мостиков, сильно связанных с актином. Немалиновая и кэп-миопатия характеризовались, наоборот, смещением тропомиозина и/или его «замораживанием» в блокирующей позиции, исключением тонких нитей и резким снижением количества миозиновых мостиков в сильно-связанной конформации. Мутации, ассоциированные с немалиновой миопатией, в отличие от кэп-миопатии, вызывали более сильное ингибирование образования сильной формы связывания миозина с актином при высоких концентрациях  $\text{Ca}^{2+}$ .

На основании полученных данных о молекулярных механизмах влияния мутаций на поведение регуляторных и сократительных белков можно предложить пути для реабилитации сократительной способности. С целью увеличения чувствительности саркомера к  $\text{Ca}^{2+}$  и активации миозина можно применять активаторы быстрого скелетного тропонина. Однако для мутаций, которые вызывают уменьшение  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительности тонких нитей и вместе с тем включение тонких нитей уже при низкой концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ , будет неприемлемо использование реагентов, увеличивающих способность тропонина активировать включение мономеров актина, но целесообразно использование реагентов, усиливающих работу миозиновых мостиков. Этот же подход следует применять для тех мутаций, которые вызывают увеличение  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительности тонкой нити, но ингибируют способность тропонина включать мономеры актина при высоких концентрациях  $\text{Ca}^{2+}$ . Для мутаций, которые приводят к увеличению  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительности тонких нитей, но не нарушают способность тропонина выключать мономеры актина при низких концентрациях  $\text{Ca}^{2+}$ , использование ингибиторов тропонина будет являться неадекватным подходом к восстановлению сократительной функции. Для лечения таких патологий целесообразно использовать реагенты, вызывающие ингибирование работы миозина. Таким образом, влияя на структурное состояние тропонин-тропомиозинового комплекса и миозина с помощью активаторов и ингибиторов тропонина и миозина можно скорректировать аномальную работу сократительной системы при различных скелетных мышечных патологиях.

Исследование выполняется при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00523.

## АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ МИКРОРНК У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ РАКОМ ПОЧКИ

Климентова Е.А.<sup>1\*</sup>, Гилязова И.Р.<sup>1</sup>, Султанов И.Р.<sup>2</sup>, Кабиров И.Р.<sup>2</sup>, Измайлов А.А.<sup>2</sup>, Искакова Г.М.<sup>3</sup>, Виноградов Я.Г.<sup>3</sup>, Назарова А.В.<sup>4</sup>, Павлов В.Н.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, <sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», <sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы», <sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Уфа

## ANALYSIS OF MICRORNA BINDING SITES POLYMORPHIC VARIANTS IN PATIENTS WITH METASTATIC RENAL CELL CARCINOMA

Klimentova E.A.<sup>1\*</sup>, Gilyazova I.R.<sup>1</sup>, Sultanov I.R.<sup>2</sup>, Kabirov I.R.<sup>2</sup>, Izmailov A.A.<sup>2</sup>, Iskakova G.M.<sup>3</sup>, Vinogradov Y.<sup>3</sup>, Nazarova A.V.<sup>4</sup>, Pavlov V.N.<sup>2</sup>, Khusnutdinova E.K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics, UFRC RAS, <sup>2</sup>Bashkir State Medical University, <sup>3</sup>Bashkir State Pedagogical University n.a. M. Akmulla, <sup>4</sup>Bashkir State University, Ufa, Russia  
\*E-mail: lissa987@yandex.ru

Почечно-клеточная карцинома (ПКК) является распространенной почечной неоплазией различных морфологических типов, среди которых светлоклеточная ПКК встречается наиболее часто. МикроРНК – короткие некодирующие РНК длиной 18-25 нуклеотидов, которые взаимодействуют по комплементарному принципу с 3'-нетранслируемыми областями мРНК-мишеней. Было показано, что многочисленные гены, участвующие в патогенезе ПКК, такие как VHL, PTEN, HIF1- $\alpha$ , mTOR, являются мишенями микроРНК (Chow et al., 2010). Ряд исследований указывает на потенциальную связь SNP в сайтах связывания микроРНК с развитием злокачественных новообразований и их прогрессированием. Изменение характера взаимодействия с сайтом связывания микроРНК в результате единственного нуклеотидного замещения может способствовать изменению экспрессии генов-мишеней, участвующих в возникновении и развитии опухолей.

**Цель исследования:** анализ полиморфных вариантов, располагающихся в сайтах связывания микроРНК генов VHL-HIF-зависимого пути (CDCP1 rs6773576, DEC1 rs10982724, TFRC rs406271, MAPK1 rs743409, MAPK1 rs9607241, TSC1 rs10491534, VHL rs1642742).

**Материал и методы:** Образцы ДНК, выделенные из периферической венозной крови 86 пациентов с метастатическим раком почки и 343 индивидов контрольной группы без онкологических заболеваний. Определение ассоциации аллелей и генотипов полиморфных вариантов сайта связывания микроРНК осуществлялось с помощью метода дискриминации аллелей TaqMan с использованием прибора CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System.

**Результаты и обсуждение:** При сравнении группы больных с метастатическим раком почки со здоровыми индивидами были выявлено, что аллель rs10491534\*С гена TSC1 является маркером тяжелого течения рака почки ( $p = 0.044$ ; OR=1.72 (CI=1.012-2.911)), а генотип

rs10491534\*TT ( $p = 0.044$ ;  $OR=0.55$ ;  $(95\%CI=0.31-0.98)$ ) гена TSC1 являлся протективным маркером в отношении развития ПКК тяжелого течения. TSC1 – ген, кодирующий белок туберозного склероза – ключевого интегратора сигналинга ростовых факторов. Белок TSC1 подавляет рост и пролиферацию клеток, ингибируя мишень комплекс рапамицина 1 в клетках млекопитающих (mTORC1) (Thien A. et al., 2015). При сравнительном анализе частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs1642742 гена VHL было показано, что генотип rs1642742\*GG ( $p=0,0381$ ;  $OR= 1.84$ ;  $95\% CI (1.03–3.31)$ ) выявлялся у пациентов с метастатическим скПКК в возрасте 55 лет и старше значительно чаще обнаруживался у пациентов, являясь маркером повышенного риска развития заболевания. Схожие результаты были представлены в исследовании Wen-Chung Wang et al., где частота аллеля G в rs1642742 была намного выше при поздних стадиях карциномы почек у пациентов из Тайваня (Wang et al., 2014).

**Заключение:** Важной задачей молекулярно-генетических исследований в области онкологии является совершенствование методов профилактики и своевременного лечения онкологических заболеваний и, как следствие, снижение уровня заболеваемости и смертности. Полиморфные варианты могут служить маркерами для оценки риска развития и прогнозирования течения различных заболеваний, в том числе рака почки. Полученные в данном исследовании результаты вносят вклад в формирование панели молекулярных маркеров, тем не менее, требуются дальнейшие крупные исследования в данной области.

#### Список литературы

1. Chow TF, Youssef YM, Lianidou E et al. Differential expression profiling of microRNAs and their potential involvement in renal cell carcinoma pathogenesis. Clin Biochem. 2010 Jan;43 (1-2):150-8. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.07.020.
2. Thien A, Prentzell MT, Holzwarth B et al. TSC1 activates TGF- $\beta$ -Smad2/3 signaling in growth arrest and epithelial-to-mesenchymal transition. Dev Cell. 2015 Mar 9;32(5):617-30.
3. Wang WC, Tsou MH, Chen HJ et al.: Two single nucleotide polymorphisms in the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in Taiwanese with renal cell carcinoma. BMC Res Notes. 2014 Sep 12;7:638. doi: 10.1186/1756-0500-7-638.

## ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ В ИДЕНТИФИКАЦИИ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАЗВИТИЕМ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ У ДЕТЕЙ

Кожанова Т.В.<sup>1,2</sup>, Жилина С.С.<sup>1,2</sup>, Мещерякова Т.И.<sup>1</sup>, Осипова К.В.<sup>1</sup>, Айвазян С.О.<sup>1</sup>,  
Заваденко Н.Н.<sup>2</sup>, Притыко А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «НПЦ специализированной медицинской помощи детям имени В.Ф. Войно-Ясенецкого ДЗМ», Москва, <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва

## THE EXPERIENCE USING OF WHOLE EXOME SEQUENCING IN IDENTIFICATION OF MUTATIONS IN GENES ASSOCIATED WITH DEVELOPMENT OF HEREDITARY EPILEPSY IN CHILDREN

Kozhanova T.V.<sup>1,2</sup>, Zhilina S.S.<sup>1,2</sup>, Mescheryakova T.I.<sup>1</sup>, Osipova K.V.<sup>1</sup>, Ayvazyan S.O.<sup>1</sup>,  
Zavadenko N.N.<sup>2</sup>, Prityko A.G.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> St. Luka's Clinical Research Center for Children, Moscow

<sup>2</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

E-mail: vkozhanov@bk.ru

**Цель исследования:** Оценка эффективности современных методов генетических исследований в диагностике наследственной эпилепсии.

**Материалы и методы:** Совместно с врачами-эпилептологами обследованы 80 пациентов с эпилепсией, задержкой психомоторного и речевого развития. С целью описания клинической картины заболевания проведена подробная фенотипическая оценка, видео-ЭЭГ, КТ и МРТ головного мозга. Молекулярно-генетические исследования проводились методом NGS (таргетное экзомное секвенирование – панель генов «Наследственная эпилепсия» и полноэкзомное секвенирование). У всех пациентов получено информированное согласие на проведение генетического тестирования.

**Результаты и обсуждение:** Пациенты, включенные в исследование, находятся на длительном наблюдении и терапии в психоневрологическом отделении ГБУЗ «НПЦ спец. мед. помощи детям ДЗМ». Все пациенты были консультированы врачами-генетиками. 22 пациентам с целью поиска мутаций в генах было выполнено таргетное экзомное секвенирование (панель генов «Наследственная эпилепсия»). У 10 (45.5 %) пациентов выявлены мутации в следующих генах: CLCN2, KIAA2022, SETD5, DOCK7, PIGN, HCN1, GRIN2B, SCN1A, ADNP, MECP2.

58 пациентов были обследованы с использованием полноэкзомного секвенирования. У 42 (72%) пациентов были выявлены патогенные варианты в следующих генах: PCDH19, NECAP1, CEP290, ATAD3A, CHAMP1, GUF1, SCN1A, TNRC6A, HIVEP2, ASH1L, ALG13, IQSEC2, TRIO, TSC2, STXBPI, FGF12, EFHC1, KCNQ2, KCNC1, CDH15, MECP2, BRPF1, SCN9A, TRRAP, CHD2, IRF2BPL, DNMI, SCN8A, GRIN2D, NEB, NF1, DOCK8, KIF1A, CACNA1A, SPTAN1, CACNA1H, SETD2, HNRNPU, KCNB1, GNAO1, GRIN2A, GABRB2.

У 28 пациентов мутации не обнаружены, что вероятно предполагает либо негенетическую природу заболевания, либо присутствие варианта нуклеотидной последовательности в некодирующей части гена (интрон), которая не попадает в регион покрытия при использовании данной технологии, или хромосомной перестройки.

В настоящее время считается, что 70–80% случаев эпилепсии имеют генетическую причину, в то время как оставшиеся 20–30% ассоциированы с приобретенными состояниями, такими как инсульт, черепно-мозговая травма и опухоли головного мозга. В обзорной статье по проблеме генетических аспектов эпилепсии, Wang J. et al 2017 показали, что с развитием судорог ассоциированы 977 генов: 84 гена, вызывающих эпилепсию как основной симптом; 73 неврологических гена, связанных с развитием мозга и эпилепсией; 536 гена, связанных с эпилепсией, где судороги являются симптомом другого неврологического расстройства; и 284 гена потенциальной эпилепсии.

**Заключение:** Генетическое тестирование рекомендуется при всех формах наследственной эпилепсии. Технические возможности современного генетического тестирования значительно улучшились с появлением NGS и интегративного анализа всей клинически значимой информации. Полученные нами данные иллюстрирует клиническую диагностическую значимость полноэкзомного секвенирования и показывают эффективное взаимодействие врача-эпилептолога и врача-генетика в отборе пациентов с учетом критериев для проведения данного исследования. Выявление генетической причины заболевания имеет большое значение для медико-генетического консультирования и определения стратегии противоэпилептической терапии в этой группе пациентов. Как следствие, можно ожидать, что генетическое тестирование будет проводиться на более раннем этапе диагностического обследования больных с эпилепсией. Возможно, генетические тесты будут включены в стандартизированные программы медицинского сопровождения пациентов, и лечение больных с генетическими формами эпилепсии станет действительно персонализированным.

#### Список литературы

1. Myers KA., Johnstone DL., Dymont DA. Epilepsy genetics: Current knowledge, applications, and future directions. Clin Genet. 2019; 95(1):95-111.
2. Wang J., Lin Z. J., Liu L., Xu H. Q., Shi Y. W., Yi Y. H., He N., Liao WP. Epilepsy-associated genes. Seizure. 2017; 44:11-20.
3. Dunn P., Albury C. L., Maksemous N., Benton M. C., Sutherland H. G., Smith R. A., Haupt L. M., Griffiths L. R. Next Generation Sequencing Methods for Diagnosis of Epilepsy Syndromes. Front Genet. 2018; 9:20.
4. Berkovic S. F. Genetics of epilepsy in clinical practice. Epil. Curr. 2015; 15:192-196.

## **РОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ У ДЕТЕЙ С НЕРВНО-ПСИХИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ: РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Колотий А.Д.<sup>1,2\*</sup>, Ворсанова С.Г.<sup>1,2</sup>, Путинцев А.Н.<sup>1</sup>, Демидова И.А.<sup>1,2</sup>, Куринная О.С.<sup>1,2</sup>,  
Кравец В.С.<sup>1,2</sup>, Юров И.Ю.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ОСП «НИКИ им. Акад. Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, <sup>2</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», <sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия

## **CHROMOSOMAL INSTABILITY IN CHILDREN WITH NERVOUS AND MENTAL DISEASES: RETROSPECTIVE ANALYSIS OF CYTOGENETIC RESEARCHES**

Kolotii A.D.<sup>1,2\*</sup>, Vorsanova S.G.<sup>1,2</sup>, Putintsev A.N.<sup>1</sup>, Demidova I.A.<sup>1,2</sup>, Kurinnaia O.S.<sup>1,2</sup>,  
Kravets V.S.<sup>1,2</sup>, Iourov I.Y.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National University, <sup>2</sup>Mental Health Research Center, <sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education, Moscow, Russia

\*E-mail: kolotiyad@yandex.ru

Роль геномной нестабильности в возникновении нервно-психических заболеваний остается недооцененной. Тем не менее, данные литературы указывают на то, что нестабильность генома может являться значимой причиной таких нервно-психических заболеваний, как аутизм, шизофрения, болезнь Альцгеймера, онкологические заболевания, а также связана с нарушением репродуктивной функции у супружеских пар.

**Цель исследования:** Ретроспективный анализ хромосомной нестабильности у детей, проходивших цитогенетическое обследование в НИКИ педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева, с нервно-психическими заболеваниями, пороками и малыми аномалиями развития.

**Материалы и методы:** Проведен ретроспективный анализ результатов цитогенетических исследований 4780 детям с задержкой психоречевого, психомоторного развития, аутизмом, пороками и малыми аномалиями развития, поступивших на обследование из различных регионов РФ. Хромосомные препараты лимфоцитов периферической крови получены в результате 72-часового культивирования на питательных средах, не индуцирующих ломкость хромосом. Цитогенетическое исследование проведено на дифференциально окрашенных хромосомных препаратах с использованием GTG- и CBG-окрашивания. Наличие хромосомной нестабильности (неспецифические структурные, численные аномалии и фрагильность хромосом) учитывалось в случае обнаружения 3-х и более хромосомных aberrаций в 30-ти проанализированных метафазных пластинках. При статистической обработке применен метод регрессионного анализа.

**Результаты и обсуждение:** Хромосомная нестабильность выявлена у 265 детей, что составило 5.5 % от всей когорты детей. Частота хромосомной нестабильности по годам была следующей: 1999 г. – 0.8 %, 2000 г. – 0.5 %, 2001 г. – 1.0 %, 2002 г. – 0 %, 2003 г. – 0.6 %, 2004 г. – 0 %, 2005 г. – 0.6 %, 2006 г. – 2.5 %, 2007 г. – 5.1 %, 2008 г. – 3.4 %, 2009 г. – 7.8 %, 2010 г. – 6.8 %, 2011 г. – 9.3 %, 2012 г. – 5 %, 2013 г. – 6 %, 2014 г. – 7.7 %, 2015 г. – 12.5 %;



2016 г. – 5.8 %, 2017 г. – 10.6 %, 2018 г. – 10.7%, 2019 г. – 12.3 %. Статистический анализ показал значимую положительную динамику выявляемости хромосомной нестабильности за последние 20 лет ( $p < 0.0001$ ). Следует отметить, что помимо увеличения, отмечается изменение характера хромосомной нестабильности. Если в начале 2000-х годов она была представлена в основном фрагильностью хромосом, то в последние годы, помимо фрагильности, стало больше таких структурных аномалий, как неспецифические транслокации, инверсии и делеции отдельных хромосом.

Известно, что одним из проявлений нестабильности хромосом (генома) является повышенная частота таких неспецифических хромосомных аномалий, как фрагильность хромосом, анеуплоидии, наличие в кариотипе дополнительных маркерных хромосом, ацентрических парных фрагментов, структурных хромосомных перестроек. Полученные нами данные о положительной динамике в выявляемости хромосомной нестабильности в когорте детей с нервно-психическими заболеваниями согласуются с данными об увеличении частоты идиопатических форм аутизма, а также онкологических заболеваний, и таким образом заставляют обратить пристальное внимание на проблему геномной (хромосомной) нестабильности в популяции. С внедрением метода молекулярного кариотипирования появилась возможность выявления множественных нарушений генома у детей с нервно-психическими заболеваниями, причиной которых, вероятно, также может являться нестабильность генома у детей и их родителей. В случаях сочетания двух генетических синдромов у одного ребенка, наличия в семье двух и более детей с различными генетическими аномалиями, и в случаях множественных аномалий генома у детей, необходимо обследование родителей на наличие хромосомной нестабильности для корректного медико-генетического консультирования. Помимо выявления хромосомной нестабильности цитогенетическим методом, определение мутаций в генах, связанных с репарацией ДНК и клеточным циклом, молекулярными методами также является актуальной задачей.

**Заключение:** Таким образом, наши результаты, а также данные литературы указывают на значимость проблемы геномной (хромосомной) нестабильности не только у больных детей, но также и у их родителей. Существующее и ожидаемое увеличение частоты нестабильности генома требует активного изучения этого явления с использованием цитогенетического и молекулярно-цитогенетических методов исследования.

Работа выполняется при финансовой поддержке РФФИ и СИТМА в рамках научного проекта № 18-515-34005.

## УРОВЕНЬ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА ЭКЗОСОМ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ СИНУКЛЕИНОПАТИЯХ

Кулабухова Д.Г.<sup>1,2\*</sup>, Николаев М.А.<sup>1,2</sup>, Сенкевич К.А.<sup>1,2</sup>, Безрукова А.И.<sup>1</sup>, Верлов Н.А.<sup>1</sup>, Варфоломеева Е.Ю.<sup>1</sup>, Штам Т.А.<sup>1</sup>, Усенко Т.С.<sup>1,2</sup>, Емельянов А.К.<sup>1,2</sup>, Шварцман А.Л.<sup>1</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБГУ «Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П. Константинова Национального Исследовательского Центра «Курчатовский Институт», Гатчина  
<sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

## ALPHA-SYNUCLEIN LEVEL OF BLOOD PLASMA EXOSOMES IN SYNUCLEINOPATHIES

Kulabukhova D.G.<sup>1,2\*</sup>, Nikolaev M.A.<sup>1,2</sup>, Senkevich K.A.<sup>1,2</sup>, Bezrukova A.I.<sup>1</sup>, Verlov N.A.<sup>1</sup>, Varfolomeeva E.Y.<sup>1</sup>, Shtam T.A.<sup>1</sup>, Usenko T.S.<sup>1,2</sup>, Emelyanov A.K.<sup>1,2</sup>, Shwartsman A.L.<sup>1</sup>, Pchelina S.N.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Petersburg Nuclear Physics Institute n.a. B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, <sup>2</sup>First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russia

\*E-mail: kulabuhova\_dg@pnpi.nrcki.ru

Синуклеинопатии – группа заболеваний, включающая в себя болезнь Паркинсона (БП), деменцию с тельцами Леви (ДТЛ) и мультисистемную атрофию (МСА). В основе патогенеза синуклеинопатий лежит накопление и агрегация белка альфа-синуклеина в головном мозге. Молекулярные механизмы синуклеинопатий, как и механизм распространения альфа-синуклеина от клетки к клетке, остаются неизвестными. Последние данные указывают на возможность распространения агрегатов белка альфа-синуклеина от клетки к клетке с помощью небольших экстраклеточных везикул (40-100 нм), экзосом [1]. Показано, что экзосомы спинномозговой жидкости (СМЖ), полученные от пациентов с БП, содержат патогенные формы альфа-синуклеина, которые могут инициировать олигомеризацию альфа-синуклеина в клетках-реципиентах. Обсуждается, что уровень альфа-синуклеина экзосом плазмы крови и СМЖ может быть рассмотрен в качестве потенциального маркера БП [2].

**Целью данного исследования** являлась оценка уровня альфа-синуклеина экзосом плазмы крови пациентов с БП, ДТЛ, МСА и в контрольной группе.

**Материалы и методы:** В исследование вошли 32 пациента с БП, 14 пациентов с ДТЛ, 11 пациентов с МСА и 16 индивидуумов без неврологических заболеваний. Экзосомы были получены из 200 мкл плазмы периферической крови с использованием набора Echo-Prep (HansaBioMed, Эстония). Размеры и концентрация экзосом были определены методом анализа траектории наночастиц (NTA) с использованием анализатора NTA NanoSight®LM10 (Malvern Instruments). Количественный анализ экзосомального поверхностного маркера CD9 проведен с использованием набора Echo-FACS (Lonza, Эстония) методом проточной цитометрии на приборе CytoFlex (Beckman Coulter, США). Лизис экзосом периферической крови

осуществлялся с использованием набора Total Protein Extraction Kit (Chemicon (Millipore), США). Уровень белка альфа-синуклеина в лизатах экзосом оценивался методом ИФА с использованием набора Sensolyte Anti-alpha-Synuclein Quantitative ELISA Kit (Human) (AnaSpec, США).

**Результаты:** Уровень белка альфа-синуклеина в экзосомах плазмы крови в группе пациентов с БП составил 392.06 (92.69-833.04) пг/мл, в группе пациентов ДТЛ – 720.17 (34.15-865.65) пг/мл, в группе пациентов с МСА – 783.96 (230.46-852.68) пг/мл и в контроле – 486.00 (163.5-849.87) пг/мл. Показана повышенная концентрация альфа-синуклеина в экзосомах плазмы крови у пациентов с ДТЛ и МСА, в сравнении с группой пациентов с БП ( $p = 0.043$  и  $p = 0.005$ , соответственно).

**Вывод:** Уровень альфа-синуклеина экзосом плазмы крови может являться потенциальным биомаркером дифференциальной диагностики синуклеинопатий.

#### Список литературы

1. Delenclos et al., 2017 Delenclos M., Trendafilova T., Mahesh D. et al. Investigation of Endocytic Pathways for the Internalization of Exosome-Associated Oligomeric Alpha-Synuclein. *Front. Neurosci.* 2017. – V11, P.172.
2. Stuenkel A., Kunadt M., Kruse N. et al. Induction of  $\alpha$ -synuclein aggregate formation by CSF exosomes from patients with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Brain.* 2016. – V.139, P.481-494.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-315-90059.

## КЛЕТОЧНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ПРИ СИНДРОМЕ КОККЕЙНА

Куранова М.Л.<sup>1\*</sup>, Ноздрачева А.В.<sup>2</sup>, Плескач Н.М.<sup>1</sup>, Слизов П.А.<sup>3,4</sup>, Щугарева Л.М.<sup>5</sup>  
<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии РАН; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого; <sup>3</sup>Военно-Медицинская Академия им. Кирова; <sup>4</sup>Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена; <sup>5</sup>Детская городская больница №1; Санкт-Петербург

### CELL FEATURES OF DERMAL FIBROBLASTS AT COCKEYN SYNDROME

Kuranova M.L.<sup>1\*</sup>, Nozdrachena A.V.<sup>2</sup>, Pleskach N.M.<sup>1</sup>, Slizhov.<sup>3,4</sup>, Schugareva L.M.<sup>5</sup>  
<sup>1</sup>Institute of Cytology of the Russian Academy of Science; <sup>2</sup>Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University (SPbPU), <sup>3</sup>The S. M. Kirov Military Medical Academy, <sup>4</sup>Herzen State Pedagogical University of Russia, <sup>5</sup>City Children's Hospital №1; St. Petersburg, Russia  
\*E-mail: miryakuranova@gmail.com

Синдром Коккейна (Cockayne syndrome, CS), также называемый синдромом Нил-Дингуолл (Neill-Dingwall), это редкое аутосомно-рецессивное, нейродегенеративное расстройство, характеризующееся недостатком роста, лейкодистрофией, аномальной чувствительностью к солнечному свету (фотосенсибилизация) и преждевременным старением. В основе расстройства лежит дефект механизма эксцизионной репарации ДНК. В отличие от других дефектов репарации ДНК, пациенты с CS не предрасположены к раку или инфекции. Синдром Коккейна различают CSA и CSB типы с мутациями в генах ERCC8 (OMIM:609412) на хромосоме 5q11 и ERCC6 (OMIM:609413) на хромосоме 10q11.

**Цель исследования:** изучить флюоресценцию маркеров старения HP1 gamma, гистонов H3K9me3 и H3K27me3; гистоновых деацетилаз SIRT1 и SIRT6; состояние ядерной ламины и количество ассоциированной со старением фермента бета галактозидазы в линии дермальных фибробластов от пациентов с клинически поставленным диагнозом Синдром Коккейна.

**Материал и методы:** Линии от 4-х пациентов (2-х, 5-ти, 7-ми и 13-ти лет) и 2-х здоровых доноров (10-ти и 23-х лет) получали миграционным способом из биоптатов кожи после проведения биопсии кожи под местным обезболиванием или после проведения операций. Полученные линии исследовали методом непрямой иммунофлуоресценции и при помощи окрашивания коммерческим набором на бета галактозидазу. В качестве первых антител использовали IgG мыши к белкам LMNA A/C (Abcam, США), H3K9me3 и SIRT1 (Thermo Scientific, США) и IgG кролика к белкам p53BP1 (Abcam, Великобритания). В качестве вторых антител использовали конъюгат антитела козы против IgG мыши или кролика, конъюгированные с Alexa Fluor 488 и 546 (Invitrogen, США) в разведении 1:500. Для предотвращения быстрого выгорания иммунофлуоресцентных красителей препараты заключали с помощью реагента SlowFade Gold Antifade с DAPI (Invitrogen, США).

Изображения с окрашенных препаратов получали с помощью флюоресцентного инвертированного микроскопа AXIOVERT200-DFC420 (Carl Zeiss AG, Германия), используя камеру Leica DFC 420 и объектив 40x/0,75; а также фильтры FilterSet 02/10/15. Для полной картины состояния клеточной популяции относительно окрашиваемого белка, исследовалась разное распределение интенсивности флуоресценции: как среднее, так и нормальность распределения. Препараты после окрашивания антителами к LMNA A/C снимали на конфокальном микроскопе а Leica Microsystems. Препараты после окрашивания на фермент бета-галактозидаза снимали на флюоресцентном инвертированном микроскопе AXIOVERT200-DFC420 (Carl Zeiss AG, Германия), приравнивая оптическую плотность фермента его количеству. Оптическая плотность измерялась в программе PhotoM 1.21.

**Результаты и обсуждение:** Исследование состояния ядерной ламины дермальных фибробластах показали ее истощение в клетках всех пациентов с CS, образуя «ободок». Исследование средней интенсивности флуоресценции клеточных маркеров HP1gamma, H3K9me3, H3K27me3, SIRT1 и SIRT6 выявило статистически значимое снижение интенсивности флуоресценции HP1gamma не во всех клетках пациентов CS, а только у двух из четырёх; статистически значимое снижение средней интенсивности флуоресценции SIRT6 у двух пациентов из четырёх; и статистически значимое снижение средней интенсивности флуоресценции H3K9me3 у всех пациентов по сравнению со показателями здоровых доноров. Определение оптической плотности фермента бета-галактозидазы выявило статистически значимое увеличение данного фермента во всех клетках пациентов CS, по сравнению с клетками здоровых доноров.

**Заключение:** Результаты работы показали снижение плотности ядерной ламины и образование ею характерных «ободков» ядра дермальных фибробластах пациентов CS. Также выявлено увеличение количество фермента бета-галактозидазы и снижение средней интенсивности флуоресценции H3K9me3 во всех клетках пациентов CS по сравнению с клетками здоровых доноров.

**МОЛЕКУЛЯРНОЕ КАРИОТИПИРОВАНИЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ  
БИОИНФОРМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА: ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ  
ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ГЕННЫХ МУТАЦИЙ В ВИДЕ ВАРИАЦИИ  
ЧИСЛА КОПИЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК**

Курина О.С.<sup>1,2</sup>, Ворсанова С.Г.<sup>1,2</sup>, Юров Ю.Б.<sup>1,2</sup>, Зеленова М.А.<sup>1,2</sup>, Васин К.С.<sup>1,2</sup>,  
Юров И.Ю.<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, <sup>2</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», <sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»; Москва, Россия

**MOLECULAR KARYOTYPING WITH BIOINFORMATICS ANALYSIS: EVALUATION  
OF DIAGNOSTIC POSSIBILITIES IN CASE OF REVEALING GENE MUTATIONS IN  
FORM OF COPY NUMBER VARIATIONS OF DNA SEQUENCES (CNV)**

Kurinnaia O.S.<sup>1,2</sup>, Vorsanova S.G.<sup>1,2</sup>, Yurov Y.B.<sup>1,2</sup>, Zelenova M.A.<sup>1,2</sup>, Vasin K.S.<sup>1,2</sup>,  
Iourov I.Y.<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National University, <sup>2</sup>Mental Health Research Center, <sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education; Moscow, Russia

\*E-mail: ivan.iourov@gmail.com

Несмотря на активное внедрение методов секвенирования нового поколения, существует большое количество типов вариаций генома и хромосом, выявление которых с помощью этих технологий крайне затруднено или даже невозможно. В частности, методы сканирования генома, основанные на технологии SNP array, позволяют с высокой эффективностью выявлять вариации числа копий последовательностей ДНК (CNV), включая инtragenные изменения, функционально соответствующие определению генных мутаций.

**Целью работы** явилась оценка диагностических возможностей при выявлении генных мутаций в виде CNV.

**Материалы и методы:** Были исследованы 576 детей с нарушением развития центральной нервной системы и врожденными пороками развития с помощью молекулярного кариотипирования методом SNP array (Affymetrix Cytoscan HD) (разрешение не менее 1 тыс. пн). Для определения патогенетического значения инtragenных CNV была использована оригинальная биоинформатическая технология анализа возможных функциональных последствий на эпигенетическом, протеомном и метаболомном уровнях (Iourov et al., 2014; Vorsanova et al., 2017; Yurov et al., 2017).

**Результаты и обсуждение:** В результате проведенного анализа было обнаружено, что у 53 индивидуумов (9,2%) были выявлены генные мутации в виде CNV, непосредственно связанные с заболеванием (моногенным заболеванием). В 33 случаях (5,7%) инtragenные CNV наблюдались в сочетании с хромосомными аномалиями и потерями гетерозиготности в участках геномного импринтинга, а также с CNV, затрагивающими несколько генов. В этих случаях биоинформатический анализ показал, что генные мутации в виде CNV имеют

фенотипические проявления в качестве дополнительных признаков, нехарактерных для обнаруженных хромосомных аномалий, других CNV и эпигеномных нарушений. Среди наиболее часто выявляемых мутаций в виде CNV были вариации последовательности ДНК следующих генов: AFF2 (Xq28; умственная отсталость, сцепленная с ломкой хромосомой X (FRAXE) [OMIM:309548]), FMR1 (Xq27.3; синдром умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X (FRAXA), и синдромом FXTAS (Fragile X tremor/ataxia syndrome) [OMIM:300623]), FOXP1 (7p22.1), OPHN1 (Xq12; X-сцепленная умственная отсталость с церебеллярной гипоплазией и характерными лицевыми микроаномалиями развития), SHANK3 (22q13.33; синдром Филан-МакДермид), SMARCA2 (9p24.3; синдром Николаидес-Барайцера).

**Заключение:** Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что частота интрагенных CNV, имеющих фенотипические проявления в группе детей с нарушением развития центральной нервной системы и врожденными пороками развития, может достигать практически 15%. Это необходимо учитывать при проведении молекулярной диагностики геномной и хромосомной патологии. Следует также отметить, что выявление генных мутаций в виде CNV невозможно без использования биоинформатических методов, позволяющих провести оценку возможных функциональных последствий вариаций генома.

Работа выполняется при финансовой поддержке РФФИ и СИТМА в рамках научного проекта № 18-515-34005.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА И НУТРИЦИОЛОГИЯ – ОСНОВА ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОГО МАРШРУТА ЗДОРОВЬЯ

Кучер А.Н.

*Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный  
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск*

## MOLECULAR GENETICS AND NUTRITION SCIENCE – THE BASIS OF PERSONALIZED HEALTH ROUTE

Kucher A.N.

*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia*

E-mail: aksana.kucher@medgenetics.ru

Нутригенетика и нутригеномика – разделы генетики, изучающие взаимодействие генетических особенностей организма и компонент диеты, а также роль нутриентов в регуляции экспрессии генов с точки зрения влияния на функционирование организма человека и формирование здоровья. Генетические особенности определяют способности организма метаболизировать компоненты диеты (белки, жиры, углеводы и т.д.) и поддерживать гомеостаз жизненно необходимых веществ, а несоответствие между обеспеченностью нутриентами и «потребностями» геномов может приводить к различным патологическим состояниям. Известны гены, отвечающие за метаболизм нутриентов, участвующие в поддержании оптимального уровня витаминов (D, B6, B12, A и др.), микро- и макроэлементов (кальция, цинка, магния, железа и др.). Например, несколько десятков белков/ферментов отвечают за метаболизм витамина B12 (кобаламина), для полиморфных вариантов более 10 генов (CUBN, TCN1, MMUT, MMAВ и др.) установлены ассоциации с его уровнем в сыворотке крови, а в ряде случаев – и с патологическими состояниями, характерными для дефицита данного витамина. Так, по данным GWAS [1], варианты гена MMAВ (продукт которого играет ключевую роль во внутриклеточном метаболизме витамина B12) ассоциированы с уровнем витамина B12 (rs17740607), невротизмом/симптомами депрессии (rs888194-C, rs2111216-A, rs888194-G), нарушением сна (rs11614986-A, rs7974321-C, rs6606731-A); тревожностью (rs10850379-T), липидными показателями (rs7134594, rs7134594). С учетом того, что кобаламин участвует в превращении гомоцистеина в метионин (является кофактором MTR), понятна ассоциированность SNP генов метаболизма витамина B12 (rs1801222 гена CUBN; rs9369898 гена MMUT) с уровнем гомоцистеина. Знание структурно-функциональных особенностей данных ген важно не только для разработки индивидуальных подходов к питанию, но и при назначении лекарственных препаратов, прием которых может приводить к снижению уровня витамина B12 (в частности, метформина).

Особое место в формировании уровня здоровья играет повышенная чувствительность (в том числе и вследствие генетических особенностей) к нутриентам (в т.ч. к лактозе, глютену,



гистамину). При непереносимости глютена (целиакия, аллергия на злаковые и не связанная с данными патологиями чувствительность к глютену) регистрируются как кишечные, так и внекишечные проявления и симптомы, которые можно облегчить или даже устранить полностью, применяя безглютеновую диету. По данным GWAS [1], известны более 100 генов, варианты которых ассоциированы с целиакией, наибольший эффект показан для rs2187668-А гена HLA-DQA1; носителями которого являются около 20 % европеоидов (около 1 % являются обладателями неблагоприятного гомозиготного генотипа). Патологические состояния практически всех систем органов регистрируют при нарушении метаболизма эндогенного и экзогенного гистамина. В основе этих нарушений могут находиться структурно-функциональные особенности генов, отвечающих за его метаболизм (HNMT, AOC1, MAOB, ALDH7A1), причем наблюдается перекрытие между болезнями, ассоциированными с вариантами данных генов, и регистрируемыми при избыточном уровне гистамина в организме [2].

Доказано также, что эффекты генов могут зависеть от обеспеченности организма «хорошими» и «плохими» нутриентами. Например, для вариантов гена FTO, генотипы которых по-разному проявляли себя (повышали, понижали риск развития болезней, или не оказывали влияния) в зависимости от типа диеты, уровня потребления жиров, клетчатки, напитков с искусственными подсластителями и обеспеченности нутриентами (витаминами B12, D) [3]. Кроме того, компоненты диеты могут оказывать влияние на уровень экспрессии генов, в том числе и тех, для которых установлена вовлеченность в формирование риска развития заболеваний многофакторной природы.

Накопленные знания в области нутригенетики и нутригеномики уже сейчас позволяют разрабатывать персонализированные программы питания, и со временем генетическое тестирование по выявлению пищевой непереносимости и индивидуальных потребностей в нутриентах может стать важным звеном управления здоровьем.

#### **Список литературы**

1. The NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies [Electronic resource] – URL: <https://www.ebi.ac.uk/gwas/> Accessed 01.2020.
2. Кучер А.Н. Ассоциации полиморфных вариантов ключевых генов метаболизма гистамина и рецепторов гистамина с многофакторными заболеваниями. Генетика. 2019, 55 (7): 755-777.
3. Кучер А.Н. Ген FTO и болезни: значимость генетического полиморфизма, эпигенетических модификаций и средовых факторов. Генетика. 2020. (В печати).

## ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗА 1 (DNMT1) В ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Лавринова А.О.<sup>1\*</sup>, Мельникова Н.В.<sup>2</sup>, Дмитриев А.А.<sup>2</sup>, Милюхина И.В.<sup>1,3,4</sup>,  
Тимофеева А.А.<sup>3</sup>, Литусова Е.М.<sup>1</sup>, Гагарина П.А.<sup>1</sup>, Беркович О.А.<sup>3</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,3,4</sup>,  
Емельянов А.К.<sup>1,3,5</sup>

<sup>1</sup> Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина, <sup>2</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда РАН, Москва, <sup>3</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, <sup>4</sup>Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург,

<sup>5</sup> Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет им. Ж.И. Алфёрова РАН, Санкт-Петербург

## DNA-METHYLTRANSFERASE 1 (DNMT1) IN THE PATHOGENESIS OF PARKINSON'S DISEASE

Lavrinova A.O.<sup>1\*</sup>, Melnikova N.V.<sup>2</sup>, Dmitriev A.A.<sup>2</sup>, Miliukhina I.V.<sup>1,3,4</sup>,  
Timofeeva A.A.<sup>3</sup>, Litusova E.M.<sup>1</sup>, Gagarina P.A.<sup>1</sup>, Berkovich O.A.<sup>3</sup>, Pchelina S.N.<sup>1,3,4</sup>, Emelyanov  
A.K.<sup>1,3,5</sup>

<sup>1</sup>Petersburg Nuclear Physics Institute n.a. B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, <sup>2</sup>Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, <sup>3</sup>Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, <sup>4</sup>Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, <sup>5</sup>St. Petersburg National Research Academic University  
n.a. Zh.I. Alferov; St. Petersburg, Russia

\*E-mail: lavrinova.anna@gmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга. Считается, что олигомеры альфа-синуклеина (SNCA) играют основную роль в патогенезе БП. Было показано, что изменение степени метилирования интрона 1 гена SNCA может влиять на уровень экспрессию данного гена. Паттерн метилирования ДНК клетки в течение жизни 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. При этом не проводилась оценка уровня данного фермента в клетках крови пациентов с БП.

**Целью исследования** явилась оценка относительного уровня мРНК и белка гена DNMT1 в CD45+ клетках периферической крови пациентов с БП и контроля.

**Материалы и методы:** В исследование были включены 43 пациента (средний возраст 66.24±7.05 лет) с БП, не принимающих Л-ДОФА-содержащие препараты и 47 индивидуумов (средний возраст 60.09±7.21 лет) контрольной группы без неврологических заболеваний. Для выделения CD45+ клеток периферической крови был использован метод центрифугирования в градиенте плотности раствора фикола (Биолот, Россия) с последующей магнитной сепарацией (ручной сепаратор MACS (Miltenyi Biotec, США)), колонки miniMACS типа MS (Miltenyi Biotec, США). Уровень мРНК гена DNMT1 в CD45+ клетках был определен с использованием мультиплексной TaqMan ПЦР в режиме реального времени.

Уровень экспрессии гена DNMT1 оценивался относительно двух референсных генов (GNB2L1, TBP) с использованием метода  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ . Уровень белка DNMT1 в указанных группах был оценен с использованием метод ИФА (DNMT1 Assay Kit (Epigentek, США)). Статистические расчеты были проведены в программе SPSS 21.0.

**Результаты:** Обнаружено повышение уровня мРНК гена DNMT1 и снижение концентрации белка данного гена в CD45+ клетках у пациентов с БП по сравнению с группой контроля ( $p = 0.034$  и  $p < 0.001$ , соответственно).

**Заключение:** Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что БП характеризуется снижением уровня белка DNMT1 в CD45+ клетках периферической крови и предполагают участие данного белка в патогенезе БП.

Исследование поддержано грантом РФФИ 16-04-01187.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *CHEK-2*, *NBS1*- И *BLM*-АССОЦИИРОВАННОГО НАСЛЕДСТВЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Лаптиев С.А.<sup>1</sup>, Соколенко А.П.<sup>2</sup>, Иевлева А.Г.<sup>2</sup>, Корженевская М.А.<sup>1</sup>, Имянитов Е.Н.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» МЗ РФ, Санкт-Петербург

### **SENSITIVITY TO NEOADJUVANT THERAPY IN *CHEK-2*, *NBS1* AND *BLM* MUTATION-DRIVEN BREAST CARCINOMAS**

Laptiev S.A.<sup>1</sup>, Sokolenko A.P.<sup>2</sup>, Iyevleva A.G.<sup>2</sup>, Korzhenevskaja M.A.<sup>1</sup>, Imyanitov E.N.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg  
<sup>2</sup> N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg  
E-mail: telula87@gmail.com

На сегодняшний день в онкологии появилась большая потребность в оценке эффективности неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) у носительниц наследственных мутаций рака молочной железы (РМЖ). Данная работа имеет значимый клинический потенциал, поскольку среди российских женщин с наследственным РМЖ частота мутаций генов *CHEK2*, *NBS1*, *BLM* весьма высока, и в отношении этой категории больных до сих пор не сформулированы специфические терапевтические рекомендации.

**Цель исследования:** Изучить спектр лекарственной чувствительности *CHEK2*-, *NBS1*- и *BLM*-ассоциированных опухолей молочной железы (МЖ).

**Материалы и методы:** Химиочувствительность (ХЧ) оценивалась к стандартным комбинациям химиопрепаратов, применяемым для лечения РМЖ у пациенток, проходивших лечение на базе НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова в период с 2011 по 2017 гг. Экспериментальная группа включила 28 больных: 19 с мутациями в гене *CHEK2*, 6 – в гене *BLM* и 3 – в гене *NBS1*. Контрольную группу составили 98 пациенток со спорадическим РМЖ. Все пациентки получали предоперационную ХТ. Эффективность НАХТ оценивалась по достижению у пациенток объективного клинического ответа (ОО) в соответствии с критериями RECIST 1.1.

**Результаты:** Из 98 женщин контрольной группы 18 получали лечение препаратами антрациклинов (без добавления препаратов таксанового ряда). Среди них доля ОО составила 83.3 % (15 из 18). У двух женщин отмечалась стабилизация заболевания (СЗ) и еще у одной – прогрессирование заболевания (ПЗ). 80 человек из контрольной группы получали препараты таксанового ряда (с/без добавления антрациклинов). Среди них доля ОО составила 90.0% (72 из 80). Еще у 8-ми женщин отмечалась СЗ. Из 19 пациенток со *CHEK2*-ассоциированным РМЖ пять получали лечение антрациклин-содержащими схемами без таксанов и 14 пациенток – таксан-содержащую ХТ. Всего ОО на лечение был зафиксирован у 16 женщин из 19 (84.2%) ( $p = 0.68$ , *CHEK2*-опосредованные опухоли в сравнении со спорадическими опухолями,

точный тест Фишера). При этом доля ОО была выше в группе пациенток, получавших терапию таксанами (92.9 %, 13 из 14), чем среди больных с лечением антрациклинами без применения таксанов (60 %, 3 из 5) ( $p = 0.154$ , точный тест Фишера). У пациенток-носительниц мутаций в гене BLM, получавших лечение препаратами из групп антрациклинов и таксанов, ОО наблюдался во всех 6 случаях. Из трех пациенток-носительниц мутаций в гене NBS1 одна больная получала препараты из группы таксанов и герцептин, другая находилась на лечении антрациклин-содержащими схемами ХТ, и третья получала препараты таксанового ряда. При этом ОО был зафиксирован у двух пациенток с разными режимами ХТ. У третьей пациентки с таксан-содержащими схемами ХТ отмечалось ПЗ.

**Обсуждение:** У пациенток-носительниц мутаций в гене CHEK2 таксан-содержащая НАХТ сопровождается большей частотой ОО, чем терапия на основе препаратов антрациклинового ряда, поэтому при планировании лечения у таких пациенток предпочтение стоит отдавать схемам, содержащим препараты из группы таксанов. BLM-ассоциированные опухоли МЖ отвечают на лечение стандартными схемами ХТ лучше, чем CHEK2- и NBS1-ассоциированные формы рака. Малая выборка ( $n = 3$ ) NBS1-позитивных карцином МЖ с известным результатом терапии не позволяет пока сделать каких-либо выводов об особенностях ответа на лечение у пациенток с данной категории наследственного рака. В одном из трёх проанализированных выше случаев NBS1-ассоциированных карцином наблюдалось ПЗ, что может указывать на сниженную эффективность проводимой ХТ у носительниц дефектов гена NBS1, в сравнении со спорадическими формами РМЖ. При планировании проведения НАХТ у пациенток с РМЖ, вне зависимости от молекулярно-биологического подтипа рака, целесообразно проводить генетическое тестирование для выявления носительства онкоассоциированных мутаций в генах CHEK2, NBS1 и BLM с целью подбора персонализированных подходов к терапии у пациенток с данными вариантами наследственного РМЖ.

Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-25-00111.

## МОДУЛЯЦИЯ СИГНАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ $Na^+$ , $K^+$ -АТФАЗЫ – НОВЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ НЕЙРО-ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Лопатина Е.В.<sup>1,3\*</sup>, Карецкий А.В.<sup>2</sup>, Пасатецкая Н.А.<sup>4</sup>, Лопатин А.И.<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ, <sup>2</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии МЗ РФ, <sup>3</sup> ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН, <sup>4</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» МЗ РФ; Санкт-Петербург

## MODULATION OF $Na^+$ , $K^+$ – ATPASE NON PUMPING FUNCTION – A NEW APPROACH TO THE TREATMENT OF NEURODEGENERATIVE DISEASES

Lopatina E.V.<sup>1,3\*</sup>, Karetskiy A.V.<sup>2</sup>, Pasatetskaya N.A.<sup>4</sup>, Lopatin A.I.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, <sup>2</sup>Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, <sup>3</sup>Pavlov Institute of Physiology, <sup>4</sup>Almazov National Medical Research Centre; St. Petersburg, Russia  
\*E-mail: evlopatina@yandex.ru

**Цель исследования:** Исследовать изменение пролиферативной активности клеток ткани сетчатки при фармакологической модуляции сигнальной функции  $Na^+$ ,  $K^+$  -АТФазы в модельных экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

**Материалы и методы:** Метод органотипической культуры ткани. Эксплантаты ткани сетчатки 10-12-дневных куриных эмбрионов культивировали в чашках Петри на коллагеновой подложке в питательной среде в  $CO_2$ -инкубаторе («Sanyo», Япония) в течение 3-х суток при  $37^\circ C$  и 5%  $CO_2$ . В питательную среду экспериментальных чашек Петри добавляли оубаин ( $10^{-13}$  М –  $10^{-8}$  М), коеновую кислоту ( $10^{-13}$  М –  $10^{-8}$  М). Для оценки влияния исследуемых веществ использовали морфометрический критерий индекс площади (ИП). Контрольное значение ИП принимали за 100%. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы STATISTICA 10.0., использовали t-критерий Стьюдента для двух независимых выборок. В части работы использовали оборудование ЦКП «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Для определения антимикробного действия препарата «Аноцептин» на *M. tuberculosis* использовали стандартный метод двукратных серийных разведений препарата в синтетической полужидкой среде Сотона с добавлением 25 % нормальной лошадиной сыворотки и питательного агара (0.35 г на 100 мл среды). Диапазон исследуемых доз препарата «Аноцептин» составил 1.56 – 200 мкг/мл. Контролем питательной среды служила плотная среда Левенштейна-Йенсена. Суспензии тест-культур *M. tuberculosis* H37 Rv и ЛИХТ-98 в объеме 0,2 мл (10 миллионов микробных тел) засеивали методом поверхностного наслоения в контрольные и опытные пробирки. Результаты учитывали через 7 суток инкубации посевов в условиях термостата при  $+37^\circ C$  по интенсивности роста микобактериальной пленки на поверхности питательной среды. Моделирование туберкулезного хориоретинита выполнили на 20 кроликах (40 глаз)

по методу Э.Н. Белендира (1971). Эффективность лечения экспериментальных хориоретинитов оценивали по офтальмоскопическим признакам для трех изучаемых параметров (размер очага, проминенция, экссудация) и гистоморфологической картине. Через 6 недель от начала лечения Аноцептином экспериментальных животных выводили из опыта, глаза энуклеировали, гистологические препараты готовили по стандартной методике (окраска гематоксилином и эозином). Было изготовлено и исследовано более 160 срезов. Статистическую обработку данных с использованием прикладных программ для статистического анализа «Microsoft Excel» и «STATGRAPHICS Plus» для Windows.

**Результаты и обсуждение:** В условиях органотипического культивирования ткани сетчатки обнаружено, что оуабаин и коеновая кислота дозозависимо регулируют рост эксплантатов ткани сетчатки, модулируя сигнальную функцию  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  -АТФазы. Нейротрофические свойства препарата «Аноцептин», активной фармацевтической субстанцией которого является коеновая кислота изучали на модели туберкулезного хориоретинита (Беллиндир Э.Н., 1971). Модель объединяет в себе компонент воспаления и элементы деструктивных изменений в клетках ткани сетчатки. Проведенные исследования показали, что антимикробным действием на *M. tuberculosis* препарат «Аноцептин» в дозах от 200 до 1.56 мкг/мл не обладает. При парабульбарном введении раздражающих свойств препарата и негативного влияния на структуры переднего отрезка глаза не обнаружено. Эффективность проводимой терапии в основной серии для размера очага составила 25 %, для уровня проминенции 130 %, для уровня экссудации 124%. В контрольной серии значения этих параметров составили 4 %, 53 % и 109 %, соответственно. У животных контрольной серии сохранялись помутнения и инфильтрация в стекловидном теле.

**Заключение:** Данные, полученные на модели поствоспалительной дистрофии сетчатки, свидетельствуют о том, что препарат «Аноцептин», действие которого основано на модуляции сигнальной функции  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  -АТФазы статистически значимо повышает эффективность противотуберкулезной терапии по всем исследуемым параметрам и сочетается с антибиотиками.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ (ФНО)- $\alpha$ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ МОЗГА

Маджидова Ё.Н.<sup>1</sup>, Усманова Д.Д.<sup>1</sup>, Липатова Л.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ташкентский педиатрический медицинский институт, Ташкент, Узбекистан;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

## A STUDY ON THE TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF)- $\alpha$ IN PATIENTS WITH CHRONIC BRAIN ISCHEMIA

Madjidova Y.N.<sup>1</sup>, Usmanova D.D.<sup>1</sup>, Lipatova L.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tashkent pediatric medical Institute Tashkent, Uzbekistan;

<sup>2</sup>Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

E-mail: l\_lipatova@mail.ru

Цитокины играют ведущую роль в регуляции основных этапов иммунного ответа, провоспалительные цитокины (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ ) характеризуются широким спектром биологического действия на клетки-мишени. Стимулируя цитотоксическую, фагоцитарную активность, утилизацию дефектных клеток, нейтрализуя бактериальные токсины, ФНО- $\alpha$  принимает участие в формировании защитных реакций организма. Однако интенсивный продолжительный синтез данного цитокина способствует расстройству гемодинамики и другим нежелательным клиническим эффектам.

**Цель исследования:** изучение содержания цитокина ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови больных с хронической ишемией мозга (ХИМ) в зависимости от ее этиологии.

**Материалы и методы:** 84 больных с ХИМ, разделенных на 2 группы в зависимости от этиологии ХИМ: 53 пациента с ХИМ гипертонического генеза – первая группа, и 31 с ХИМ атеросклеротического генеза – вторая группа. Исследованы уровни содержания цитокинов TNF- $\alpha$  в сыворотке периферической крови методом ИФА – анализа с применением тест – систем «Вектор – Бест» (Новосибирск, РФ, 2013 г.). Группу контроля составили 20 практически здоровых доноров.

**Результаты:** Сывороточный уровень TNF- $\alpha$  у пациентов 1-й и 2-й групп составил  $11.70 \pm 0.64$  пг/мл и  $8.04 \pm 0.36$  пг/мл, соответственно, что в 2.56 ( $p < 0.001$ ) и 1.76 ( $p < 0.001$ ) раза превышало значение TNF- $\alpha$  контрольной группы, равное  $4.58 \pm 0.81$  пг/мл. Нами установлено значительное повышение уровней TNF- $\alpha$  в группах пациентов с ХИМ на фоне АГ, причем в 1-й группе больных уровень TNF- $\alpha$  был повышен в 1.45 раза в сравнении со значением во 2-й группе.

**Заключение:** Таким образом, установлено статистически значимое увеличение провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови больных с ХИМ в обеих группах в сравнении со здоровыми донорами, при этом наиболее высокие показатели ФНО- $\alpha$  отмечались у пациентов с ХИМ гипертонического генеза. Можно предположить, что повышение уровня TNF $\alpha$  указывает на неблагоприятное течение патологических процессов в мозге, поскольку стойкая экспрессия фактора некроза опухоли потенцирует процессы воспаления и нейротоксичности.



## СОДЕРЖАНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ МОЗГА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Маджидова Ё.Н.<sup>1</sup>, Усманова Д.Д.<sup>1</sup>, Липатова Л.В.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Ташкентский педиатрический медицинский институт, Ташкент, Узбекистан.

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ Санкт-Петербург, Россия

## THE CONTENT OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH CHRONIC BRAIN ISCHEMIA DEPENDING ON THE DURATION OF ARTERIAL HYPERTENSION

Madjidova Y.N.<sup>1</sup>, Usmanova D.D.<sup>1</sup>, \*Lipatova L.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Tashkent pediatric medical Institute Institution, 223 Bogishamol street, Tashkent, Uzbekistan;

<sup>2</sup> Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia.

\*E-mail: l\_lipatova@mail.ru

Патогенетической основой цереброваскулярной патологии является формирование микро- и макроангиопатий, приводящих к развитию метаболических и гемодинамических нарушений. Диффузное поражение мелких артерий у больных с хроническими формами недостаточности мозгового кровообращения сопровождается широким спектром изменений в головном мозге: постепенным накоплением ишемических и вторичных дегенеративных изменений в зонах кровоснабжения мелких пенетрирующих мозговых артерий и артериол. Начальными звеньями рассматриваемой патологической цепи является развитие первичного системного гуморального ответа («цитокиновый ответ»), и в последующем – эндотелиальной дисфункции, приводящей к нарушению гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), которое сопровождается вазогенным отеком мозга, транссудацией плазменных белков и периваскулярным энцефалолизисом, активацией микроглии и развитием воспалительного процесса. Процесс воспаления, затрагивающий микроциркуляторное русло, вызывает активацию глиальных клеток и секрецию медиаторов воспаления в клетках головного и спинного мозга. При этом на эндотелиоцитах увеличивается экспрессия молекул адгезии, что способствует проникновению лейкоцитов в мозговую ткань. Цитокины – низкомолекулярные белки и пептиды, которые даже в малых концентрациях осуществляют гуморальную регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий, определяя функциональную активность отдельных клеток, их способность к пролиферации и дифференцировке, выживаемость или апоптотическую гибель [1, 2].

**Цель исследования:** изучить содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных с хронической ишемией мозга (ХИМ) различной этиологии в зависимости от длительности артериальной гипертензии (АГ).

**Материалы и методы:** Обследованы 53 пациента с ХИМ гипертонического генеза, которые были разделены на 2 подгруппы в зависимости от длительности АГ: до 5 лет

(1-я группа) и более 5 лет (2-я группа), группу контроля составили 20 практически здоровых доноров. У всех больных в сыворотке периферической крови были исследованы уровни содержания цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и IL-6 методом ИФА – анализа с применением тест – систем «Вектор – Бест» (Новосибирск, РФ, 2013 г.).

**Результаты:** Сравнительный анализ содержания провоспалительных цитокинов в зависимости от длительности АГ у пациентов 1 группы показал, что сывороточный уровень IL-1 $\beta$  у больных с АГ I степенью до 5-ти лет был равен 10.22 $\pm$ 0.92 пг/мл, более 5-ти лет – 12.67 $\pm$ 2.23 пг/мл. Они имели лишь тенденцию к увеличению относительно значений практически здоровых лиц, различия между группами носили статистически незначимый характер. Сывороточный уровень IL-6 в группе больных с АГ I степени с длительностью заболевания до и свыше 5-ти лет составил 6.26 $\pm$ 0.62 пг/мл и 7.59 $\pm$ 1.60 пг/мл, соответственно, превышая нормативные величины в 1.83 ( $p < 0.001$ ) и в 2.22 ( $p < 0.001$ ) раза. Различия между группами были статистически незначимы. Уровень TNF- $\alpha$  в группе пациентов АГ I степени до 5-ти лет и более 5-ти лет составил 8.15 $\pm$ 0.71 пг/мл и 10.08 $\pm$ 1.86 пг/мл, превышая нормативные величины в 1.78 ( $p < 0.01$ ) и 2.2 ( $p < 0.01$ ) раза соответственно, по отношению контролю. Различия между группами были статистически незначимы.

**Заключение:** Детальный анализ уровня провоспалительных цитокинов у пациентов сравниваемых групп выявил статистически значимое увеличение всех изучаемых показателей цитокинов у пациентов с ХИМ, в сравнении с контрольной группой здоровых лиц. Не выявлены статистически значимые различия значений цитокинов в группах больных с ХИМ гипертонического генеза с различной длительностью АГ.

#### Список литературы

1. Болевич С.Б., Воинов В.А. Молекулярные механизмы в патологии человека. М: МИА 2012; 206.
2. Гусев Е.И., Чуканова А.С. Современные патогенетические аспекты формирования хронической ишемии мозга. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015;115(3):4-8. <https://doi.org/10.17116/jnevro2015115314-8>.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ IL-1В У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ МОЗГА

Маджидова Ё.Н.<sup>1</sup>, Усманова Д.Д.<sup>1</sup>, Липатова Л.В.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Ташкентский педиатрический медицинский институт, Ташкент, Узбекистан

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

## A STUDY ON THE CONTENT OF IL-1B IN PATIENTS WITH CHRONIC BRAIN ISCHEMIA

Madjidova Y.N.<sup>1</sup>, Usmanova D.D.<sup>1</sup>, Lipatova L.V.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Tashkent pediatric medical Institute Tashkent, Uzbekistan

<sup>2</sup>Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

\*E-mail: l\_lipatova@mail.ru

Патологическая активация «цитокиновой сети» лежит в основе патогенеза целого ряда заболеваний человека, в том числе и при хронических цереброваскулярных заболеваниях, сопровождающихся васкупатиями, повреждением гематоэнцефалического барьера и последующим выходом нейроантигенов в периферическое русло крови с формированием иммунопатологических реакций, в частности, системного воспалительного ответа. Увеличенный синтез цитокинов приводит к активации множества разных типов иммунных клеток, реализуя широкое взаимодействие на субклеточном, клеточном, органном уровнях, системном уровнях, формируя комплексную защитную реакцию, направленную на элиминацию повреждающих агентов и восстановление гомеостаза.

**Цель исследования:** изучить содержание провоспалительного цитокина IL-1 $\beta$  в сыворотке крови больных с хронической ишемией мозга (ХИМ) в зависимости от ее этиологии.

**Материалы и методы:** У 84 больных с ХИМ, разделенных на 2 группы в зависимости от этиологии ХИМ (53 пациента с ХИМ гипертонического генеза – первая группа, 31 пациент с ХИМ атеросклеротического генеза - вторая группа) в сыворотке периферической крови были исследованы уровни содержания цитокинов IL-1 $\beta$  методом ИФА – анализа с применением тест – систем «Вектор – Бест» (Новосибирск, РФ, 2013 г.). Группу контроля составили 20 практически здоровых доноров.

**Результаты:** Содержание IL-1 $\beta$  в сыворотке крови пациентов с ХИМ показало его статистически значимое увеличение относительно значений практически здоровых лиц: в 1.51 ( $p < 0.05$ ) и 1.28 ( $p < 0.05$ ) раза, в 1-й и во 2-й группах, соответственно. Наиболее высокое содержание IL-1 $\beta$  диагностировано у пациентов с ХИМ гипертонического генеза: увеличение в 1.18 ( $p < 0.05$ ) раза относительно значений пациентов с ХИМ атеросклеротического генеза: в 1-й группе больных этот показатель составил  $14.96 \pm 0.86$  пг/мл, тогда как во 2-й группе –  $12.71 \pm 0.58$  пг/мл.

**Заключение:** Установлено повышение уровня IL-1 $\beta$  в сыворотке крови пациентов с ХИМ различной этиологии: как гипертонической, так и атеросклеротической, в сравнении с группой контроля здоровых лиц, при этом у пациентов с ХИМ гипертонического генеза отмечался статистически значимо более высокий уровень содержания IL-1 $\beta$ , что свидетельствует о большей напряженности иммунопатологических процессов системного воспаления при данной форме ХИМ. Полученные данные могут быть применены для персонализированного патогенетического лечения ХИМ.

## ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЧАСТОТУ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ У ДОИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА

Мальшева О.В.<sup>1\*</sup>, Глотов О.С.<sup>1,2</sup>, Кинунен А.А.<sup>3</sup>,  
Полякова И.В.<sup>2</sup>, Сайфитдинова А.Ф.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИ АГиР им. Отта, <sup>2</sup>СПб ГБУЗ ГБ №40, <sup>3</sup>Международный центр  
репродуктивной медицины, Санкт-Петербург

## FACTORS INFLUENCING THE FREQUENCY OF CHROMOSOMAL ANOMALIES IN HUMAN PRE-IMPLANTATION EMBRYONS

<sup>1</sup>Glotov O.S.<sup>1,2</sup>, Kinunen A.A.<sup>3</sup>, Poljakova I.V.<sup>2</sup>, Sajfitdinova A.F.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>FSBSI «The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology n.a. D.O. Ott»,

<sup>2</sup>City Hospital No 40, <sup>3</sup>International Center of Reproductive Medicine; St. Petersburg

\*E-mail: omal99@mail.ru

**Целью данной работы** был анализ факторов, влияющих на частоту хромосомных аномалий, выявляемых у эмбрионов 5-го дня развития при проведении ПГТ-А.

**Материалы и методы:** Исследование проведено методами aCGH (чипы Agilent G5935A GenetiSure, разрешающая способность метода 5 млн.п.н.) и NGS (набор для приготовления библиотек VeriSeq PGS kit и секвенирование на аппарате Illumina MiSeq, эффективное разрешение метода 20 млн. п. н). Всего проанализированы 1527 образцов биоптатов трофэктодермы, полученных от эмбрионов на стадии бластоцисты в НИИ АГиР им. Д.О. Отта и в клинике МЦРМ. В анализ включены 496 эмбрионов, полученных от пациентов – граждан КНР и 1041 эмбрион от пациентов – граждан РФ. Все пациентки, их партнеры и доноры не имели хромосомных аномалий. Каждая группа была подразделена по материнскому возрасту, анализировали подгруппы эмбрионов, полученные от женщин-доноров, пациенток до 30 лет включительно, 31-33 года, 34-36 лет, 37-39 лет, 40-42 года и 43 года и старше.

**Результаты и обсуждение:** В целом хромосомные аномалии обнаружены у 57.5 % и у 44.8 % эмбрионов, полученных от пациентов – граждан РФ и КНР, соответственно. Был выявлен широкий спектр хромосомной патологии – анеуплоидии по одной и нескольким хромосомам, сегментные анеуплоидии, мозаичные варианты, вероятно, триплоидные и хаотические эмбрионы и эмбрионы, в которых было зарегистрировано сочетание нескольких типов хромосомных аномалий.

В обеих группах мы выявили резкий рост числа анеуплоидных эмбрионов с увеличением материнского возраста. Частота простых анеуплоидий (три- и моносомии по одной хромосоме) начинает увеличиваться уже после 30 лет и достигает максимума у женщин 40-42 лет. Комплексные анеуплоидии (три- и моносомии по двум и более хромосомам) практически не обнаруживаются в эмбрионах пациенток до 34-36 лет включительно, однако начиная с 37-38 лет, их количество прогрессивно увеличивается, достигая максимума в 43 года

и старше. Доля прочих видов хромосомной патологии с увеличением материнского возраста значимо не изменяется. Всего в группе эмбрионов, полученных от родителей – граждан РФ, у пациенток не старше 30 лет и женщин-доноров «нормальную» хромосомную конституцию имеют до 70 % эмбрионов; у пациенток ВРТ 34-36 лет к переносу пригодны 48 %, в 40-42 года – 30 %, а после 43 лет – не более 10-13 % эмбрионов.

При сравнении эмбрионов, полученных от пациентов – граждан РФ и КНР, мы обнаружили статистически значимые различия между двумя группами. До достижения женщинами возраста 34 лет доля эуплоидных эмбрионов не различается между обеими группами (около 65 % до 30 лет, 58 % в 31-33 года), однако при дальнейшем увеличении материнского возраста во всех подгруппах доля эуплоидных эмбрионов оказывается выше у пациентов китайского происхождения, различия статистически значимы. Так, при материнском возрасте 34-36 лет нормальная хромосомная конституция была выявлена у 61 % и 48 %, в 37-39 лет – у 48 % и 40 %, в 40-42 года – у 36% и 29 %, в 43 года и старше – у 26 % и 12 % эмбрионов граждан КНР и РФ, соответственно. Эти различия обусловлены прежде всего тем, что для эмбрионов «китайского происхождения» во всех возрастных подгруппах старше 33 лет характерна более низкая частота простых анеуплоидий. Также наблюдается тенденция к снижению числа комплексных анеуплоидий у эмбрионов китайского происхождения. Однако небольшой размер подгруппы китайских пациенток старшего возраста позволяет сделать только предварительные выводы.

**Заключение:** Таким образом, наиболее значимым фактором, влияющим на частоту хромосомных аномалий у доимплантационных эмбрионов человека, является возраст матери. Однако на вероятность образования анеуплоидных эмбрионов могут оказывать влияние и другие обстоятельства. Мы впервые показали, что в разных популяциях вероятность возникновения анеуплоидных эмбрионов в одинаковых возрастных группах может статистически значимо различаться. Причиной этих различий могут быть как распространенные в исследуемых этнических группах полиморфные варианты генов, контролирующих клеточное деление, так и факторы внешней среды (например, традиционное питание и т.п.). Дальнейшее исследование данного явления может помочь в будущем разработать способы увеличения эффективности программ ВРТ у пациенток старшего репродуктивного возраста, которая сейчас в значительной степени ограничена низкой долей эуплоидных эмбрионов в этой возрастной группе.

## **ИНФОРМАТИВНОСТЬ ЭХОГРАФИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ У ПЛОДА ВО ВТОРОМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ ДЛЯ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ МУКОВИСЦИДОЗА**

Минайчева Л.И., Сеитова Г.Н., Одиноква О.Н., Корф М.П., Филиппова М.О.,  
Суханова Т.И., Джилкибаева Н.М., Пурьскина Н.Л., Назаренко Л.П.  
*Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН, Томск*

### **INFORMATIVITY OF SONOGRAPHIC MARKERS IN THE FETUS IN THE SECOND TRIMESTER FOR PRENATAL DIAGNOSIS OF CYSTIC FIBROSIS**

Minaycheva L.I., Seitova G.N., Odinkova O.N., Korf M.P., Filippova M.O., Sukhanova T.I.,  
Dzhilkibaeva N.M., Puriskina N.L., Nazarenko L.P.  
*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center*  
E-mail: [larisa.minaycheva@medgenetics.ru](mailto:larisa.minaycheva@medgenetics.ru)

Муковисцидоз (МВ) – тяжелое наследственное заболевание, обусловленное мутациями в гене CFTR с аутосомно-рецессивным типом наследования. В большинстве случаев пренатальная диагностика МВ проводится молекулярно-генетическим методом путем поиска мутаций в гене CFTR в ДНК плодных тканей в семьях, имеющих детей с этим заболеванием, а также у супружеских пар с установленным гетерозиготным носительством мутаций в гене CFTR. Значительная часть случаев МВ выявляется при проведении неонатального скрининга и, как правило, является первым случаем в семье. Пренатальная диагностика МВ в семьях с неотягощенным анамнезом возможна при выявлении гиперэхогенности кишечника (ГК) у плода при проведении ультразвукового исследования (УЗИ). Он является одним из самых известных пренатальных эхографических маркеров (ЭГМ) врожденных и наследственных заболеваний (МВ, хромосомных аномалий, внутриутробных инфекций) и наблюдается у 50 % – 75 % плодов с МВ.

**Цель исследования:** оценить эффективность пренатальной диагностики муковисцидоза в Томской области (2018-2019 гг.) и информативность эхографических маркеров при УЗИ плода во втором триместре в отношении риска заболевания (19-21 недель гестации).

**Материалы и методы:** Беременным УЗИ плода выполнялось в 19-21 недель гестации в Медико-генетическом центре (Генетической клинике) НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Эхографические маркеры выявлены у 37 плодов: отсутствие визуализации желчного пузыря (ЖП) обнаружено у 10 плодов (группа 1); сочетание двух ЭГМ (отсутствие ультразвуковой визуализации ЖП и ГК) – у 5 плодов (группа 2); у 22 плодов выявлен ГК (в 8 случаях сочетался с расширением петель кишечника). Беременным, у плодов которых обнаружены ЭГМ, предлагалось проведение инвазивной пренатальной диагностики для исключения муковисцидоза у плода, в ходе которой забирался образец плодного материала (пуповинная кровь). В образцах ДНК из плодного материала (37 плодов) с набором

«Elucigene® CF-EU2v1» (фирма «Elucigene») проводили анализ группы частых мутаций гена CFTR: F508del, I507del, 1677delTA, CFTRdele2,3 (del21kb), R334W, R347P, R347H, G551D, R553X, G542X, 2143delT, 2184insA, 2184delA, 394delTT, 306delTAGA, N1303K, W1282X, 2176insC, 3821delT, E60X, P67L, G85E, E92K, 444delA, R117C, R117H, Y122X, L138ins, 621+1G>T, 711+1G>T, L206W, 1078delT, A445E, R560T, 1811+1.6kbA>T, 1898+1G>A, 2347delG, W846X, 2789+5G>A, Q890X, 3120+1G>A, 3272-26A>G, R1066C, Y1092X(C>A), M1101K, D1152H, V520F, 1717-1G>A, S549R(T>G), S549N, R1158X, R1162X, 3659delC, 3849+10kbC>T, S1251N, 3905insT, 3944delGT.

**Результаты и обсуждение:** В первой группе у одного плода обнаружены мутации F508del и CFTRdele2,3kb в гене CFTR в компаунд-гетерозиготном состоянии. Во второй группе у двух плодов выявлены мутации: у одного – F508del в гомозиготном состоянии, у второго – мутации F508del и CFTRdele2,3kb в компаунд-гетерозиготном состоянии. В третьей группе мутации в гене CFTR не были обнаружены. Информативность одного ЭГМ (отсутствие ультразвуковой визуализации ЖП) у плода в отношении риска МВ составила 10 %, информативность двух ЭГМ (отсутствие визуализации ЖП и ГК) – 40 %. Все выявленные случаи МВ у плодов были первыми и единственными в семьях с неотягощенным анамнезом. В двух случаях родители приняли решение не вынашивать беременность, одна семья пролонгировала беременность, и МВ у ребенка подтвержден после рождения. Остальные беременности у женщин исследуемой группы (34 плода) закончились рождением детей, у которых муковисцидоз был исключен по результатам неонатального скрининга.

В итоге эффективность пренатальной диагностики МВ в исследуемой группе (37 плодов с ЭГМ, выявленными во втором триместре беременности) составила 8.1 %.

Всего в Томской области в 2018-2019 гг. родились 3 ребенка с МВ, из которых у одного диагноз был поставлен пренатально, у двух заболевание было выявлено по неонатальному скринингу и подтверждено молекулярно-генетическим методом. В обоих последних случаях мамы больных детей в период беременности не проходили УЗИ 2-го триместра. Как показал анализ, частота МВ среди новорожденных за указанный период составила 1:4514. С учетом двух случаев заболевания, выявленных у плодов при проведении пренатальной диагностики на основании выявленных ЭГМ, беременности которыми были прерваны по медицинским показаниям, частота оценена как 1:7523.

**Заключение:** Таким образом, проведение комплексных мероприятий по пренатальной диагностике в условиях экспертного центра позволило снизить число рождений больных МВ на территории Томской области.



## АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА RS679620 ГЕНА *MMP3* С РАЗВИТИЕМ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

Миняйло О. Н.

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород*

## ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF RS679620 POLYMORPHISM OF THE *MMP3* GENE WITH THE DEVELOPMENT OF PEPTIC ULCER OF THE STOMACH AND DUODENUM

Minyailo O.N.

*Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia*

E-mail: Oksanav2012@yandex.ru

Язвенная болезнь – это хроническое рецидивирующее заболевание, которое протекает с чередованием периодов обострения и ремиссии, главным проявлением язвенной болезни служит образование язвенного дефекта в стенке желудка и двенадцатиперстной кишки [1]. 7-10% взрослого населения страдают язвенной болезнью. Заболеваемость язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки в РФ составила 157.6 на 100 000 населения [2]. Возраст 35-40 лет является пиком проявления заболевания [3].

**Цель исследования:** Целью данного исследования явилось изучение ассоциации полиморфизма rs679620 гена *MMP3* с развитием язвенной болезни желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК) у жителей Центрального Черноземья Российской Федерации.

**Материалы и методы:** Изучена выборка пациентов русской национальности, являющихся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой. Группу исследования составили 400 человек с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки и 347 человек контрольная группа. Все пациенты включены в соответствующие группы только после установления диагноза, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных методов обследования. Проведено генотипирование полиморфизма rs679620 гена *MMP3*.

**Результаты и обсуждения исследования:** Анализ полученных данных показывает, что для изученного локуса rs679620 гена *MMP3* у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки и у здоровых индивидов эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретическому ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ( $p > 0.05$ ). Результаты нашего исследования показали, что у пациентов с ЯБЖ и ЯБДПК частота гомозигот *CC* составила 104.

(26.4 %), гетерозигот *CT* 191 (48.5 %), гомозигот *TT* 99 (25.1 %), частоты аллелей *T* и *C* равны 49.4 % и 50.6 %, соответственно. У лиц контрольной группы обнаружены следующие частоты генотипов: *CC* составила 86 (24.9 %), *CT* 170 (49.3 %), *TT* 89 (25.8 %), частоты аллелей *T* и *C* равны 50.4 % и 49.6 %, соответственно. При сравнительном анализе частот аллелей

генотипов больных с ЯБЖ и ЯБДПК и индивидуумов, не имеющих заболевания, статистически значимые различия не выявлены ( $p > 0.05$ ). Таким образом, генетический полиморфизм rs679620 гена MMR3 не ассоциирован с развитием ЯБЖ и ЯБДПК.

#### **Список литературы**

1. Российская гастроэнтерологическая ассоциация. Клинические рекомендации. Язвенная болезнь. Год утверждения 2019 г., стр 5.
2. Скворцов В.В., Одинцов В.В. Актуальные вопросы диагностики и лечения язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки. Медицинский алфавит. Больница. – 2010 г. – № 4. С. 13-17.
3. Фирсова Л.Д., Машарова А.А., Бордин Д.С., Янова О.Б. Заболевания желудка и двенадцатиперстной кишки. М: Планида. – 2011. – 52 с.

## ГЕРМИНАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЛЕГКОГО И ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ

Михаленко Е.П.<sup>1\*</sup>, Щаюк А.Н.<sup>1</sup>, Шепетько М.Н.<sup>2</sup>, Кильчевский А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, <sup>2</sup>Государственное учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»; Минск, Беларусь

## GERMLINE MUTATIONS IN PATIENTS WITH LUNG CANCER AND MULTIPLE PRIMARY TUMOURS

Mikhalenko A.P.<sup>1\*</sup>, Shchayuk A.N.<sup>1</sup>, Shapetska M.N.<sup>2</sup>, Kilchevsky A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus,

<sup>2</sup>Belarusian State Medical University; Minsk, Republic of Belarus

\*E-mail: michalenko75@mail.ru

По данным литературы, частота обнаружения первично-множественных злокачественных опухолей у пациентов злокачественными новообразованиями колеблется от 0.35% до 13%. Использование технологии секвенирования нового поколения позволяет наиболее полно изучить генетические факторы риска развития ПМЗО, что способствует пониманию механизмов развития патологического процесса.

**Цель исследования:** Изучить спектр мутаций у пациентов с первично-множественными злокачественными опухолями (ПМЗО) и поражением легких.

**Материалы и методы:** В исследование включены 10 мужчин с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), выявленного в сочетании со злокачественной опухолью внелегочной локализации или вторым раком легкого. У двух пациентов НМРЛ сочетается со вторым поражением органов системы дыхания (легкое, гортань), у 5-ти пациентов – пищеварительного тракта и у 3-х пациентов с раком предстательной железы. При этом гистологический тип плоскоклеточный рак легкого чаще всего сочетался с опухолью пищеварительного тракта (4 пациента), а рак предстательной железы с аденокарциномой легкого. Средний возраст пациентов составил 58.6 лет. Все включенные в исследование пациенты отрицают наличия онкоанамнеза.

Высокопроизводительное секвенирование проводили на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием панели TruSight Cancer, содержащей зонды для обогащения по 94 генам, ассоциированным с онкологическими заболеваниями. Выравнивание и вызов вариантов выполнялись с использованием программного обеспечения MiSeq Reporter, который выравнивает прочитанные последовательности на референсный геном hg19, используя Burrows-Wheeler Aligner (BWA) и осуществляет вызов вариантов с использованием Genome Analysis Toolkit (GATK). Аннотация и фильтрация секвенированных вариантов была выполнена с использованием VariantStudio. Исключались варианты с плохим качеством прочтения, не прошедшие PASS-фильтр и с низкой глубиной прочтения (< 30). Варианты, которые прошли качественные анализы, были затем отобраны на основе частоты аллелей

(< 1 % в общей популяции ExAC, 1000 геномов, gnomAD), положения в гене (экзоны и до +/- 10пн в интронах) и смысловой нагрузки (missense, stop, frameshift, splicing). В качестве контроля использованы данные секвенирования образцов ДНК 6-ти мужчин с миокардитами, которым было проведено секвенирование полного экзома на приборе NextSeq (Illumina, США) с использованием набора Nextera DNA Enrichment Exome (Illumina, США) + xGen Exome Research Panel v1.0 (IDT, США).

**Результаты и обсуждение:** После проведения фильтрации получено 24 варианта герминальных мутаций, в среднем по 2.4 на пациента (диапазон 0-6). Из них семь были классифицированы как патогенные/вероятно патогенные, шесть – варианты с противоречивой интерпретацией патогенности и 11 были классифицированы как доброкачественные/вероятные доброкачественные. Патогенные и вероятно патогенные варианты были обнаружены в генах FANCE, FANCC, TSC1, BRCA2, DIS3L2 и WRN у 6 пациентов. Средний возраст этих пациентов 58.6 лет. У 3-х пациентов НМПЛ сочетался с опухолью пищеварительного тракта. Все пациенты с патогенными и вероятно патогенными вариантами умерли. Наименьшая продолжительность наблюдения выявлена у пациентов с патогенными вариантами в гене FANCC: 10.1 мес. – у пациента с плоскоклеточным раком легкого и раком желудка (p.Asp195Val, rs1800365) и 9.9 мес. – у пациента с метастатической опухолью легкого (p.Ser26Phe, rs1800361). У 4-х пациентов не выявлено патогенных и вероятно патогенных мутаций, средний возраст этих пациентов – 70.2 года. Наибольший интерес представляет пациент с аденокарциномой легкого и раком предстательной железы, у которого выявлено пять вариантов с противоречивой интерпретацией патогенности в генах XPC (p.Lys481Asn), NBN (p.Ile171Val), SDHAF2 (p.Arg33Cys), CEP57 (p.Gln111His), FANCA (p.Cys625Ser) с глубиной прочтения 342-543 ридов. Интервал между установлением диагнозов двух опухолей составил 8 лет.

**Заключение:** В настоящем исследовании получены данные, подтверждающие, что применение в диагностике технологии секвенирования нового поколения позволяет наиболее полно изучить генетические факторы риска развития ПМЗО и способствует пониманию механизмов развития патологического процесса.

## **ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ВЫБОР ТЕРАПИИ ЮНОШЕСКОЙ МИОКЛОНИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИИ С УЧЕТОМ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ**

Москалева П.В. \*, Шнайдер Н.А., Насырова Р.Ф.

*Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В. М. Бехтерева, Санкт-Петербург*

## **PERSONALIZED SELECTION OF THERAPY OF JUVENILE MYOCLONIC EPILEPSY TAKING INTO ACCOUNT THE PHARMACOGENETIC PROFILE**

Moskaleva P. \*, Shnayder N., Nasyrova R.

*V.M. Bekhterev National Medical Research Centre for Psychiatry and Neurology, St. Petersburg*

\*E-mail: Polina-Moscaleva@yandex.ru

**Цель исследования:** Представить клинический случай, подтверждающий важность и необходимость персонализированного подхода к выбору терапии у пациентов с эпилепсией с учетом их фармакогенетического профиля, на примере пациентки с юношеской миоклонической эпилепсией (ЮМЭ).

**Материалы и методы:** Анализ данных анамнеза, данных терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ), фармакогенетического тестирования, электроэнцефалографического (ЭЭГ) исследования. ТЛМ противэпилептических препаратов в плазме крови проводился методом хемилюминесцентного иммуноанализа, включая определение уровня вальпроевой кислоты (в мкг/мл) до приема (остаточная концентрация) и через 2-2,5 часа после приема утренней дозы препарата (пиковая концентрация). Референсный коридор противэпилептических препаратов (ПЭП): вальпроевая кислота (ВК) – 50–100 мкг/мл. Фармакогенетическое тестирование (ФГТ) включало исследование полиморфных аллельных вариантов генов, кодирующих изоферменты цитохрома P450 печени: CYP1A2, CYP1A1, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1. Исследование биоэлектрической активности головного мозга (БЭА) проводилось с использованием стандартной методики видео-ЭЭГ-мониторинга (ВЭМ) с 8 часов утра в течение 3 часов, в состоянии пассивного бодрствования в условиях частичной сенсорной (звуковой и световой) депривации, с тестированием уровня сознания во время нагрузочных проб, а также в состоянии физиологического сна.

**Результаты:** Девушка, 24 лет, впервые установлен диагноз ЮМЭ в 2014 г. Получала ПЭП – Депакин хроно с титрацией до 600 мг/сут, было рекомендовано дообследование, но рекомендации не выполнены. Девушка регулярно принимала ПЭП до февраля 2017 г., однако к эпилептологу не обращалась в связи с клинической ремиссией припадков. С 2016 г. девушка стала отмечать выпадение волос, нарастание массы тела до 13 кг за 3-4 месяца, боли в животе, задержку стула, в связи с чем стала нерегулярно принимать ПЭП. С апреля 2017 г. наблюдалась задержка менструации, в июне 2017 г. выявлен синдром поликистозных

яичников, при сдаче анализа крови в ранние утренние часы у девушки развился генерализованный тонико-клонический припадок. Она обратилась за консультацией к эпилептологу, дообследование было назначено повторно. По данным ФГТ выявлено носительство полиморфизмов генов, кодирующих изоферменты цитохрома P450 печени: CYP1A2 c.IVS A734C (-163 C>A), генотип A/C; CYP2C9 I359L(3\*) A>C, генотип A/C, CYP2D6 1719 C>T, генотип C/T. Фармакогенетический профиль – «медленный метаболизатор», остаточная концентрация ВК по ТЛМ – 90,7 мкг/мл; пиковая – в токсической концентрации – 107.26 мкг/мл.

Девушке была снижена доза Депакина хроно до 450 мг/сут (на контрольном ТЛМ уровень ВК – 68 мкг/мл), проведен курс коррекции нежелательных реакций (НР). В настоящее время пациентка чувствует себя хорошо, НР купированы, достигнута клинко-электроэнцефалографическая ремиссия заболевания.

**Обсуждение:** ЮМЭ – одна из наиболее распространенных форм генетической генерализованной эпилепсии, характеризующаяся наличием миоклоний, чаще верхних конечностей, генерализованных тонико-клонических припадков и абсансов, с дебютом в подростковом возрасте [1], при которой достаточный контроль над приступами достигается при применении относительно низких доз соответствующих ПЭП [2]. Традиционно это препараты ВК. Безусловно, все ПЭП имеют потенциальные НР. Однако клинически было отмечено, что при индивидуально подобранной дозе и своевременной коррекции в зависимости от уровня концентрации препарата в крови, частота НР приближается к минимуму [3].

Приведенный клинический случай демонстрирует чрезвычайную важность персонализированного подхода в менеджменте заболевания, включая выяснение фармакогенетического профиля для определения индивидуального режима дозирования ПЭП и профилактики НР с целью улучшения качества жизни и прогноза заболевания у пациентов с эпилепсией.

### Список литературы

1. O'Muircheartaigh J, Vollmar C, Barker GJ, et al. Abnormal thalamocortical structural and functional connectivity in juvenile myoclonic epilepsy. *Brain* 2012, 135: 3635-3644.
2. Wheless JW, Clarke DF, Arzimanoglou A, Carpenter D. Treatment of pediatric epilepsy: European expert opinion 2007, 9(4): 353-412.
3. Дмитренко Д.В., Шнайдер Н.А., Бочанова Е.Н. и соавт. Терапевтический лекарственный мониторинг в лечении эпилепсии. *Врач* 2017, 1: 81-83.

## STREPTOKINASE IS A MYSTERIOUS PROTEIN

В.Н. Никандров

*Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь*

Vitaly N. Nikandrov

*Polessky State University, Pinsk, Belarus*

*e-mail: nikandrov.vitaly@gmail.com*

Обобщены результаты исследований, выполненных в лаборатории биохимии Белорусского НИИ эпидемиологии и микробиологии (1980–1990) и лаборатории регуляторных белков и пептидов Института физиологии НАН Беларуси (1989–2012).

Очищенная гомогенная по молекулярной массе (54 кДа) стрептокиназа (SK), продуцируемая *Streptococcus pyogenes* группы С штаммом Н46А, судя по результатам изоэлектрофокусирования, гетерогенна по pI: три фракции с pI 4,9, 5,05 и 5,3–5,4.

Методами ультрафиолетовой, люминесцентной и КД-спектроскопии, химической модификации остатков Trp и Tyr показано, что в водно-солевом растворе при pH 7,4 вторичная структура молекулы SK в значительной мере упорядочена (24–28%  $\alpha$ -спиралей, 7–16%  $\beta$ -структур) и включает несколько доменов. Один из них – ригидный, содержит 4 остатка Trp, различающихся по свойствам. Интактность двух легко окисляемых Trp значима для активаторной функции SK. Остатки Tyr (21) расположены на поверхности молекулы, различаются по реакционной способности: некоторые участвуют в образовании устойчивых комплексов SK-плазминоген (Pg). Молекула SK отличается значительной подвижностью (исследовано действие мочевины, сдвигов pH, NaCl и органических растворителей), ее перестройки под влиянием ряда факторов обратимы. Активаторная функция SK не уничтожается даже при существенных нарушениях ее вторичной и третичной структур. Она реализуется при участии супероксидного радикала и определяется связанным ионом Fe, локализованным вблизи Trp-содержащих участков.

Активаторная функция SK осуществляется и при воздействии мочевины, йодировании остатков тирозина SK, экстремальных значениях pH, когда комплекс SK-Pg (согласно гипотезе активаторного – именно он активирует Pg, физико-химическими методами не зафиксировано).

Предложенный механизм, по-новому объясняющий активаторную функцию SK, зиждется на четырех основных моментах, впервые обнаруженных нами экспериментально: активация Pg SK-ой блокируется перехватчиками супероксидного радикала, необратимо связывающими  $O_2^-$ ; Pg человека в водно-солевом растворе генерирует активные формы кислорода, в т.ч. и  $O_2^-$ -радикал; SK обладает  $O_2^-$ -конвергирующей способностью; при обработке Pg человека источниками активных форм кислорода проявляется четкая фибринолитическая активность. Этот механизм включает генерирование  $O_2^-$  Pg-ом и конверсию радикала SK-ой. Характер продукта, образующегося при конверсии  $O_2^-$ , пока еще не выяснен. Итак, был предложен совершенно новый путь: **реализация протеолитического**

**катализа через собственные, генерируемые молекулами протеиназ или зимогенов, активные формы кислорода.**

Данная концепция создает основу для разработки нетрадиционных ингибиторов протеолиза. Приобретает также особый смысл накопление в организме метаболитов или ксенобиотиков, эффективно связывающих  $O_2^-$ -радикал и иные формы активированного кислорода, что может вести к блокаде протеолитических реакций и, как следствие, накоплению нежелательных белковых субстанций. На основе механизма действия SK предложена мазь для лечения длительно незаживающих ран (патент РФ № 2027432), SK использована при лечении герпетического кератоконъюнктивита (А.с. СССР № 1822790).

Опираясь на предложенный механизм, исследованы воздействия Pg и SK на клетки нервной ткани (органотипические и диссоциированные культуры чувствительных и вегетативных ганглиев, коры головного мозга, спинного мозга, на перевиваемые культуры глиомы С6, нейробластомы IMR-32, феохромоцитомы PC12). Результаты раскрывают ранее не описанные в литературе аспекты действия SK и Pg. Прямое, непосредственное через кровотоков воздействие SK и Pg на жизнеспособность нейронов и глиоцитов, стимулируя пролиферацию а, в ряде моментов – дифференциацию в условиях отсутствия иных нейротрофических белковых факторов (патенты №№ 8301, 8876 и 8877). В концентрациях  $\leq 10^{-8}$  М даже при непродолжительном воздействии эти белки вызывают существенные изменения уровня ДНК, РНК, белка, активности АТФ- и  $Ca^{2+}$ -активируемого протеолиза, лактат-, сукцинат-, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназ в клетках, уровня интерлейкина-6 в кондиционированных средах. SK и Pg защищают клетки нервной ткани при повреждающем воздействии  $H_2O_2$ , глутамата, анионов АТФ, ионов аммония, при холодовом шоке, токсической (вызванной  $Mn^{2+}$ ) гипергидратации клеток, их осмотической дегидратации и гипергидратации (патенты ВУ №№ 14810, 16397, 16399, 16400, 16744 и 16745). Эти белки изменяют и электрическую активность нейронов центров ствола головного мозга в понтобульбоспинальном препарате, отражая функциональные перестройки дыхательного центра. SK и Pg при интеграции их в комплексы с пируваткиназой снимают ее цитотоксическое действие на клетки глиомы С6.

Изложенная совокупность основных результатов исследования SK убедительно демонстрирует ее нейротрофические свойства, но выдвигает ряд проблем фундаментального плана и создает основу для разработки конкретных подходов в биотехнологии, нейрофармакологии и патоневрологии.



## ЭКСПРЕССИЯ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В CD45+ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ СИНУКЛЕИНОПАТИЯХ

Николаев М.А.<sup>1,2\*</sup>, Усенко Т.С.<sup>1,2</sup>, Безрукова А.И.<sup>1</sup>, Богданова Д.А.<sup>1</sup>, Сенкевич К.А.<sup>1,2</sup>, Милуихина И.В.<sup>1,2,3</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> *Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, <sup>2</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, <sup>3</sup> Институт экспериментальной медицины; Санкт-Петербург, Россия*

## EXPRESSION OF ALPHA-SYNUCLEIN IN CD45+ PERIPHERAL BLOOD CELLS IN SYNUCLEINOPATHIES

Nikolaev M.A.<sup>1,2\*</sup>, Usenko T.S.<sup>1,2</sup>, Bezrukova A.I.<sup>1</sup>, Bogdanova D.A.<sup>1</sup>, Senkevich K.A.<sup>1,2</sup>, Miliukhina I.V.<sup>1,2</sup>, Pchelina S.N.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> *Petersburg Nuclear Physics Institute n.a. B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, <sup>2</sup> Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, <sup>3</sup> Institute of Experimental Medicine; St. Petersburg, Russia*

\*E-mail: Almaflex@mail.ru

Множественную системную атрофию (МСА) относят к группе нейродегенеративных заболеваний, называемых синуклеинопатиями, при которых нейродегенерация связана с формированием нейротоксичных форм белка альфа-синуклеина. В данную группу, также входит болезнь Паркинсона (БП), как наиболее распространенное заболевание из группы синуклеинопатий [1]. При МСА, в отличие от БП, агрегация альфа-синуклеина происходит в клетках глии – олигодентроцитах, с образованием глиальных цитоплазматических включений [2]. Средняя продолжительность жизни пациента после постановки диагноза составляет 6-9 лет [3]. Остается неясным причина разрушения глиальных клеток и, вероятно, более быстрое прогрессирование заболевания. Также из-за неизвестного молекулярного механизма МСА и БП отсутствуют диагностические биомаркеры, способные дифференцировать эти заболевания на ранней стадии с целью назначения эффективной лекарственной терапии.

**Цель исследования** заключалась в оценке уровня мРНК и белка гена альфа-синуклеина в CD45+ клетках периферической крови у пациентов со множественной системной атрофией, болезнью Паркинсона и у индивидуумов без неврологических заболеваний (контроль).

**Материалы и методы:** В настоящее исследование были включены 13 пациентов с МСА, 63 пациента с БП, 59 неврологических здоровых индивидуумов (контроль), сопоставимые по полу и возрасту ( $p > 0.05$ ). У всех пациентов были получены CD45+ клетки крови, выделенные из периферической венозной крови с помощью магнитной сепарации. Тотальная РНК была получена с использованием набора Rneasy mini kit (QUAGEN, Германия). кДНК была получена методом обратной транскрипции с помощью набора RevertAid First Strand cDNA (Thermo Scientific, США). Для определения

уровня мРНК гена альфа-синуклеина был использован метод с использованием набора, содержащего краситель-интеркаллятор SYBRGreen1 (SsoIlyberGreen, Bio-Rad, США) на приборе CFX896 Touch (Bio-Rad, США). В качестве референсного гена был использован конститутивно экспрессирующийся в клетках ген GNB2L1 (guanine nucleotide binding protein (G protein)). Концентрация альфа-синуклеина в лизатах CD45+ клеток проводилась методом иммуноферментного анализа с использованием набора Human alpha-synuclein ELISA kit (Invitrogen, США) на планшетном спектрофотометре BioRadxMark (США). Статистическую обработку результатов проводили с использованием встроенных пакетов R (vs 3.6.2).

**Результаты и обсуждение:** Экспрессия гена альфа-синуклеина составила 11.3 (0.25-374.2) у пациентов с МСА, 0.40 (0.01-12.85) у пациентов с БП и 0.41 (0.01-41.42) в контрольной группе. Уровень экспрессии гена альфа-синуклеина у пациентов с МСА был выше по сравнению со всеми группами, вошедшими в исследование ( $p < 0.0001$ ). Уровень белка альфа-синуклеина составил 8.1 (2.2-15.1) нг/мл у пациентов с МСА, 6.4 (0.5-36.8) нг/мл у пациентов с БП и 6.7 (1.2-28.1) нг/мл в контрольной группе. Статистически значимые различия в уровне белка альфа-синуклеина между группами не выявлены ( $p > 0.05$ ).

**Заключение:** Впервые было оценен уровень мРНК и белка альфа-синуклеина в CD45+ клетках у пациентов с МСА. Показана повышенная экспрессия гена альфа-синуклеина в CD45+ клетках у пациентов с МСА по сравнению с пациентами с БП и контролем.

#### Список литературы

1. Campbell TN, Choy FY. Gaucher disease and the synucleinopathies: refining the relationship. *Orphanet J Rare Dis.* 2012; 7 (12).
2. Fanciulli, Alessandra, and Gregor K. Wenning. Multiple-system atrophy // *New England Journal of Medicine* – 2015. – V.372. – № 1-3. – P. 249-263.
3. Papp M.I., Kahn J.E., Lantos P.L. Glial cytoplasmic inclusions in the CNS of patients with multiple system atrophy (striatonigral degeneration, olivopontocerebellar atrophy and Shy-Drager syndrome) // *J Neurol Sci.* – 1989. – V. 94. – № 1-3. – P. 79-100.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-015-00116.

**In silico АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЭФФЕКТОВ ПОЛИМОРФИЗМА  
rs1078301 ГЕНА COL27A, АССОЦИИРОВАННОГО С РАЗВИТИЕМ ОСТЕОАРТРОЗА  
КОЛЕННОГО СУСТАВА**

Новаков В.Б.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего  
образования «Белгородский государственный национальный исследовательский  
университет», Белгород*

**In silico ANALYSIS OF THE FUNCTIONAL EFFECTS OF RS1078301 POLYMORPHISM  
OF THE COL27A GENE ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF  
OSTEOARTHRITIS OF THE KNEE**

Novakov V.B.

*Belgorod National Research University*

E-mail: litovkina@bsu.edu.ru

Остеоартроз (ОА) – распространенная форма суставной патологии, дегенеративное заболевание, затрагивающее хрящ и другие суставные ткани, ведущее к потере физической активности и резко снижающее качество жизни населения, в основе которого могут лежать различные причины, включая биохимические и механические факторы. Наибольшее значение имеет ОА коленного сустава, обнаруживаемый чаще других локализаций этого патологического процесса. Согласно эпидемиологическому исследованию ОА в Европе (Zoetermeer Community Survey), распространенность ОА коленного сустава по рентгенологическим критериям составила 14 100:100 000 у мужчин и 22 800:100 000 у женщин старше 45 лет. ОА коленного сустава в 60 % случаев приводит к снижению работоспособности и в 11.5 % – к инвалидности. Вышеизложенное свидетельствует о высокой медицинской и социально-экономической значимости ОА. Поэтому вопросы этиопатогенеза данной патологии являются достаточно актуальными. В настоящее время опубликовано значительное количество научных работ, посвященных изучению молекулярно-генетических механизмов формирования и развития ОА. Особое внимание уделяется изучению вклада однонуклеотидных вариантов (SNV) генов, кодирующих единые биологические пути, вовлеченные в развитие ОА коленного сустава.

**Цель исследования:** изучить эпигенетические эффекты полиморфизма rs1078301 гена-кандидата COL27A, ассоциированного с остеоартрозом коленного сустава.

**Материалы и методы:** Отбор полиморфного локуса осуществлялся на основе данных каталога полногеномных исследований (GWAS) National Human Genome Research Institute (<http://www.genome.gov/gwastudies/>), используя критерии, представленные в работе Ponomarenko I. et al., 2019. Изучена функциональная роль полиморфизма rs1078301, показавшего GWAS-значимые ассоциации с ОА коленного сустава, и сцепленных с ним SNVs. С помощью онлайн программного обеспечения HaploReg (v4.1) и данных проекта Genotype-Tissue Expression (GTEx) рассмотрена связь изучаемого полиморфного локуса

с несинонимическими заменами (nsSNV), регуляторный потенциал (regSNV), влияние на экспрессию генов (eQTL), связь с уровнем альтернативного сплайсинга (sQTL).

**Результаты и обсуждение:** К настоящему времени опубликованы результаты 14 научных исследований, посвящённых изучению роли полиморфных локусов при формировании ОА коленного сустава, в каталоге GWAS. В ходе данных исследований обнаружены 88 однонуклеотидных вариантов, ассоциированных с данной патологией. Из каталога GWAS выявлено, что SNV rs10953541 ассоциирован с развитием ОА коленного сустава в европейской популяции.

Полиморфизм rs1078301 гена COL27A не приводит к изменению аминокислот в кодируемом полипептиде, находится в регионе мотива ДНК, являющегося сайтом связывания с транскрипционным фактором Cart1. SNV rs1078301 статистически значимо ассоциирован с уровнем экспрессии гена COL27A1 в культуре клеток фибробластов ( $p = 10^{-5}$ , NES=-0,16).

Изучаемый полиморфный локус находится в неравновесии по сцеплению с 6 SNVs ( $r^2 \geq 0,8$ ): rs891720, rs59323233, rs4979340, rs4979341, rs4979342, rs919642, обладающими значимым регуляторным потенциалом.

Выявлено, что три сцепленных SNVs (rs891720, rs4979342 и rs919642), находящихся в регионе гиперчувствительности к ДНКазе, 5 из 6 SNVs расположены в области гистонов, маркирующих энхансеры в различных тканях и органах. SNVs rs891720 находится в регионе гистонов, кодирующих промоторы в культуре клеток гепатоцеллюлярной карциномы. Все сцепленные полиморфные локусы, кроме rs59323233, расположены в регионах регуляторных мотивов ДНК к факторам транскрипции Ik-1, RREB-1, GR, TNAP1, YY1, GR, Zfp691 и др. Для всех сцепленных полиморфизмов, кроме rs59323233, выявлены значимые ассоциации с экспрессией гена COL27A1 в культуре клеток фибробластов.

Таким образом, в рамках настоящего исследования установлены эпигенетические эффекты полиморфного локуса rs1078301 гена-кандидата COL27A: он расположен в регионе мотива ДНК, являющегося сайтом связывания с транскрипционным фактором Cart1, ассоциирован с уровнем экспрессии гена COL27A1 в культуре клеток фибробластов. Все 6 SNVs, находящихся с ним в неравновесии по сцеплению ( $r^2 \geq 0,8$ ), также имеют значимую функциональную роль.

## СТРЕСС ОТЦА ВЛИЯЕТ НА СПОСОБНОСТЬ К ОБУЧЕНИЮ И ПАМЯТЬ ПОТОМКОВ

Ордян Н.Э.<sup>1\*</sup>, Малышева О.В.<sup>1,2</sup>, Холова Г.И.<sup>1</sup>, Акулова В.К.<sup>1</sup>, Пивина С.Г.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, <sup>2</sup>Институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта; Санкт-Петербург*

## PATERNAL STRESS AFFECTS THE OFFSPRING LEARNING ABILITY AND MEMORY

Ordyan N.E.<sup>1\*</sup>, Malysheva O.V.<sup>1,2</sup>, Holova G.I.<sup>1</sup>, Akulova V.K.<sup>1</sup>, Pivina S.G.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>*Pavlov Institute of Physiology, <sup>2</sup> D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia*  
\*E-mail: neo@infran.ru

Многочисленные экспериментальные и клинические данные указывают на значимое влияние неблагоприятных факторов на организм отца, проявляющихся различными нарушениями физиологических функций у их потомков. Особое место в ряду таких неблагоприятных факторов, занимают те, которые приводят к изменению гормонального баланса. Это относится, прежде всего, к гормонам стресса – глюкокортикоидам. Их повышение наблюдается не только в результате стресса, но и при различных психических заболеваниях, нарушении питания, злоупотреблении алкоголем и т.д. Такие психопатологии как депрессия, посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) и некоторые другие в человеческой популяции зачастую коррелирует с воздействием стрессовых факторов. При этом в отношении эффектов отцовского стресса и его психического состояния на момент зачатия, а также механизмов выявляемых нарушений у их потомков известно мало. Тем не менее, проведение исследований с учетом «фактора отца» для здоровья детей представляется актуальным в связи с распространенностью психических нарушений и сниженной фертильности у мужского населения.

**Цель исследования:** экспериментальная проверка гипотезы негативного влияния ПТСР, которым отцы страдают в репродуктивном возрасте, на способности к обучению их потомков. Развитие ПТСР связано с воздействием сильного травматического стресса. В результате развивается тревожная патология, сопровождающаяся существенным изменением активности гипофизарно-адренокортикальной системы: снижением базального уровня глюкокортикоидов на фоне повышенной стрессорной реактивности системы.

Для моделирования ПТСР в эксперименте использовали парадигму «стресс-рестресс» как наиболее полно воспроизводящую клиническую картину заболевания. В этой парадигме самцов крыс подвергали воздействию травматического стресса, состоящего из последовательно применяемых стрессоров: 2-часовая иммобилизация, 20-минутное плавание и эфирный стресс до потери сознания. Триггером для развития патологического состояния служил повторный стресс (рестресс), заключающийся в 30-минутной экспозиции иммобилизационному стрессу через 6 суток после травматического стресса.

**Результаты и обсуждение:** Как показали наши исследования, после рестресса сниженный базальный уровень глюкокортикоидов в крови у самцов наблюдается до месяца и сопровождается нарушением процесса сперматогенеза. Тем не менее, такие самцы сохраняют способность к оплодотворению самок.

Потомство, рожденное от самцов с моделированием ПТСР, имело сниженный вес на 5 и 10 дни жизни. Кроме того, у потомков подопытных самцов обнаружено повышение уровня кортикостерона (КС) в крови на 2-й день жизни по сравнению с потомками контрольных самцов. При этом повышенный уровень КС был обнаружен только у потомков самцов, но не самок. У взрослых потомков стрессированных отцов исследовали способность к обучению и память с использованием теста «реакция пассивного избегания» (РПИ). Тест проводили в камере, состоящей из светлого и темного отсеков, разделенных отверстием с дверцей. Темный отсек имел пол из металлических прутьев, подключенных к источнику электрического тока. В первую сессию обучения крысу помещали в светлый отсек, через 10 секунд дверцу в темный отсек открывали. После перехода крысы в темный отсек дверцу закрывали, а животное получало электрокожное раздражение 0.9 мА длительностью 2 сек. Через 24 часа после первого тестирования крысу вновь помещали в светлый отсек и фиксировали латентный период входа животного в темный отсек. Для изучения угашения РПИ крыс повторно тестировали через 1, 2 и 3 недели. Выявлено, что самцы крыс, родившихся от отцов, подвергавшихся стрессу, имеют меньший латентный период входа в темный отсек камеры во второй день теста по сравнению с контрольными животными. Обнаружено нарушение у подопытных самцов не только процесса консолидации памяти, но и реконсолидации памяти. При этом у самок – потомков стрессированных самцов существенных нарушений памяти не обнаружено.

В связи с тем, что инсулиноподобному фактору роста II принадлежит важнейшая роль в процессах консолидации и реконсолидации памяти, в отдельной серии экспериментов изучена экспрессия гена *Igf2* в мозге потомков подопытных и контрольных самцов методом ПЦР в режиме реального времени. Снижение экспрессии *Igf2* в неокортексе и гиппокампе выявлено только у самцов – потомков стрессированных отцов.

**Заключение:** Можно заключить, что ПТСР-подобное состояние самцов отцов в период сперматогенеза оказывает существенное влияние на соматическое развитие и память потомков, при этом ПТСР-подобное состояние отцов в большей мере сказывается на потомках самцах.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ №18-015-00186.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В СЕМЬЯХ, ИМЕЮЩИХ  
ПРОБАНДА С НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ 21-ГИДРОКСИЛАЗЫ И ПЛАНИРУЮЩИХ  
ПРЕНАТАЛЬНУЮ ДИАГНОСТИКУ**

Осиновская Н.С.<sup>1,2\*</sup>, Султанов И.Ю.<sup>1</sup>, Насыхова Ю.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ АГуР им. Д.О. Отта»

<sup>2</sup>СЗГМУ им. И.И. Мечникова; Санкт-Петербург

**MOLECULAR GENETIC STUDY IN FAMILIES THAT HAVE A PROBAND WITH A 21-  
HYDROXYLASE DEFICIENCY AND PLAN A PRENATAL DIAGNOSIS**

Osinovskaya N.S.<sup>1,2</sup>, Sultanov I.Yu.<sup>1</sup>, Nasyhova Yu.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, <sup>2</sup>North-Western State  
Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation*

E-mail: natosinovskaya@mail.ru

Самая частая форма врождённой дисфункции коры надпочечников (ВДКН) – дефицит фермента 21-гидроксилазы. Молекулярная диагностика данной патологии основана на выявлении мутаций (90% – следствие рекомбинации между двумя генами CYP21A2 и CYP21A1P) в гене CYP21A2, который картирован в локусе 6p21.3 и кодирует фермент 21-гидроксилазу.

Проведено молекулярно-генетическое исследование в двух семьях, каждая из которых имеет пробанда с ВДКН, и планирующих беременность. Использованы методы ПЦР-ПДРФ анализа, ПЦР в реальном времени и секвенирование по Сэнгеру.

1 семья. У пробанда идентифицирована мутация i2splice (rs6467) в гомозиготном состоянии. При анализе ДНК родителей у мамы выявлена данная мутация в гетерозиготном состоянии, у отца – i2splice в компаунде с мутацией Q318X (rs7755898) и дополнительная копия гена CYP21A2. У плода при тестировании идентифицированы мутации i2splice и Q318X при наличии дополнительной копии гена. Сделан вывод о генетическом несоответствии плода и пробанда.

2 семья. У пробанда идентифицирована мутация I172N (rs6475) в гомозиготном состоянии. У мамы выявлена данная мутация в гетерозиготном состоянии, у отца при использовании того же метода мутации не идентифицированы. При использовании дополнительных праймеров на разные участки гена CYP21A2 и псевдогена CYP21A1P и проведении секвенирования по Сэнгеру, у отца идентифицировано присутствие фрагмента псевдогена в 5'-области гена, что препятствовало посадке генспецифичных праймеров.

В обеих семьях дополнительно исследованы полиморфные маркеры хромосомы 6: гены MICA и DQA для установления информативности семей с целью информирования о возможности проведения пренатальной диагностики (ПД) ВДКН. Таким образом, для обеих семей при молекулярно-генетическом исследовании мутаций с использованием ПЦР-ПДРФ анализа, ПЦР в реальном времени и секвенирования по Сэнгеру, сделан вывод о возможности

проведения пренатального генетического тестирования с применением прямого метода идентификации мутаций и данных по информативности семей по полиморфным маркерам.

При подготовке семей, имеющих пробанда с недостаточностью 21-гидроксилазы к ПД, необходимо комбинированное исследование всех членов семьи с привлечением не только информации по мутациям, но и данных по внегенному полиморфизму, а также с использованием разнообразных методов генетического анализа.



## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ТРАНСПОРТЕРОВ ХОЛЕСТЕРИНА ABCA1 И ABCG1 В ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ОЖИРЕНИИ И ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Пантелеева А.А.<sup>1,2,\*</sup>, Побожева И.А.<sup>1,2</sup>, Разгильдина Н.Д.<sup>1</sup>, Драчева К.В.<sup>1</sup>, Полякова Е.А.<sup>1,2</sup>, Марков А.В.<sup>3</sup>, Бровин Д.Л.<sup>2</sup>, Беляева О.Д.<sup>2</sup>, Беркович О.А.<sup>2</sup>, Назаренко М.С.<sup>3</sup>, Пузырев В.П.<sup>3</sup>, Баранова Е.И.<sup>2</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,2</sup>, Мирошникова В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, <sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, <sup>3</sup>Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск

## REGULATION OF ABCA1 AND ABCG1 GENE EXPRESSION IN THE ADIPOSE TISSUE AT OBESITY AND CAD

Panteleeva A.<sup>1,2,\*</sup>, Pobozyeva I.<sup>1,2</sup>, Razgildina N.<sup>1</sup>, Dracheva K.<sup>1</sup>, Polyakova E.<sup>1,2</sup>, Markov A.<sup>3</sup>, Brovin D.<sup>2</sup>, Belyaeva O.<sup>2</sup>, Berkovich O.<sup>2</sup>, Nazarenko M.<sup>3</sup>, Puzyrev V.<sup>3</sup>, Baranova E.<sup>2</sup>, Pchelina S.<sup>1,2</sup>, Miroshnikova V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Petersburg Nuclear Physics Institute, St. Petersburg, <sup>2</sup>First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, <sup>3</sup>Tomsk National Research Medical Center, Tomsk

\*E-mail: aleksandra9122@mail.ru

Висцеральное ожирение ассоциировано с развитием метаболического синдрома (МС), нарушением процессов обмена липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и обратного транспорта холестерина (ОТХ) и, как следствие, с повышенным риском развития сердечно-сосудистой патологии. Ключевую роль в регуляции ОТХ играют транспортеры ABCA1 и ABCG1. Осуществляя элиминацию холестерина из макрофагов сосудистой стенки, ABCA1 и ABCG1 предотвращают образование атеросклеротических бляшек. Однако при ожирении холестерин в избыточном количестве накапливается в жировой ткани, что может влиять на функцию адипоцитов. Эпикардальная жировая ткань (ЭЖТ) имеет особенно важное значение из-за ее анатомической близости к коронарному руслу, которое предполагает ее локальное влияние на воспалительные и атерогенные процессы в прилегающих к ней сосудах. Мы предположили, что экспрессия генов ABCA1 и ABCG1 в жировой ткани может быть ассоциирована с развитием ожирения и ишемической болезнью сердца (ИБС).

**Цель работы:** исследование экспрессии и уровня метилирования генов транспортеров ABCA1 и ABCG1, а также экспрессии генов их основных транскрипционных факторов в различных типах жировой ткани при ожирении и ИБС.

**Материалы и методы:** Парные образцы подкожной и висцеральной жировой ткани (ПЖТ и ВЖТ) – 62 женщины без сердечно-сосудистой патологии, с различной степенью выраженности метаболических нарушений (средний возраст  $49 \pm 12$  лет) – были собраны при плановых операциях на брюшной полости. Парные образцы ПЖТ и ЭЖТ – 65 пациентов с ИБС и 16 лиц без ИБС (средний возраст  $62 \pm 9$ ) – были собраны при операции коронарного шунтирования или по поводу клапанных пороков, соответственно. Уровень мРНК генов

ABCA1, ABCG1, PPARG, NR1H3 (LXRa), RORA в образцах жировой ткани оценивали методом ПЦР в реальном времени. Степень метилирования регуляторных областей генов ABCA1

и ABCG1 в ЭЖТ и ПЖТ у пациентов с ИБС и в группе сравнения определяли методом пиросеквенирования после бисульфитной обработки ДНК жировой ткани.

**Результаты:** Выявлено снижение мРНК гена ABCG1 в ПЖТ у женщин с МС ( $p < 0.05$ ). Анализ парных образцов ПЖТ и ВЖТ показал, что более значимым в отношении прогноза развития атерогенной дислипидемии и МС при ожирении может являться соотношение экспрессии генов ABCA1 и ABCG1 в ПЖТ и ВЖТ. Так, у лиц с нормальным весом без метаболических нарушений уровень мРНК гена ABCG1 в ПЖТ выше, чем в ВЖТ, а при развитии МС содержание мРНК гена ABCG1 в ВЖТ относительно ПЖТ увеличивается. Лицам с повышением содержания мРНК гена ABCA1 в ПЖТ относительно ВЖТ характерен более высокий уровень ЛПВП. При этом наблюдается снижение уровня мРНК гена PPARG при ожирении ( $p < 0.001$ ) на фоне отрицательной корреляции уровня мРНК PPARG в ПЖТ с индексом массы тела ( $r = -0.780$  и  $p = 0.000$ ), окружностью талии ( $r = -0.573$  и  $p = 0.005$ ) и с индексом инсулинорезистентности ( $r = -0.611$ ,  $p = 0.015$ ).

Продемонстрировано увеличение степени метилирования ДНК регуляторных областей генов ABCA1 и ABCG1 в ЭЖТ по сравнению с ПЖТ ( $p < 0.01$ ). Более высокий уровень метилирования ДНК генов ABCA1 и ABCG1 в ЭЖТ наблюдался у пациентов с ИБС по сравнению с группой сравнения ( $p < 0.01$ ;  $p < 0.05$ ). Уровень мРНК гена ABCA1 был статистически значимо снижен в ЭЖТ и ПЖТ в подгруппе пациентов с одновременным атеросклеротическим поражением коронарного и других артериальных бассейнов ( $p < 0.05$ ). Различий в уровне мРНК гена ABCG1 в ЭЖТ и ПЖТ между группой пациентов с ИБС и группой сравнения не выявлено. Уровень мРНК PPARG был снижен в подгруппе пациентов с ИБС и ожирением.

**Заключение:** Соотношение экспрессии генов ABCA1 и ABCG1 в ПЖТ и ВЖТ может являться значимым фактором в отношении прогноза развития МС. Метилирование ДНК регуляторных областей генов ABCA1 и ABCG1 в ЭЖТ может играть роль в развитии ИБС. Снижение экспрессии гена PPARG может вносить вклад в риск развития ИБС при ожирении.

Исследование поддержано грантами РФФИ мол\_а 18-315-00382 и а 20-015-00502.

## НАПРАВЛЕННАЯ МОДУЛЯЦИЯ ОСТЕОГЕНЕЗА: ВКЛАД $\beta$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Пасатецкая Н.А.<sup>1</sup>, Лопатин А.И.<sup>1</sup>, Лопатина Е.В.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» МЗ РФ,  
<sup>2</sup>ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН, <sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ; Санкт-Петербург

## DIRECTED MODULATION OF OSTEOGENESIS: CONTRIBUTION OF $\beta$ -ADRENORECEPTORS

Pasatetckaia N.A.<sup>1</sup>, Lopatin A.I.<sup>1</sup>, Lopatina E.V.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, <sup>2</sup>Pavlov Institute of Physiology, <sup>3</sup>Pavlov First St. Petersburg State Medical University; St. Petersburg, Russia  
E-mail: 79046449523@yandex.ru

Участие симпатической нервной системы в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний не вызывает сомнений. Ряд клинических исследований свидетельствует о снижении риска развития переломов и увеличении минеральной плотности кости у пациентов с артериальной гипертензией, получающих лечение кардиоселективными  $\beta_1$ -адреноблокаторами (Bonnet et al., 2007; Turker S. et al., 2006; Toulis et al., 2014). В то время как другие исследования не обнаруживают связи между остеопорозом и приемом адреноблокаторов (Lavasseur et al., 2005; Reid et al., 2005) или демонстрирует достоверное увеличение количества переломов и снижение маркера костеобразования по сравнению с контрольной группой (Rejnmark et al., 2006). Полученные *in vivo* и *in vitro* экспериментальные данные о положительном влиянии адреноблокаторов на остеогенез и участии катехоламинов в процессах остеоремоделирования противоречивы и недостаточны. Адаптация ткани кости к изменяющимся условиям окружающей среды осуществляется за счет разрушения старой ткани остеокластами и формирование новой кости остеобластами. Нарушение баланса синтетических и резорбтивных процессов приводит к развитию остеопении и остеопороза. Развитие остеопороза на фоне уже имеющихся сердечно-сосудистых и метаболических патологий провоцирует активный поиск общих патогенетических механизмов, лежащих в основе этих заболеваний и путей их фармакологической коррекции.

**Цель работы:** Исследовать участие  $\beta$ -адренорецепторов в ремоделировании ткани кости в условиях органотипического культивирования ткани.

**Материалы и методы:** Эксплантаты ткани кости 10-12-дневных куриных эмбрионов культивировали в чашках Петри на коллагеновой подложке в питательной среде в CO<sub>2</sub>-инкубаторе («Сапуо», Япония) в течение 3-х суток при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. В питательную среду экспериментальных чашек Петри добавляли адреналин в диапазоне концентраций

$10^{-14}$  М –  $10^{-4}$  М, норадреналин ( $10^{-13}$  М –  $10^{-9}$  М), пропранолол ( $10^{-10}$  М –  $10^{-4}$  М), метопролол ( $10^{-10}$  М –  $10^{-4}$  М) и атенолол ( $10^{-8}$  М –  $10^{-4}$  М). Анализ полученных данных проводили с использованием морфометрического метода и метода реконструкции оптических срезов. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы STATISTICA 10.0. При сравнении контрольной и экспериментальной групп использовали t-критерий Стьюдента для двух независимых выборок. В части работы использовали оборудование ЦКП «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

**Результаты:** В ходе работы не удалось выявить стимулирующего рост эксплантатов ткани кости действия неселективного  $\beta$ -адреноблокатора пропранолола и селективных  $\beta_1$  – адреноблокаторов (атенолола и метопролола) в исследуемом диапазоне концентраций. При оценке эффектов катехоламинов на рост эксплантатов ткани кости установлено, что в высоких концентрациях адреналин ( $10^{-4}$  М) и норадреналин ( $10^{-5}$  М) оказывают остеотоксическое действие, связанное с активацией  $\beta_2$ -адренорецепторов. В отличие от адреналина, норадреналин стимулировал рост эксплантатов ткани кости в концентрации  $10^{-6}$  М. Трофотропное действие препарата не было связано с влиянием на  $\beta$ -адренорецепторы и сохранялось в присутствии всех исследованных адреноблокаторов.

**Заключение:** В условиях органотипического культивирования ткани кости 10-12-дневных куриных эмбрионов не выявлено положительное влияние исследуемых адреноблокаторов на остеогенез. Ингибиторный анализ свидетельствует о вовлеченности  $\beta_2$ -адренорецепторов в процесс остеоремоделирования.

#### Список литературы

1. Bonnet N., Gadois C., McCloskey E. et al. Protective effect of beta-blockers in postmenopausal women: influence on fractures, bone density, micro and macroarchitecture. *Bone* 2007; 40: 1209-1216.
2. Lavasseur R., Marcelli C., Savatier J.P. et al. Beta-blockers use, BMD, and fractures risk in older women: results from the Epidemiologie de L'Osteoporose Prospective Study. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53: 550-552.
3. Reid I.R., Lucas J., Wattie D. et al. Effects of a beta-blocker on bone turnover in normal postmenopausal women. Randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5212-5216.
4. Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L. Treatment with beta-blockers, ACE inhibitors, and calcium-channel blockers is associated with a reduced fracture risk: a nationwide casecontrol study. *J Hypertens* 2006; 24: 581-589.
5. Toulis K.A., Hemming, K., Stergianos, S. et al.  $\beta$ -Adrenergic receptor antagonists and fracture risk: a meta-analysis of selectivity, gender, and site-specific effects. *Osteoporosis International*. 2014; 25 (1): 121-129.

6. Turker S., Karatosun V., Gunai I. Beta-blockers increase bone mineral density. Clin Orthop 2006; 443: 73-74.

## ДЕСТАБИЛИЗАЦИИ ГЕНОМА И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *CLOCK*, *ACE*, *PER3* У ШКОЛЬНИКОВ СТАРШИХ КЛАССОВ, ПРОЖИВАЮЩИХ В ЗАПОЛЯРЬЕ

Петрашова Д.А., Коломейчук С.Н., Михайлов Р.Е., Пожарская В.В.  
Федеральный исследовательский центр «Кольский научный центр РАН»

## GENOME DESTABILIZATION AND POLYMORPHISM OF THE *CLOCK*, *ACE*, *PER3* GENES IN SENIOR SCHOOLCHILDREN LIVING IN THE ARCTIC

Petrashova D.A., Kolomeychuk S.N., Mikhailov R.E., Pozharskaya V.V.  
Federal Research Center "Kola Science Center RAS"  
E-mail: dinapetrashova@mail.ru

**Цель исследования:** изучить связь между полиморфными вариантами циркадианных и ассоциированных с ними генов *CLOCK*, *ACE*, *PER3* и уровнем дестабилизации генома у школьников старших классов, проживающих в условиях Заполярья.

**Материалы и методы:** Обследованы 77 школьников в возрасте 15-17 лет. Проведено тестирование: тест SAN, тест Спилбергера-Ханина, Питтсбургский тест качества сна PSQI и тест определения хронотипа Хорна-Остберга. Препараты буккального эпителия готовили в соответствии со стандартными методами. ДНК выделяли из 200 мкл слюны подростков с использованием набора для экстракции геномной ДНК DiaGene (Dia\_M, Россия). Амплификация генов *CLOCK*, *ACE* и *PER3* проводилась с использованием полимеразной цепной реакции на приборе Терцик (ДНК-Технология, Россия). Статистическую значимость различий частот аллелей и генотипов оценивали с помощью теста  $\chi^2$ .

**Результаты и обсуждение:** По результатам анкетирования с использованием теста Хорна-Остберга большая часть детей имела промежуточный хронотип (53 % мальчиков и 60 % девочек). Оценка уровня ситуативной тревожности показала, что у мальчиков был выражен средний уровень ситуативной тревожности (67 %), а у девочек средний и высокий уровни тревожности были одинаковыми (по 43 %). Анализ результатов микроядерного теста на клетках буккального эпителия показал, что средние значения частоты клеток с микроядрами в исследуемой группе не отличались от показателя для среднепопуляционной нормы в 2-4 % (Tolbert, Shy and Allen 1992). Показано, что частота цитогенетических нарушений (ЦН) в клетках буккального эпителия не зависит от хронотипа детей. Однако для детей с различным хронотипом выявлены статистически значимые различия по частоте некоторых стадий деструкции ядра. Так, частота клеток с кариорексисом у детей с определенно вечерним ( $0.2 \pm 0.10$  %) и умеренно вечерним ( $0.2 \pm 0.03$  %) хронотипом статистически значимо выше, чем у детей с промежуточным ( $0.1 \pm 0.03$  %) и умеренно утренним хронотипом ( $0.1 \pm 0.03$  %). Частота клеток с кариопикнозом статистически значимо выше у детей с умеренно утренним хронотипом по сравнению с определенно вечерним и умеренно вечерним хронотипами ( $p < 0.05$ ). Анализ ЦН у детей с различными вариантами

полиморфных генов ACE, PER3, CLOCK показал, что при варианте I/D гена ACE частота клеток с протрузиями ( $1.0 \pm 0.16$  %) статистически значимо выше, чем при варианте D/D ( $0.6 \pm 0.24$  %). Частота клеток с микроядрами и конденсацией хроматина статистически значимо выше варианте 4/4 полиморфного маркера VNTR гена PER3 ( $3.1 \pm 0.3$  % и  $5.0 \pm 0.49$ %, соответственно) относительно варианта 4/5 ( $2.4 \pm 0.38$  % и  $3.5 \pm 0.43$  %, соответственно). При варианте C/C полиморфного маркера rs1801260 гена CLOCK частота клеток с микроядрами и кариопикнозом статистически значимо выше ( $4 \pm 0.7$  % и  $0.6 \pm 0.1$  %, соответственно), чем при варианте T/C ( $2.4 \pm 0.27$  % и  $0.3 \pm 0.06$ %, соответственно). Анализ хронотипа показал, что большая часть детей имела промежуточный хронотип (56 %), вечерний хронотип имели 34 %, а утренний – 10 %. В то же время, согласно генотипированию по гену PER3, у 14 % детей имеется генотип 5/5, который относится к утреннему хронотипу. Таким образом, у детей г. Апатиты происходит смещение хронотипа к более позднему. Наши данные согласуются с ранее опубликованными работами других авторов, свидетельствующими о значительном увеличении распространенности на Севере представителей «позднего» хронотипа, на которых оказывает сильное негативное влияние климатические и социальные факторы Севера. Показано, что наименьшая частота клеток с различными ЦН характерна для генотипов генов ACE и CLOCK, ассоциированных с повышенными рисками возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. Наибольшая частота клеток с ЦН была выявлена у детей с «вечерним» вариантом гена PER3.

**Заключение:** Полученные результаты имеют важное значение для формирования правил по гигиене образовательного процесса и сна у школьников, проживающих в условиях Крайнего Севера. Необходимо перенести время начала школьных занятий на более позднее время, так как для северян, более характерен промежуточный хронотип; уменьшить объем домашних заданий, чтобы дети ложились спать раньше. Реализация данных рекомендаций позволит снизить уровень тревожности у школьников, повысит успеваемость и снизит риск возникновения в будущем различных серьезных патологий у детей из группы риска.

## ПРОФИЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ БРОНХОЛЕГОЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Пономарева А.А.<sup>1\*</sup>, Гервас П.А.<sup>1</sup>, Панкова О.В.<sup>1</sup>, Щеголева А.А.<sup>1,2</sup>, Киселев А.М.<sup>1,3</sup>, Зарубин А.А.<sup>4</sup>, Чердынцева Н.В.<sup>1,2</sup>, Перельмутер В.М.<sup>1</sup>, Денисов Е.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии Томского НИМЦ, <sup>2</sup>Томский государственный университет, Томск, <sup>3</sup>ФГБУ "НМИЦ им. В.А. Алмазова" МЗ ЗФ, Санкт-Петербург, <sup>4</sup>НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск

## DNA METHYLATION PROFILE IN PRECANCEROUS AND IN CANCEROUS LESIONS OF THE BRONCHIAL EPITHELIUM

Ponomaryova A.A.<sup>1\*</sup>, Gervas P.A.<sup>1</sup>, Pankova O.V.<sup>1</sup>, Shegoleva A.A.<sup>1,2</sup>, Kiselev A.M.<sup>1,3</sup>, Zarubin A.A.<sup>4</sup>, Cherdyntseva N.V.<sup>1,2</sup>, Perelmuter V.M.<sup>1</sup>, Denisov E.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, <sup>2</sup>Tomsk State University, Tomsk, <sup>3</sup>Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, <sup>4</sup>Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center; Tomsk, Russia

\*E-mail: anastasia-ponomaryova@rambler.ru

Плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ) возникает в результате прогрессивно развивающихся на фоне хронического воспаления предопухолевых изменений эпителия бронхов: базальноклеточной гиперплазии (БКГ), плоскоклеточной метаплазии (ПМ) и дисплазии I-III степеней. Предопухолевый процесс может прерваться на любой стадии – оставаться в стабильном состоянии, реверсировать или прогрессировать. Причины и механизмы разных «сценариев» изменения бронхиального эпителия неизвестны. В связи с этим актуальным является выявление маркеров не только специфичных для БКГ, ПМ и дисплазии I-III степени, но и однозначно прогнозирующих их прогрессию в ПКРЛ.

**Материалы и методы:** С помощью лазерной микродиссекции (PALM, Carl Zeiss) получали образцы БКГ, ПМ, дисплазия и ПКРЛ. Для приготовления ДНК-библиотек использовали набор Pico Methyl-Seq Library Prep Kit (Zymo Research). Бисульфитное секвенирование проводили в режиме PE150 на приборе HiSeq X (Illumina).

**Результаты.** В БКГ выявлены значимые изменения уровня метилирования отдельных CpG-сайтов в области экзонов для следующих генов: гиперметилование STBP2, MUC6, MUC12 и гипометилование UPF1, ATF4, MUC5AC, а также гипометилование в области интронов генов VAGE и GPHN. При переходе от метаплазии к дисплазии найдены значимые изменения уровня метилирования отдельных CpG-сайтов: 1) гипометилование в области экзона гена MUC3A, 2) гиперметилование в области интронов генов UPS48, CC2D2A и гипометилование интронов генов FBLN7, AFG1L, GPC5, WDR59, GPR83, ATXN2, FBXO36. Переход от дисплазии к ПКРЛ характеризовался гиперметилованием в области экзонов генов MUC3A и CDC27, гиперметилованием интронных участков генов UTP6, TTC34RBM6, SENP5 и гипометилованием интронов генов UNC45B, SYNE2, SUPT3H, ZDHHC21, FER. Кроме того, выявлена тенденция к увеличению/снижению уровня



метилирования отдельных CpG-сайтов генов FBP1, PNLIPRP2, AK8, CHN2, SLC01B3, C11orf58, TMEM71 и POLR1A в ряду: БКГ – ПМ – дисплазия – ПКРЛ.

**Заключение:** Таким образом, полученные данные указывают на то, что метилирование ДНК в клетках эпителия бронхов в значительной степени меняется во время предопухолевых изменений, в т.ч. на ранних стадиях – на этапе гиперплазии и метаплазии. Дальнейшие исследования необходимы для выяснения того, какие из обнаруженных изменений метилирования ДНК могут выступать в роли триггеров прогрессии предопухолевых изменений в ПКРЛ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-06002, стипендии Президента РФ (№ СП-1549.2018.4, 2018-2020 гг.).

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ВОЗРАСТА МЕНАРХЕ У НАСЕЛЕНИЯ РОССИИ

Пономаренко И.В.\*, Решетников Е.А.

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет. Белгород*

## GENETIC FACTORS OF THE AGE OF MENARCH IN A RUSSIAN POPULATION

Ponomarenko I.V.\*, Reshetnikov E.A.

*Belgorod State University, Belgorod, Russia*

E-mail: ponomarenko\_i@bsu.edu.ru

**Введение:** Одним из основных индикаторов пубертатного развития женщины является возраст менархе, характеризующий функционирование ее гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы. Возраст менархе связан с фертильностью женщины и возможными проблемами со здоровьем в ее дальнейшей жизни. Данные литературы свидетельствуют о существенной роли наследственных факторов (53-74 %) в становлении менархе. Результаты проведенных полногеномных исследований (GWAS) указывают на вовлеченность в формирование менархе более 350 полиморфных локусов. В тоже время есть лишь единичные работы, посвященные изучению генетических факторов менархе у населения России.

**Цель исследования:** анализ межгенных взаимодействий rs6438424 3q13,32, rs1073768 GHRH,rs4633 COMT и rs7579411 LHCGR с возрастом менархе у женщин России.

**Материал и методы:** Группу исследования составили 1613 женщин русской национальности, родившиеся в Центральном Черноземье России, не являющиеся родственниками, добровольно согласившиеся на проведение исследования. Информация о возрасте менархе была получена при опросе женщин. Возрастом менархе считался возраст (лет) первых менструальных кровянистых выделений от даты рождения. Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 6 мл, взятая из локтевой вены пробанда. Выделение геномной ДНК из периферической крови проведено методом фенольно-хлороформной экстракции. Проведено генотипирование четырех молекулярно-генетических маркеров rs6438424 3q13,32, rs1073768 GHRH,rs4633 COMT и rs7579411 LHCGR. Исследование полиморфных локусов проводилось с помощью метода полимеразной цепной реакции с использованием соответствующих праймеров и зондов на амплификаторе CFX96. С помощью метода MB-MDR (с учетом коррекции на ковариату год рождения) проведен анализ ген-генных взаимодействий, ассоциированных с возрастом менархе.

**Результаты и обсуждение:** При изучении распределения частот генотипов по изучаемым локусам выявлено, что для них выполняется равновесие Харди-Вайнберга ( $p > 0.05$ ). Выявлено эпистатическое взаимодействие полиморфных локусов rs6438424 3q13,32xrs1073768 GHRHxrs4633 COMTxrs7579411 LHCGR, ассоциированное с возрастом менархе ( $p_{perm} < 0.001$ ). Наибольшую статистическую значимость имеет комбинация

генотипов по четырем выше указанным полиморфным локусам, связанная с ранним менархе: rs6438424 AA3q13.32xrs1073768 GAGHRHxrs4633 TTCOMTxrs7579411 CCLHCGR (beta = -1.116, p = 0.00003).

Таким образом, эпистатическое взаимодействие полиморфных локусов rs6438424 3q13,32xrs1073768 GHRHxrs4633 COMTxrs7579411 LHCGR ассоциировано с возрастом менархе у женщин России.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №18-415-310001 «Изучение генетических факторов менархе у женщин Центрального Черноземья России».

## **ВЫБОР ТАКТИКИ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ НОСИТЕЛЕЙ Y;АУТОСОМНЫХ ТРАНСЛОКАЦИЙ**

Пуппо И.Л.<sup>1,2\*</sup>, Сайфитдинова А.Ф.<sup>1,3</sup>, Логинова Ю.А.<sup>4</sup>, Кинунен А.А.<sup>1,5</sup>, Тонян З.Н.<sup>6</sup>, Пастухова Ю.Р.<sup>1</sup>, Леонтьева О.А.<sup>1</sup>, Кузнецова Р.А.<sup>1</sup>, Панина А.Н.<sup>1</sup>, Чиряева О.Г.<sup>6</sup>, Ефимова О.А.<sup>6</sup>, Полякова И.В.<sup>7</sup>, Щербак С.Г.<sup>7,8</sup>, Глотов О.С.<sup>6,7</sup>, Бичева Н.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Международный центр репродуктивной медицины; <sup>2</sup>Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова МЗ РФ; <sup>3</sup>Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена; <sup>4</sup>DiaCarta, Inc, USA; <sup>5</sup>СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический); <sup>6</sup>Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта; <sup>7</sup>СПб ГБУЗ Городская больница № 40; <sup>8</sup>Санкт-Петербургский государственный университет

## **CHOICE OF PREPLANTATION GENETIC TESTING FOR CARRIERS OF Y;AUTOSOME TRANSLOCATION**

Puppo I.L.<sup>1,2\*</sup>, Saifitdinova A.F.<sup>1,3</sup>, Loginova Y.A.<sup>4</sup>, Kinunen A.A.<sup>1,5</sup>, Tonayn Z.N.<sup>6</sup>, Pastuhova Y.R.<sup>1</sup>, Leontyeva O.A.<sup>1</sup>, Kuznetsova R.A.<sup>1</sup>, Panina A.N.<sup>1</sup>, Shiryayeva O.G.<sup>6</sup>, Pendina A.A.<sup>6</sup>, Efimova O.A.<sup>6</sup>, Polyakova I.V.<sup>7</sup>, Shcherbak S.G.<sup>7,8</sup>, Glotov O.S.<sup>6,7</sup>, Bichevaya N.K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>International centre of reproductive medicine; <sup>2</sup>Almazov National Medical Research Centre; <sup>3</sup>Herzen State Pedagogical University of Russia; <sup>4</sup>DiaCarta, Inc., USA; <sup>5</sup>St. Petersburg Centre for Medical Genetics; <sup>6</sup>Ott Research Institute of Obstetrics Gynecology and Reproductology, <sup>7</sup>City Hospital No 40; <sup>9</sup>St. Petersburg State University, Russian Federation

\*E-mail: il\_trofimova@list.ru

Y;аутосомные перестройки происходят с участием сателлитной ДНК гетерохроматина Y-хромосомы, который преимущественно транслоцируется на короткие плечи акроцентрических хромосом. Наиболее часто в Y;аутосомные транслокации вовлечены хромосомы 15 и 22. Носители таких дериватных аутосом фенотипически нормальны. Однако в семьях, где один из супругов является носителем Y;аутосомной транслокации, могут обнаруживаться нарушения сперматогенеза, невынашивание беременности, повышенная частота образования несбалансированных гамет, а также могут увеличиваться риски развития новообразований. Современные молекулярно-генетические подходы к анализу хромосомной патологии, такие как массовое параллельное секвенирование (NGS) или сравнительная геномная гибридизация (aCGH), не позволяют осуществлять анализ высокоповторяющихся последовательностей, в том числе сателлитных ДНК. Однако использование метода флуоресцентной in situ гибридизации (FISH) дает возможность проводить такие исследования.

**Цель исследования:** Анализ наследования дериватных Y;аутосом и их возможного влияния на сегрегацию гоносом и других аутосом в зависимости от хромосомы, участвующей в транслокации, и от пола носителя.

**Материалы и методы:** Исследования проведены в четырех семьях носителей дериватной аутосомы Y;15 или Y;22, обратившихся по поводу бесплодия. В семьях 1-3 носителями являлись мужчины, в семье 4 – женщина. Для анализа наследования дериватной аутосомы, сегрегации гоносом, а также частоты анеуплоидий по хромосомам,

не вовлеченных в перестройку, использовали оценки комбинации флуоресцентных сигналов, полученных с использованием (FISH) на 76 ядрах бластомеров третьего дня развития. Верификацию результатов FISH проводили методом NGS на стадии бластоцисты в клетках трофэктодермы.

**Результаты и обсуждение:** Мы не выявили нарушений сегрегации гоносом и дериватных аутосом, образованных в результате Y;acroцентрических транслокаций, независимо от аутосомы, участвующей в транслокации, и пола носителя. Однако в случае носительства дериватной аутосомы Y;15 или Y;22 мужчиной наблюдается ее преимущественное наследование. Метод NGS не выявил сателлитной ДНК гетерохроматинового района длинного плеча Y-хромосомы, но подтвердил анеуплоидии. Переносы эмбрионов были выполнены во всех семьях, в одной семье была зарегистрирована беременность, которая завершилась рождением в срок клинически здоровых близнецов мужского пола, не унаследовавших перестройку.

**Заключение:** Обнаруженный высокий уровень анеуплоидий по хромосомам, не вовлеченных в транслокацию, свидетельствует о целесообразности последовательного анализа бластомеров эмбрионов на третий день развития методом FISH с целью выявления дериватных аутосом, а затем – клеток трофэктодермы на пятый день развития методом aCGH или NGS для установления числовых нарушений всех хромосом кариотипа.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№18-34-00279) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках темы фундаментальных научных исследований 2019–2021 гг. (AAAA-A19-119021290033-1).

## ВЛИЯНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *NDRG1* НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Решетников Е.А.

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия*

## IMPACT OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS OF THE *NDRG1* GENE ON THE FORMATION OF PREECLAMPSIA

Reshetnikov E.A.

*Belgorod State University, Belgorod, Russia*

E-mail: reshetnikov@bsu.edu.ru

**Цель исследования:** Изучить ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) гена *NDRG1* с развитием преэклампсии (ПЭ).

**Материалы и методы:** В исследовании приняли участие 904 женщины: 273 беременных с преэклампсией (ПЭ) и 631 женщина с физиологической беременностью. Клинико-лабораторное обследование беременных проводилось на базе Перинатального центра Белгородской областной клинической больницы.

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической венозной крови методом фенольно-хлороформным экстракции.

Генотипирование ДНК выполнено методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI) на масс-спектрометре MassARRAY Analyzer 4 («Sequenom») (НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН). Проведено типирование четырех однонуклеотидных полиморфизмов гена *NDRG1* (*N-myc downstream regulated 1*) (A/G *NDRG1* (rs2977559), T/C *NDRG1* (rs2227262), A/G *NDRG1* (rs12678229), T/C *NDRG1* (rs3802252)).

Анализ ассоциаций генетических полиморфизмов с развитием ПЭ проводили с использованием логистического регрессионного анализа в рамках аддитивной, доминантной и рецессивной генетических моделей с учетом коррекции на ковариаты.

**Результаты:** По всем изученным ОНП частоты минорных аллелей (MAF) были выше 5 %. Анализ наблюдаемого распределения генотипов не выявил отклонения от ожидаемого распределения в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга. Выявлено, что аллель А rs12678229 *NDRG1* ассоциирован с развитием ПЭ в рамках рецессивной модели (OR=1.46, 95 % CI 1.01-2.12, p = 0.046) взаимодействия аллелей. В рамках аддитивной и доминантной моделей различия оказались статистически незначимы: OR=1.10, 95 % CI 0.89-1.37, p = 0.367; OR=0.95, 95 % CI 0.69-1.30, p = 0.743, соответственно. По локусам rs2977559, rs2227262, rs3802252 статистически значимые ассоциации с развитием ПЭ также не обнаружены.

**Заключение.** Таким образом, в результате исследования установлено, что аллель A NDRG1 по локусу rs3771787 является фактором риска развития преэклампсии у женщин Центрально-Черноземного региона России.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

## **СТРУКТУРА И ПРИЧИНЫ НАРУШЕНИЙ ГЕНОМНОГО ИМПРИНТИНГА ПРИ ПАТОЛОГИИ ПРЕ- И ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА**

\*Саженова Е.А., Лебедев И.Н.

*Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск*

## **STRUCTURE AND CAUSES OF GENOMIC IMPRINTING ABNORMALITIES IN THE PATHOLOGY OF PRE – AND POSTNATAL HUMAN DEVELOPMENT**

\* Sazhenova E.A., Lebedev I.N.

*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, Russia*

\*E-mail: elena.sazhenova@medgenetics.ru

Геномный импринтинг – явление функциональной неэквивалентности аллелей, активность которых зависит от их родительского происхождения. Геномный импринтинг играет ключевую роль в обеспечении нормального пренатального развития, оказывая влияние на степень экспрессии генов, контролирующих рост эмбриона, периоды пролиферации и дифференцировки клеток и другие процессы внутриутробного развития плода.

Моноаллельная экспрессия импринтированного гена предполагает, что для проявления патологического фенотипа достаточно мутации в одном из аллелей. Спектр таких мутаций сводится к 4-м основным типам: генные мутации, инактивирующие единственный экспрессирующийся аллель; CNV, содержащие импринтированные гены; однородительские дисомии (ОРД) хромосом, изменяющие баланс дозы генов материнского и отцовского происхождения в геноме; эпимутации – наследуемые и ненаследуемые изменения экспрессии гена, не связанные с нарушением его нуклеотидной последовательности, а обусловленные эпигенетическими модификациями ДНК или хроматиновых белков.

Все перечисленные типы мутаций у человека регистрируются как в пренатальном, так и в постнатальном периоде развития. Анализ 43 научных статей показал, что если принять за 100 % все типы мутаций, обнаруженные при нарушении геномного импринтинга, то среди изученных спонтанных абортусов (СА), у которых выявлены нарушения импринтинга (162 из 8246), на ОРД приходится 14.3 %, на CNV – 17.9 %, точковые мутации в импринтированных генах – 2.4 %, эпимутации – 66.6 %. У новорожденных с болезнями геномного импринтинга ОРД по хромосомам обнаружена в 17 %, CNV – в 53 %, на точковые мутации в импринтированных генах приходится 5 %, на эпимутации – 25 % [Grafodatskaya et al., 2017, doi: 10.1055/s-0036-1593840]. Таким образом, в пренатальном периоде преобладают эпимутации в импринтированных генах, а у живорожденных индивидов – CNV.

Результатом проведенного анализа является вывод о том, что пренатальный отбор направлен в первую очередь на элиминацию плодов с нормальным кариотипом с эпимутациями в импринтированных генах, частота которых значимо выше в пренатальном периоде (66,6 %), по сравнению с постнатальным (25 %,  $p < 0.001$ ), то есть отбор направлен против тонких



и потенциально обратимых эпигенетических модификаций импринтинга, но не структурных нарушений (делеции, ОРД или точковые мутации). Кроме того, по нашим данным, в плацентарных тканях СА I триместра беременности у женщин с одним спорадическим абортom частота эпимутаций составила 3.7 %, а у женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) – 6.2 % ( $p < 0.01$ ). Преобладающим типом эпимутаций было постзиготическое гипометилирование импринтированных генов на хромосомах материнского происхождения, 2.9 % и 5.1 %, соответственно ( $p < 0.01$ ) [Саженова и др., 2017, doi:10.7868/S0016675817020096]. Большинство эпимутаций затрагивало несколько импринтированных генов, что указывало на возможность существования регуляторных механизмов, контролирующих эпигенетический статус множества импринтированных локусов генома. И действительно, в последние годы идентифицирован новый класс генов, мутации в которых сопровождаются множественными эпимутациями импринтинга, как в ходе эмбрионального развития, так и при наследственных синдромах: KHDC3L, ZFP57, NLRP2, NLRP5, NLRP7, PADI6. В наших исследованиях также были выявлены мутации в компаундном гетерозиготном или в гомозиготном состоянии в гене NLRP7 у 8 спонтанных абортусов I триместра беременности только от женщин с ПНБ. Все эмбрионы имели множественные эпимутации в импринтированных генах.

Анализ родительского происхождения мутаций в гене NLRP7 в трех доступных семьях показал носительство у обоих супругов мутаций этого гена в гетерозиготном состоянии, наследование которых у зародыша в компаундном гетерозиготном состоянии могло привести к остановке эмбрионального развития. Идентифицированные мутации были унаследованы от отцов (NLRP7:exon6:c.1754C>A:p.L423M:NM\_001127255.1; NLRP7:exon6:c.1106G>A:p.A207T:NM\_001127255.1 и NLRP7:exon6:c.2332A>C:p.Q615H:NM\_001127255.1, положение GRCh37/hg19), в то время как все выявленные известные полиморфные варианты (rs542783229, rs754189651 и rs556133069) имели материнское происхождение. Кроме того, у этих эмбрионов, обнаружено герминативное гиперметилирование отцовских аллелей гена PEG1. Все это свидетельствует в пользу того, что генетические нарушения гена NLRP7 не только в оогенезе, но и в сперматогенезе, могут быть причинами формирования множественных эпимутаций в импринтированных локусах у эмбриона и приводить к остановке его развития.

Таким образом, в структуре причин нарушений геномного импринтинга у живорожденных индивидов преобладают CNV, а в пренатальном периоде развития – эпимутации в импринтированных генах. Кроме того, определены гены, мутации в которых формируют множественные эпимутации в импринтированных локусах.

## РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ГЛАУКОМЫ У ЖЕНЩИН

*Свинарева Д.И.*

*ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород*

## THE ROLE OF POLYMORPHIC LOCI OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN GLAUCOMA FORMATION IN WOMEN

*Svinareva D.*

*Belgorod state national research University, Belgorod, Russia*

*E-mail: din77din@mail.ru*

Несмотря на многочисленные исследования, молекулярные механизмы патогенеза первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) до конца не выяснены. Данные гистологических исследований доказывают важную роль соединительной ткани в возникновении и развитии заболевания в рамках механической теории патогенеза ПОУГ. При ПОУГ нарушается образование компонентов экстрацеллюлярного матрикса, повышается жесткость и снижаются эластические свойства роговицы и склеры глаза. Регуляция экстрацеллюлярного матрикса происходит при помощи протеолитических ферментов, в частности, металлопротеиназ.

**Цель исследования:** выявить частоту полиморфных локусов rs1799750 MMP-1, rs679620 MMP-3 у здоровых женщин и у больных ПОУГ.

**Материал и методы:** выборку для исследования составили 290 женщин с ранее установленным или впервые выявленным диагнозом первичной открытоугольной глаукомы и 220 женщин контрольной группы, не имеющих данного заболевания. Все женщины, включенные в исследование, родились и проживали в Центральном Черноземье России (Курская, Белгородская, Воронежская, Липецкая области), были русской национальности и не имели родства между собой.

Группа контроля была сформирована из индивидуумов женского пола, не имеющих острых и хронических заболеваний глаз, у которых отсутствовали какие-либо признаки глаукомы. Также они не имели тяжелых соматических заболеваний, в том числе приводящих к поражениям глаз.

Анализ полиморфных маркеров rs1799750 MMP-1 и rs679620 MMP-3 осуществлялся с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов на амплификатор CFX96 в режиме реального времени методом TaqMan.

**Результаты и обсуждение:** Частоты генотипов и аллелей полиморфных маркеров rs1799750 MMP-1 и rs679620 MMP-3 представлены в таблице. Следует отметить, что распределения исследуемых полиморфных локусов среди больных ПОУГ и в группе

контроля статистически значимо не различаются. Таким образом, полиморфные локусы rs 1799750 MMP-1 и rs 679620 MMP-3 не ассоциированы с развитием ПОУГ у женщин.

**Анализ распределения генотипов и аллелей полиморфных маркеров генов – кандидатов у больных ПОУГ и контрольной группы среди женщин**

Полиморфный локус	Генотип/аллель, показатель	Женщины		OR (95% CI) $\chi^2$ , p
		Больные ПОУГ (n=290)	Группа контроля (n=220)	
<b>rs1799750 MMP-1</b>	CT/CT	75 (26,98%)	43 (20,00%)	1,47 (0,94-2,31) $\chi^2 = 2,87$ ; p=0,09
	T/CT	124 (44,60%)	104 (48,37%)	0,85 (0,59-1,24) $\chi^2 = 0,54$ ; p=0,45
	T/T	79 (28,42%)	68 (31,63%)	0,85 (0,57-1,28) $\chi^2 = 0,45$ ; p=0,50
	Аллель СТ (минорный)	274 (49,28%)	190 (44,19%)	1,22 (0,94-1,59) $\chi^2 = 2,3$ ; p=0,13
	$H_o/H_e$ (p)	0,44/0,49 (>0,05)	0,48/0,49 (>0,05)	
<b>rs679620 MMP-3</b>	C/C	95 (33,57%)	60 (28,04%)	1,29 (0,86-1,94) $\chi^2 = 1,48$ , p=0,22
	C/T	131 (46,29%)	100 (46,73%)	0,98 (0,67-1,42) $\chi^2 = 0,01$ ; p=0,99
	T/T	57 (20,14%)	54 (25,29%)	0,74 (0,48-1,17) $\chi^2 = 1,54$ ; p=0,27
	Аллель Т (минорный)	245 (43,29%)	208 (49,14%)	0,80 (0,62-1,04) $\chi^2 = 2,56$ ; p=0,11
	$H_o/H_e$ (p)	0,46/0,49 (>0,05)	0,46/0,49 (>0,05)	

Примечание:  $H_o$  – наблюдаемая гетерозиготность;  $H_e$  – ожидаемая гетерозиготность.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ Российской Федерации (проект НШ-2609.2020.7).

## ВАРИАНТЫ В ГЕНЕ *LRRK2* КАК МОДИФИКАТОРЫ АКТИВНОСТИ ГЛЮКОЦЕРЕБРОЗИДАЗЫ

Сенкевич К.А.<sup>2,3,4</sup>, Jennifer A. Ruskey<sup>1,2</sup>, Sandra B. Laurent<sup>1</sup>, Dan Spiegelman<sup>1</sup>, Stanley Fahn<sup>6</sup>, Cheryl Waters<sup>6</sup>, S. Pablo Sardi<sup>7</sup>, Guy A. Rouleau<sup>1,2,3</sup>, Roy N. Alcalay<sup>8</sup>, Ziv Gan-Or<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>*Montreal Neurological Institute, McGill University, Montréal, Canada*

<sup>2</sup>*Department of Neurology and neurosurgery, McGill University, Montréal, Canada*

<sup>3</sup>*ПСПБГМУ им И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>4</sup>*ПИЯФ им Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский Институт», Гатчина, Россия*

<sup>5</sup>*Department of Human Genetics, McGill University, Montréal, QC, Canada*

<sup>6</sup>*Department of Neurology, College of Physicians and Surgeons, Columbia University Medical Center, New York, NY, USA*

<sup>7</sup>*Rare and Neurologic Diseases Therapeutic Area, Sanofi, Inc., Framingham, MA, USA*

<sup>8</sup>*Taub Institute for Research on Alzheimer's Disease and the Aging Brain, College of Physicians and Surgeons, Columbia University Medical Center, New York, NY, USA*

## VARIANTS IN *LRRK2* AS MODIFIERS OF GLUCOCEREBROSIDASE ACTIVITY

Сенкевич К.А.<sup>2,3,4</sup>, Jennifer A. Ruskey<sup>1,2</sup>, Sandra B. Laurent<sup>1</sup>, Dan Spiegelman<sup>1</sup>, Stanley Fahn<sup>6</sup>, Cheryl Waters<sup>6</sup>, S. Pablo Sardi<sup>7</sup>, Guy A. Rouleau<sup>1,2,3</sup>, Roy N. Alcalay<sup>8</sup>, Ziv Gan-Or<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>*Montreal Neurological Institute, McGill University, Montréal, Canada*

<sup>2</sup>*Department of Neurology and neurosurgery, McGill University, Montréal, Canada*

<sup>3</sup>*First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russia*

<sup>4</sup>*Nuclear Physics Institute n.a. B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia*

<sup>5</sup>*Department of Human Genetics, McGill University, Montréal, QC, Canada*

<sup>6</sup>*Department of Neurology, College of Physicians and Surgeons, Columbia University Medical Center, New York, NY, USA*

<sup>7</sup>*Rare and Neurologic Diseases Therapeutic Area, Sanofi, Inc., Framingham, MA, USA*

<sup>8</sup>*Taub Institute for Research on Alzheimer's Disease and the Aging Brain, College of Physicians and Surgeons, Columbia University Medical Center, New York, NY, USA*

E-mail: senkkon@gmail.com

**Цель исследования:** оценить ассоциацию вариантов в гене *LRRK2* с изменением активности лизосомального фермента глюкоцереброзидазы (GCase).

**Материалы и методы:** Было выполнено полное секвенирование генов *LRRK2* и *GBA* у 951 пациента с болезнью Паркинсона (БП) и у 487 субъектов в контрольной группе, набранных в Колумбийском университете, Нью-Йорк. Логистическая регрессия с поправкой на возраст, пол и происхождение была применена для анализа ассоциации частых вариантов (с частотой более 1 %) с БП. Измерение активности GCase было выполнено у 760 участников (511 пациентов с БП и 249 человек в контрольной группе) в лаборатории Санофи методом жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) из сухих пятен крови. Линейная регрессия была использована для проверки связи между вариантами *LRRK2* и активностью GCase, с поправкой на возраст, пол, наличие БП и варианты в гене *GBA*.

**Результаты:** В исследуемой нами популяции было обнаружено 24 варианта в гене *LRRK2*, из них 9 являлись несинонимичными. Два несинонимичных варианта (p.G2019S и p.N2081D) значительно влияли на активность GCase после применения поправки

Бонферрони. Активность GCase была повышена у пациентов с БП, являющихся носителями варианта p.G2019S (бета = 1.82; p = 0.00089) и у носителей p.N2081D (бета = 1.62; p = 0.0012). При этом данные варианты не были ассоциированы с изменением активности GCase в контрольной группе. Вариант p.G2019S был ассоциирован с БП в исследуемой популяции (p = 0.0002), в то время как вариант p.N2081D не был (p = 0.4). Дальнейший анализ не показал влияние этих вариантов на возраст начала развития БП.

**Обсуждение:** Варианты p.G2019S и p.N2081D в гене LRRK2 ассоциированы с повышенной активностью GCase у пациентов с БП. Необходимы дополнительные исследования на больших популяциях, чтобы определить, связан ли вариант p.N2081D с риском развития БП.

## КЛИНИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ СИНДРОМА ЭЛЕРСА-ДАНЛО ГИПЕРМОБИЛЬНОГО ТИПА

Серебрякова Е.А.<sup>1,2\*</sup>, Кадурина Т.И.<sup>2</sup>, Лонишин Л.Р.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»,

<sup>2</sup> ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»,

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого

## CLINICAL POLYMORPHISM AND GENETIC HETEROGENEITY OF THE HYPERMOBILE TYPE OF EHLERS–DANLOS SYNDROME

Serebryakova E.A.<sup>1,2\*</sup>, Kadurina T.I.<sup>1</sup>, Lonishin L.R.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov,

<sup>2</sup>D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology,

<sup>3</sup>Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University; St. Petersburg, Russia

\*E-mail: serebryakova@mail.ru

Выделяют 13 типов синдрома Элерса-Данло (СЭД), для 12-ти из которых разработаны клинико-генетические критерии диагностики, установлен молекулярно-генетический дефект и изучен мутантный белок. Исключением является синдром Элерса-Данло гипермобильного типа (СЭДг; OMIM: 130020), для которого ни ген, ни белок не известны, а диагностика базируется на клинико-anamnestических и клинико-генеалогических данных [1, 2].

**Цель исследования:** Проанализировать характер клинического течения гСЭД у детей и провести поиск генов-кандидатов, ответственных за формирование данного фенотипа.

**Материалы и методы:** Обследованы 100 человек (54 – женского и 46 – мужского пола). Диагноз установлен согласно международным рекомендациям по диагностике гСЭД. Для исследования использованы образцы геномной ДНК 32 неродственных пациентов в возрасте от 1 до 18 лет (9 женского и 23 мужского пола). Методом парно-концевых чтений (2x150 п.о.) со средним покрытием целевых регионов 70x на анализаторе HiSeq2500 System «Illumina», США проведено полноэкзомное секвенирование. Биоинформатический анализ результатов выполнен с использованием специального алгоритма обработки, основанного на bwa aligner, Genome Analysis Toolkit v. 3.5. и Picard tools v. 2.2.2. Алгоритм анализа построен в соответствии с процессом GATK Best Practices. Оценка патогенности вариантов проведена с учётом рекомендаций ACMG и Sherlock по интерпретации данных, полученных методом секвенирования нового поколения (NGS) [3, 4] и руководства по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) [5].

**Результаты и обсуждение:** Выявлены различные клинические варианты течения гСЭД: среднетяжёлое (54 чел.), сопровождавшееся дистрофическими изменениями суставов (25 чел.), с мышечной гипотонией (19 чел.) и остеопенией (10 чел.), тяжёлое из-за генерализованной ГМС (16 чел.) и мышечно-суставных осложнений и лёгкое (30 чел.). По базе данных The Human Phenotype Ontology (<https://hpo.jax.org/app/>) отобраны 605 генов-кандидатов, ответственных за формирование фенотипа гСЭД. Среди отобранных генов

обнаружены 7704 вариантов: 35.2 % – интронные, 23.6 % – синонимичные, 23.5% – миссенс-варианты, 9 % – в некодирующих регионах гена; 7 % – в сайтах сплайсинга, 1.6 % – вставки/делеции, 0.1 % – нонсенс, 0.04 % – в иницирующем кодоне. При оценке патогенности миссенс-вариантов найдены 7 патогенных вариантов, 5 – вероятно патогенных и 318 – с неизвестным клиническим значением, из которых 169 генов были рассмотрены с целью определения значимости и возможного участия в развитии нарушений соединительной ткани. По программам предсказания патогенности – Polyphen2, SIFT и CADD отобран 21 вариант, выявленных в 16 генах (CHAT, COL1A2, DHODH, FLNB, IFIH1, IFT122, IFT140, NTRK1, PLEC, RHO, RYR1, SLC7A14, TAF1, TGFBI, USP8, VWF) в гетерозиготном состоянии, значимость которых по всем трем программам предсказана как патогенная. С помощью программы GeneMANIA установлена связь между генами COL1A2, DHODH, FLNB, IFIH1, IFT122, IFT140, NTRK1, PLEC, RYR1, TAF1, TGFBI, USP8, VWF в основном за счет физического взаимодействия и коэкспрессии этих генов.

**Заключение:** Учитывая результаты исследования, нельзя исключить, что выявленные гетерозиготные миссенс-варианты 16 генов с патогенным эффектом вовлечены в формирование фенотипа гСЭД. Это может быть обусловлено их причастностью к нарушению метаболических путей («геномных сетей»), участвующих в организации актинового цитоскелета клетки, функционировании аппарата Гольджи; сульфатировании протеогликанов хряща и эндохондральной кости и др., связанных с формированием соединительной ткани. Полагаем, что выявление геномных «сетей-кандидатов» открывает новую перспективу понимания причин, приводящих к развитию гСЭД.

#### Список литературы

1. Malfait F, Francomano C, Byers P, et.al. The 2017 international classification of the Ehlers-Danlos syndromes // *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* – 2017, 175(1). – P. 8-26.
2. Кадурина Т.И. Новая международная классификация синдрома Элерса-Данло. Путь к диагнозу (учебное пособие) СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2019. – 56 с.
3. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology // *Genet Med.* – 2015, 17(5). – P.405-24.
4. Nykamp K, Anderson M, Powers M. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria // *Genet Med.* – 2017, 19(10). – P. 1105-1117.
5. Рыжкова О.П. Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б. и др. Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2) // *Медицинская генетика.* – 2019, 18(2). – P. 3-23.

## ОЦЕНКА УРОВНЯ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК И СЕКРЕЦИИ ПРОАТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ ЦИТОКИНОВ В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ, ЭКСПОНИРОВАННЫХ МИТОМИЦИНОМ С

Синицкий М.Ю., Кутихин А.Г., Шишкова Д.К., Цепочкина А.В., Асанов М.А.,  
Понасенко А.В.

*НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово*

## DNA DAMAGE AND SECRETION OF PROATHEROSCLEROTIC CYTOKINES IN ENDOTHELIAL CELLS EXPOSED TO MITOMYCIN C

Sinitsky M.Y., Kutikhin A.G., Shishkova D.K., Tsepokina A.V., Asanov M.A., Ponasenko A.V.

*Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia*

E-mail: max-sinitsky@rambler.ru

**Введение:** Ежегодно от сердечно-сосудистых заболеваний умирают более 17 миллионов человек, при этом лидирующую позицию среди всех патологий сердечно-сосудистой системы занимает атеросклероз. Учитывая, что на организм человека постоянно воздействует целый ряд факторов, способных индуцировать повреждения ДНК и способствовать возникновению соматических мутаций, проблема оценки вклада мутагенеза в формирование атеросклероза имеет не только фундаментальное, но и прикладное значение.

**Цель исследования:** определение уровня маркеров генотоксического стресса, а также особенностей секреции и генной экспрессии проатеросклеротических цитокинов IL-6 и IL-8 в культурах первичных эндотелиальных клеток человека, экспонированных мутагеном алкилирующего механизма действия митомицином С (ММС).

**Материалы и методы:** Материалом исследования послужили культуры первичных эндотелиальных клеток коронарной (НСАЕС) и внутренней грудной (НІТАЕС) артерий (Cell Applications Inc., США). Оценка уровня повреждения ДНК проводили после 6 часов культивирования клеток в присутствии 500 нг/мл ММС, с последующими сутками культивирования без генотоксической нагрузки, с помощью микроядерного теста. Учитывали клетки с микроядрами, нуклеоплазменными мостами и ядерными протрузии. Концентрацию проатеросклеротических цитокинов IL-6 и IL-8 оценивали после 6 часов культивирования с ММС (точка 1) и после 6 часов + 24 часа культивирования в чистой культуральной среде (точка 2) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов IL-6 Human SimpleStep ELISA Kit (Abcam, Англия) и IL-8 Human ELISA Kit (Abcam, Англия). Уровень мРНК генов IL-6 и IL-8 также оценивался в точке 1 и точке 2 с помощью метода количественной ПЦР с использованием *TaqMan* зондов. Нормирование результатов ПЦР проводилось с помощью трех референсных генов HPRT1, GAPDH и B2M. Экспрессия генов IL-6 и IL-8 рассчитывалась по методу  $\Delta C_t$ .

**Результаты и обсуждение:** Экспонированные культуры характеризуются достоверным превышением всех изученных цитогенетических маркеров генотоксического



воздействия в сравнении с контролем. Клетки внутренней грудной артерии имеют более высокий уровень цитогенетических повреждений как в контроле, так и в эксперименте, по сравнению с клетками коронарной артерии, однако данные различия, за исключением клеток с нуклеоплазменными мостами, не достигают порога статистической значимости. Определено, что концентрация IL-6 в культурах НСАЕС и НТАЕС, экспонированных ММС, не отличалась от контрольных образцов ни в точке 1, ни в точке 2. Более интересные данные были получены по уровню секреции IL-8. В точке 1, непосредственно после воздействия мутагена, отмечено снижение концентрации данного цитокина в обеих клеточных линиях, экспонированных ММС, однако после элиминирования из культуры мутагенного фактора секреция IL-8 резко возросла в экспериментальных культурах по сравнению с контролем. При этом, несмотря на то, что средняя концентрация данного цитокина была несколько выше в культурах НТАЕС по сравнению с культурами НСАЕС ( $477.40 \pm 77.15$  пг/мл и  $401.05 \pm 118.90$  пг/мл, соответственно), увеличение концентрации IL-8 в культурах НТАЕС (в 1,46 раз) носит менее выраженный характер, чем в культурах НСАЕС (в 1,61 раз). Данные биохимического анализа относительно IL-8 подтверждаются результатами оценки генной экспрессии. В точке 1 отмечено снижение экспрессии гена IL-8 в экспонированных культурах, а в точке 2, наоборот, резкое увеличение количества мРНК данного гена (в 10,94 раза для культур НСАЕС и в 2,74 – для культур НТАЕС) в сравнении с контролем. Несмотря на то, что при анализе секреции IL-6 мы не получили значимых различий по концентрации данного цитокина в культуральной среде, его генная экспрессия изменялась так же, как экспрессия гена IL-8: снижалась непосредственно после воздействия ММС и повышалась после суток последующего культивирования в чистой культуральной среде, что позволяет предположить наличие эпигенетических механизмов регуляции его экспрессии. Стоит отметить, что линия НТАЕС также характеризовалась менее выраженным повышением экспрессии данного цитокина по сравнению с линией НСАЕС. Полученные в нашей работе результаты демонстрируют ассоциации генотоксического стресса, вызванного действием на культуры эндотелиальных клеток мутагена ММС, характеризующегося алкилирующим механизмом действия на ДНК, с дифференциальной секрецией и генной экспрессией проатеросклеротических цитокинов. Это свидетельствует о формировании эндотелиоцитами проатеросклеротического профиля в ответ на мутагенную нагрузку.

Работа выполнена в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ №0546-2019-003.

## РОЛЬ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МИКРОЧАСТИЦ В РЕГУЛИРОВАНИИ ПЛАЗМЕННОГО ГЕМОСТАЗА

Сироткина О.В.<sup>1,2,3\*</sup>, Черныш Н.Ю.<sup>1</sup>, Улитина А.С.<sup>3</sup>, Вавилова Т.В.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России; <sup>2</sup>ФГБУ «ПНИЯФ им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. академика И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, Санкт-Петербург

## ROLE OF ERYTHROCYTE MICROPARTICLES IN THE REGULATION OF PLASMA HEMOSTASIS

Sirotkina O.V.<sup>1,2,3\*</sup>, Chernysh N.Yu.<sup>1</sup>, Ulitina A.S.<sup>3</sup>, Vavilova T.V.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, <sup>2</sup>Petersburg Nuclear Physics Institute n.a. B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute»,  
<sup>3</sup>Pavlov First St. Petersburg State Medical University  
\*E-mail: olga\_sirotkina@mail.ru

Среди сердечно-сосудистой патологии важное место отводится венозным тромбозам и эмболиям (ВТЭО). В настоящее время хорошо известны факторы риска развития ВТЭО, такие как наследственная тромбофилия, АФС, длительная иммобилизация, беременность и прием гормональных препаратов, онкологические заболевания и т.д., однако нет точного лабораторного маркера, который указывает на «предтромботическое» состояние.

Целью наших исследований является изучение вклада везикул различных клеток крови, в первую очередь эритроцитарных, в гиперкоагуляцию и развитие венозных тромбозов.

В настоящее время в большей степени изучен вклад микровезикул и экзосом в патогенез артериального тромбоза. Гораздо меньше данных о вкладе микрочастиц в активацию плазменного гемостаза, развитие гиперкоагуляционных состояний и венозного тромбоза, в том числе о роли микрочастиц эритроцитарного происхождения. Для эритроцитарных микрочастиц описаны как про-, так и антикоагулянтные свойства, известно увеличение их уровня при гематологических синдромах – гемоглобинопатиях. Микрочастицы представляют собой фенотипически и функционально гетерогенную популяцию частиц, отделившихся от клетки: микровезикулы размером 100 нм – 1 мкм, отделившиеся от внешней цитоплазматической мембраны живой клетки; экзосомы размером 30 нм – 100 нм, формируемые мембраной внутренних гранул; апоптотические тельца размером 500 нм – 4 мкм, отделяющиеся от клеток в стадии апоптоза. Повышенный уровень микрочастиц, отделившихся от тромбоцитов, эндотелиальных клеток и моноцитов, выявляется при сердечно-сосудистых заболеваниях, когда активация тромбоцитов, эндотелиальная дисфункция и воспаление выступают ведущими патогенетическими механизмами. Нами ранее было показано увеличение количества микровезикул при активации тромбоцитов [1, 2], а также ослабление микровезикуляции у пациентов, принимающих антиагрегантные препараты [3]. Известно, что микрочастицы, содержащие тканевой фактор (TF), обладают прокоагулянтными свойствами и могут активировать плазменный гемостаз

и синтез тромбина через активацию фактора VII свертывания крови. Кроме того, микрочастицы имеют на поверхности своей мембраны экспонированные фосфолипиды, в первую очередь фосфатидилсерин, которые необходимы для формирования протромбиназного и теназного комплексов на стадии усиления и распространения реакций плазменного гемостаза. Примечательно, что микрочастицы эритроцитарного происхождения также имеют на своей поверхности фосфатидилсерин, но в свою очередь могут активировать плазменный гемостаз по пути, зависящему от фактора XII и от фактора XI свертывания крови, что особенно наглядно продемонстрировано у пациентов с различными гемоглобинопатиями [4], в том числе анемических синдромах, частота которых у пациентов с ВТЭО достаточно велика. Также мало работ, посвященных анализу микроРНК при венозных тромбозах. Есть сведения о miR-146a, miR-149, miR-196a2, miR-499 при венозном тромбозе у пациентов из Корейской популяции [5], и дифференциальной экспрессии miR-320a/b при тромбозе глубоких вен нижних конечностей [6]. Некоторые эритроцитарные микроРНК описаны при гемоглобинопатиях [7].

**Заключение:** изучение молекулярных механизмов регулирования плазменного гемостаза и роль в данном процессе эритроцитарных микровезикул позволит определить лабораторные маркеры – предикторы гиперкоагуляционных состояний и высокого риска развития венозных тромбоэмболических осложнений.

#### Список литературы

1. Кищенко В.В. и соавт. Выделение тромбоцитами мембранных везикул, несущих зрелую микроРНК-221 и активированную каспазу-3, в процессе хранения тромбоцитного концентрата. Цитология 2018;60(7):563-566.
2. Fedorov A. et al. Application of high-sensitivity flow cytometry in combination with low-voltage scanning electron microscopy for characterization of nanosized objects during platelet concentrate storage. Platelets 2020;31(2):226-235.
3. Sirotkina O. et al. Platelet Microparticles Containing MicroRNA as a Marker of the Antiplatelet Therapy's Effectiveness. Res Pract Thromb Haemost 2019;3(Suppl.1):36.
4. Wagner G.M. et al. Red cell vesiculation – a common membrane physiologic event. J Lab Med 1986;108(4):315-324.
5. Soleimani M. et al. The effect of fibrinogen concentrate on perioperative bleeding in transurethral resection of the prostate: a double-blind placebo-controlled and randomized study. J Thromb Haemost 2019;47:255-262.
6. Jiang Z. et al. Combination of Circulating miRNA-320a/b and D-Dimer Improves Diagnostic Accuracy in Deep Vein Thrombosis Patients. Med Sci Monit 2018;24:2031-2037.

7. Saki N. et al. MicroRNA Expression in  $\beta$ -Thalassemia and Sickle Cell Disease: A Role in The Induction of Fetal Hemoglobin. Cell J 2016;17(4):583-592.

Исследование поддержано грантом РФФИ №20-04-00257.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ТЕРМИНАЛЬНЫЙ СПРУТИНГ У БОЛЬНЫХ НАСЛЕДСТВЕННОЙ МОТОРНОЙ И СЕНСОРНОЙ НЕВРОПАТИЕЙ I ТИПА

Соколова М.Г.<sup>1\*</sup>, Александров Н.Ю.<sup>1</sup>, Лопатина Е.В.<sup>2,3</sup>, Гавриченко А.В.<sup>3</sup>, Лопатин А.И.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,

<sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова

<sup>3</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,

<sup>4</sup>Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова; Санкт-Петербург

## MOLECULAR MECHANISMS AFFECTING TERMINAL SPROUTING IN PATIENTS WITH HEREDITARY MOTOR AND SENSORY NEUROPATHY TYPE I

Sokolova M.G.<sup>1\*</sup>, Lopatina E.V.<sup>2,3</sup>, Aleksandrov N.U.<sup>1</sup>, Gavrichenko A.V.<sup>3</sup>, Lopatin A.I.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>North-West State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, <sup>2</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, <sup>3</sup>Pavlov Institute of Physiology, <sup>4</sup>National medical research center

n.a. V. A. Almazov; St. Petersburg; Russia

\*E-mail: sokolova.m08@mail.ru

**Введение:** Наследственные моторные и сенсорные невропатии (НМСН) – группа наследственных полиневропатий, связанных с дегенеративными изменениями периферических двигательных и чувствительных волокон, с формированием миопатического синдрома вследствие денервационного процесса. Изучение механизмов спрутинга и факторов, которые оказывают влияние на течение этого процесса при наследственной моторной и сенсорной невропатии I типа, возможно, откроют перед клиницистами новые перспективные направления лечения этого заболевания.

**Материалы и методы:** Проведено клинико-неврологическое, нейрофизиологическое, лабораторное и экспериментальное исследование. Обследованы 12 больных НМСН I-го типа в возрасте 4-15 лет. Проводили стимуляционную и игольчатую электронейромиографию. В сыворотке крови определяли концентрацию нейротрофина ФРН иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы RayBiotech, Inc. Экспериментальное исследование включало изучение влияния сыворотки крови больных НМСН I-го типа на рост нейритов спинальных ганглиев с помощью метода органотипической культуры нервной ткани. В качестве экспериментальной модели использовались 10–12-дневные куриные эмбрионы, из которых выделяли спинномозговые ганглии на уровне пояснично-крестцового отдела позвоночника (L5-S1). Исследованы 900 эксплантатов сенсорных ганглиев 10-12-дневных куриных эмбрионов, культивируемых в CO<sup>2</sup>-инкубаторе (Sanyo) в течение 3-х суток. Контрольные эксплантаты культивировали в условиях питательной среды стандартного содержания. В экспериментальных чашках в культуральную среду добавляли сыворотку крови больных НМСН I-го типа. Для визуализации объектов использовали микроскоп «Axiostar Plus» («Carl Zeiss», Германия).

Полученные изображения анализировали с помощью программы ImageJ. Для количественной оценки роста эксплантатов применяли морфометрический метод. Контрольное значение ИП принимали за 100%. Контрольную группу составили 30 здоровых человек и 300 эксплантатов сенсорных ганглиев 10-12-дневных куриных эмбрионов. Статистический анализ проводили с помощью программы STATISTICA 6.0 с вычислением t-критерия Стьюдента и t-критерия Манна-Уитни.

**Результаты и обсуждение:** Клинико-неврологическое обследование выявило характерные симптомы для НМСН 1 типа: дебют заболевания в детском возрасте, прогрессирующая слабость и атрофии в дистальных отделах рук и ног, снижение вибрационной и мышечно-суставной чувствительности, утолщение и уплотнение периферических нервных стволов. По шкале EDSS 31 % больных имели высокую степень инвалидизации (9.5 баллов). По данным ЭНМГ-исследования у всех пациентов с НМСН I типа определялись: снижение амплитуд М-ответов и потенциалов действия нервов, грубое снижение скоростей проведения по моторным волокнам нервов, было выявлено наличие спонтанной активности, потенциалов фибрилляций, позитивных острых волн – выраженный денервационный процесс по нейрогенному типу, это подтверждало, что процесс терминального спрутинга выражен слабо. Концентрация ФРН в сыворотке больных НМСН 1-го типа значительно выше, чем в контрольной группе. Сыворотка крови больных НМСН 1-го типа была исследована в широком диапазоне разведений (1:100–1:2). В разведениях 1:2, 1:10, 1:50 сыворотка больных полностью блокировала рост нейритов сенсорных ганглиев. При добавлении в культуральную среду сыворотки крови в разведении 1:70 наблюдали статистически значимое нейрит-ингибирующее действие. ИП исследуемых эксплантатов был ниже контрольных значений в среднем на 25 %. Статистический анализ выявил сильную корреляционную связь ( $p < 0.001$ ), (Spearman  $R = 0.90$ ) между фактом ингибирования роста нейритов сенсорных ганглиев куриных эмбрионов и концентрацией ФРН в сыворотке больных НМСН 1-го типа.

**Заключение:** Клинико-экспериментальное исследование выявило, что компенсаторные механизмы у больных НМСН 1-го типа, направленные на активацию терминального спрутинга, работают недостаточно эффективно. По нашему мнению, одним из механизмов, тормозящих терминальный спрутинг, является нейрит-ингибирующее действие сыворотки крови больных НМСН 1-го типа вследствие повышенного содержания нейротрофина ФРН в плазме крови больных.

## АКТИВНОСТЬ АНТИАПОПТОТИЧЕСКОГО БЕЛКА Bcl-2 У ДЕТЕЙ НАСЛЕДСТВЕННЫМИ ФОРМАМИ ЛЕЙКОДИСТРОФИЙ

Соколова М.Г.<sup>1</sup>, Лопатин А.И.<sup>2</sup>, Рощина О.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, <sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова

## THE ACTIVITY OF ANTI-APOPTOTIC PROTEIN Bcl-2 IN CHILDREN WITH HEREDITARY FORMS OF LEUKODYSTROPHY

Sokolova M.G.<sup>1</sup>, Lopatin A.I.<sup>2</sup>, Roshchina O.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>North-West State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, <sup>2</sup>Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia  
E-mail: sokolova.m08@mail.ru

**Введение:** Наследственные лейкодистрофии – группа гетерогенных, прогрессирующих нейродегенеративных заболеваний головного и спинного мозга, обусловленные наследственными нарушениями обмена веществ, приводящим к разрушению миелина. Изучение механизмов действия антиапоптотических белков в развитие наследственных лейкодистрофий поможет уточнить патогенез и может быть использовано в терапевтических целях.

**Материалы и методы:** На базе стационарного отделения «Хоспис (детский)» в Санкт-Петербурге было проведено клинико-лабораторное и нейрофизиологическое (ЭЭГ) обследование 12 пациентов в возрасте 7-14 лет с наследственными формами лейкодистрофий: X-сцепленная лейкодистрофия (n=5), болезнь Каннавана (n=3), болезнь Пелицеуса-Мерцбахера (n=2), лейкодистрофия с гипомиелинизацией 2-го типа (n=2). Контрольную группу составляли 30 здоровых детей. Электроэнцефалография проводилась на 16-канальном компьютерном электроэнцефалографе, наложение электродов осуществлялось по международной схеме «10–20», монополярно с референтным электродом. Белок Bcl-2 определяли иммуноферментным методом в сыворотке крови – набор (Human Bcl2 ELISA Kit) фирмы RayBiotech, Inc. Пороговые величины определения белка Bcl-2 0,5 нг/мл. Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета STATISTICA 8.0 (StatSoft®, Inc., USA).

**Результаты и обсуждение:** У больных наблюдались двигательные расстройства в виде спастического тетрапареза, в сочетании с гипертензионно-гидроцефальным синдромом (22 %), экстрапирамидным (26 %), псевдобульбарным (58 %) и судорожным синдромом (87 %). Все дети имели выраженную задержку психомоторного и речевого развития, по шкале (EDSS) имели индекс инвалидизации – 9.5 (не могли самостоятельно двигаться, не имели возможности самообслуживания), у 23 % была установлена трахеостома. Анализ данных ЭЭГ-исследования выявил в 15 случаев фокальные эпилептические нарушения с локализацией в височной (52 %), лобной (15 %) и затылочной (6 %) области мозга в виде

высокоамплитудных острых волн или сгруппированных тета- и дельта-волн или комплексов «острая – медленная волна». У 27 % детей судорожные припадки носили характер генерализованных эпилептических синдромов. В 35 % случаев были выявлены выраженные диффузные нарушения биопотенциалов головного мозга. Данные иммуноферментного анализа свидетельствуют о том, что концентрация антиапоптотического белка Bcl-2 в сыворотке крови у больных наследственными лейкодистрофиями (11.5[1.2, 52.4] нг/мл) статистически значимо ( $p < 0.01$ ) выше, чем в контрольной группе (0.0[0.0, 0.4] нг/мл). Изучение разброса показателя показало, что концентрация Bcl-2 в сыворотке крови контрольной группы находится в интервале от 0.0 нг/мл до 3.3 нг/мл, у больных от 0.0 нг/мл до 206.5 нг/мл.

**Заключение:** Проведенное исследование позволило показать сложность пептидной регуляции у больных наследственными формами лейкодистрофий и выявить высокую активность антиапоптотического белка Bcl-2. Высокие показатели белка Bcl-2 можно объяснить несколькими факторами: патологической нейрональной активностью, ионным дисбалансом и энергетическими нарушениями, которые имеют место у больных наследственными формами лейкодистрофий. Известно, что гиперэкспрессия белка Bcl-2 наблюдается у детей больных ДЦП с синдромом локально обусловленной эпилепсии и у детей с фармакорезистентными формами эпилепсии. Возможно, это связано с развитием общих физиологических механизмов, включающихся на фоне текущего нейродегенеративного процесса у больных детей, направленных на замедление апоптоза и сохранение нервной ткани. Результаты исследования диктуют необходимость дальнейшего научного поиска роли антиапоптотических белков в генезе лейкодистрофий.



## **ЭКСПРЕССИЯ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ЭНДОГЕННЫХ РЕГУЛЯТОРОВ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ**

Соловьева Н.И.\*, Тимошенко О.С., Гуреева Т.А., Кугаевская Е.В.  
*ФГБНУ «НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва*

## **EXPRESSION OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND THEIR ENDOGENOUS REGULATORS IN THE SQUAMOUS CERVICAL CARCINOMA**

Solovyeva N.I.\*, Timoshenko O.S., Gureeva T.A., Kugaevskaya E.V.  
*Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Moscow*  
\*E-mail: nina.solovyeva@ibmc.msk.ru

Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к семейству цинковых кальцийзависимых тканевых металлопротеиназ, основная функция которых связана с метаболизмом белков соединительно-тканного матрикса (СТМ). Они выполняют как деструктивные, так и регуляторные функции. В тканях животных и человека описаны 25 ММП, которые объединены в следующие подсемейства: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, матрилизины, мембраносвязанные и неклассифицированные ММП. ММП являются индуцируемыми протеиназами. Большинство ММП относятся к секретируемым ферментам, шесть ММП относятся к мембраносвязанным. ММП в совокупности могут гидролизовать все основные компоненты СТМ. Их регуляторные функции связаны с активацией, инактивацией и модификацией свойств целого ряда биологически активных молекул, в том числе и не относящихся к СТМ. Важнейшую роль ММП играют в развитии процессов инвазии и метастазирования опухолей. Коллагеназы специфически гидролизуют фибриллярные коллагены I, II, III, V и IX типов, которые устойчивы к действию протеолитических ферментов и тем самым обеспечивают инициацию и развитие деструктивного процесса. Желатиназы гидролизуют коллаген IV типа – основу базальных мембран, тем самым обеспечивая развитие процессов метастазирования и инвазии. Этим двум группам ферментов принадлежит ключевая роль в разрушении соединительно-тканного барьера при развитии онкологического процесса. Кроме того, эти ММП отвечают за образование целого ряда биологически активных молекул, участвующих в регуляции онкологического процесса, таких как факторы роста, интегрин  $\alpha V\beta 3$ , E-кадгерин, L-селектин и др. ММП экспрессируются в виде про-ферментов. Основным активатором секретируемых про-ММП является плазмин, а для мембраносвязанных про-ММП – фурин. Активность ММП в тканях регулируется специфическими тканевыми ингибиторами – ТИМП. Они обладают избирательной специфичностью, однако могут ингибировать активность всех членов семейств ММП. В крови основным ингибитором ММП является  $\alpha 2$ -макроглобулин. На поверхности опухолевых клеток синтезируется индуктор экспрессии матриксных металлопротеиназ – ЕММРIN. Этиологическим фактором рака шейки матки являются вирусы папиллом (HPV)

высокого риска. Установлено, что основными трансформирующими генами HPV человека являются гены E6 и E7. У 90 % больных раком шейки матки обнаруживаются транскрипты генов E6 и E7 в биопсийном материале. Продукты этих генов полифункциональны. Работы на клиническом материале достаточно малочисленны, несмотря на то, что они позволяют оценить деструктивный потенциал опухолевой ткани, что может иметь прогностическое значение.

**Цель работы:** исследование особенностей экспрессии коллагеназ (ММП-1, ММП-14), желатиназ (ММП-2, ММП-9), их тканевых ингибиторов – ТИМП-1 и ТИМП-2, а также активатора про-ММП – уАП и EMMPRIN при плоскоклеточной карциноме шейки матки (ПКШМ).

**Материалы и методы:** изучены особенности экспрессии ММП и их эндогенных регуляторов на опухолевых образцах ПКШМ, ассоциированных с геном E7HPV-16 и прилегающей к опухоли нормальной ткани, а также на ткани тела матки от стенки влагалища до дна полости матки. Исследования проведены на генном и белковом уровне с использованием ОТ-ПЦР, зимографии, иммуногистохимических, иммуноферментативных, и энзимологических методов.

**Результаты и обсуждение:** Полученные данные свидетельствуют о том, что основной вклад в деструктивный (инвазивный) и метастатический потенциалы ПКШМ вносят увеличение экспрессии ММП-1 и ММП-9 и низкая экспрессия ТИМП-1 и ТИМП-2, и в меньшей степени – увеличение экспрессии ММП-2. Экспрессия ММП-1 и ММП-9, которая особенно ярко выражена в метастазирующих опухолях, может служить маркером метастатического и инвазивного потенциалов опухоли. В прилегающей к опухоли нормальной ткани обнаружена экспрессия ММП-1, ММП-2, ММП-9, которая вносит свой дополнительный вклад в увеличение деструктивного потенциала опухоли и является показателем неблагоприятного прогноза. В нормальной ткани тела матки при ПКШМ обнаружена высокая экспрессия EMMPRIN, а также индукция экспрессии ММП, что имеет значение для проведения соответствующей терапии, прогнозирования возможных рецидивов. Полученные данные важны для понимания механизма деструктивного потенциала опухоли при ПКШМ; имеют прогностическое значение и могут использоваться для разработки фармакологических средств. ММП-1 и ММП-9 могут использоваться в качестве дополнительных маркеров инвазивного и метастатического потенциалов опухоли.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы.

**РОЛЬ МЕТАЛЛОТИОНЕИНОВ В ПОДДЕРЖАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО БАЛАНСА В ЛИМФОЦИТАХ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ В-ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

Тамашевский А.В., Гармаза Ю.М., Слобожанина Е.И.\*

*Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси,  
Минск, Беларусь*

**ROLE OF METALLOTIONEINES IN MAINTAINS OF REDOX-BALANCE IN LYMPHOCYTES OF PATIENTS WITH B-CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKOSIS**

Tamashevski A.V., Harmaza Y.M., Slobozhanina E.I.\*

*Institute of Biophysics and Cell Engineering of National Academy of Sciences,  
Minsk, Belarus*

\*E-mail: slobozhanina@ibp.org.by

**Введение:** Известно, что основным методом лечения онкогематологических заболеваний является интенсивная химиотерапия. Однако, несмотря на высокий процент ремиссий, количество пациентов-долгожителей оказывается не таким значительным. Кроме того, химиотерапия является причиной тяжёлых побочных эффектов, особенно у пожилых людей, ее неэффективность часто связана с развитием феномена множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) – невосприимчивости клеток опухоли одновременно к целому ряду лекарственных средств с широким спектром механизмов воздействия на внутриклеточные мишени.

МЛУ опухолевых клеток – сложнейший мультифакторный феномен, который включает комбинацию более чем одного механизма. Однако до сих пор не выявлен доминирующий механизм этого феномена даже внутри одного гистологического типа опухоли. К наиболее вероятным причинам можно отнести: активацию механизмов детоксикации в опухолевых клетках (за счет усиления экспрессии и активности мембранных транспортных белков, ассоциированных с МЛУ), изменение активности ряда ферментов и уровня внутриклеточных тиолов, таких как металлотioneины (отвечают за поддержание гомеостаза ионов эссенциальных микроэлементов в клетке) или восстановленный глутатион, который способен связывать соединения, токсичные для клеток. Изучение и понимание этих механизмов позволит модифицировать традиционные подходы при лечении злокачественных опухолей для возможности учета феномена МЛУ.

**Цель работы:** Исследовать уровень экспрессии цистеин-обогащенных белков металлотioneинов (MTs) в лимфоцитах пациентов с хроническим В-лимфоцитарным лейкозом (В-ХЛЛ) и выяснить их роль в поддержании окислительно-восстановительного баланса при данном заболевании.

**Материалы и методы:** В работе использована периферическая кровь практически здоровых доноров и пациентов с диагнозом В-ХЛЛ. Периферические мононуклеарные клетки крови выделяли по стандартной методике в градиенте плотности гистобака-1077.

Моноклональные антитела UC1MT (Abcam), UIC2 (Immunotech), MRP1 (R&D) были использованы соответственно для оценки процентного содержания MTs I/II типов, транспортных белков Р-гликопротеина (P-gr) и белка множественной лекарственной резистентности 1 (MRP1). Изменения окислительно-восстановительного баланса в лимфоцитах оценивали с помощью флуоресцентного зонда 5-хлорометил-2,7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата (CM-H<sub>2</sub>DCFDA, Invitrogen). Все измерения были выполнены на проточном цитофлуориметре FACScanto II (Becton Dickinson).

**Результаты и обсуждение:** Было выявлено значительное снижение (в 1.5–2.0 раза) процентного содержания MTs I/II типов в лимфоцитах пациентов с В-ХЛЛ по сравнению с их уровнем у здоровых доноров, несмотря на доказанную роль этого белка в процессах детоксикации от противоопухолевых лекарственных средств. Дополнительно была проведена сравнительная оценка экспрессии мембранных белков-транспортёров семейства ABC, ассоциированных с МЛУ (P-gr и MRP1) и обнаружен их значительный рост в тестируемой группе пациентов с В-ХЛЛ. Более того, было установлено, что величина соотношения MRP1/P-gr в лейкозных клетках увеличена, как и содержание активных форм кислорода (АФК) по сравнению с нормальными клетками.

Таким образом, в лимфоцитах пациентов с В-ХЛЛ роль MTs в поддержании окислительно-восстановительного состояния (секвестрации АФК) снижается при повышении функции MRP1. Очевидно, что потенциал MTs I/II типов, как внутриклеточных тиолов, связывающих АФК, полностью не изучен, но полученные результаты указывают на то, что семейство этих белков может быть использовано в качестве мишени при разработке новых стратегий терапии пациентов с В-ХЛЛ.

**10-ЛЕТНИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА КФ-ПЦР  
В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ  
НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЁННЫХ АНЕУПЛОИДИЙ НА БАЗЕ  
«НИИ АГиР им. Д.О. Отта»**

Тарасенко О.А., Насыхова Ю.А., Тонян З.Н., Талантова О.Е., Иващенко Т.Э.  
*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им.  
Д.О. Отта», Санкт-Петербург*

**10-YEAR EXPERIENCE OF APPLICATION OF QF-PCR METHOD  
IN PRENATAL DIAGNOSTICS OF THE  
MOST COMMON ANEUPLOIDIES**

Tarasenko O.A., Nasykhova Yu.A., Tonyan Z.N., Talantova O.E., Ivashchenko T.E.  
*D.O. Ott Research Institute of obstetrics, gynecology and reproductology, St. Petersburg, Russia  
E-mail: olgatar777@mail.ru*

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), частота пороков развития среди всех новорожденных составляет 2,5-3 %, поэтому профилактика врожденных и наследственных заболеваний плода в настоящее время приобретает особое значение. Применение молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических технологий существенно расширило возможности быстрого выявления анеуплоидий и идентификации тонких хромосомных аномалий у плода. Одним из таких методов является количественная флуоресцентная полимеразная цепная реакция – КФ-ПЦР (Quantitative Fluorescence PCR – QF-PCR). Принцип метода основан на анализе высокополиморфных коротких tandemных повторов (STR-маркеров), определенных для каждой хромосомы, и позволяет проводить молекулярный анализ наиболее распространённых анеуплоидий на некультивируемых эмбриональных клетках в течение нескольких часов. Определение наиболее распространённых анеуплоидий в образцах амниотической жидкости методом КФ-ПЦР было внедрено в практику ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» в 2009 году, и к настоящему времени проанализированы более 2500 образцов.

**Цель исследования:** анализ результатов диагностики наиболее распространённых анеуплоидий в образцах амниотической жидкости методом КФ-ПЦР в период 2009 по 2019 гг.

**Материалы и методы:** Для оценки количества копий хромосом 13, 18, 21, X и Y были разработаны и внедрены системы для анализа 17 STR-маркеров: хромосомы 13 (D13S742, D13S634 и D13S628), для хромосомы 18 (D18S391, D18S380, D18S386 и D18S535), хромосомы 21 (D21S1437, D21S11, D21S1411, D21S266 и D21S1432), хромосомы X (DXS981, P39 и XNPR), для хромосом X и Y (X22). Ген амелогенина AMXY использован при определении пола плода.

**Результаты и обсуждение:** Определение распространённых анеуплоидий методом КФ-ПЦР проводили беременным, у которых выявлен риск рождения ребенка с хромосомной

патологией плода по результатам биохимического скрининга 1-го и 2-го триместров, женщинам старше 35 лет, беременным с отягощенным гинекологическим анамнезом, а также обеспокоенным состоянием плода. Образцы амниотической жидкости были получены у женщин, находящихся на 16-22 неделе беременности.

Из 2500 образцов, исследованных методом КФ-ПЦР, в 126 образцах (5.04 %) были обнаружены хромосомные нарушения: 93 случая трисомии по хромосоме 21 (73.8 % от всех случаев анеуплоидии); 17 случаев трисомии 18 (13.5 %); 1 случай трисомии по хромосоме 13 (0.8 %); 3 случая триплоидии (2.4 %); 12 случаев анеуплоидии по половым хромосомам (9.5 %), в том числе 4 случая – 47,XXX, 3 случая – 47,XXY, 1 случай – 45,X, 1 случай – 48,XXYY, 1 случай – 47,XYU. Кроме того, в 2-х образцах было обнаружено аномальное соотношение пиков по хромосоме X. По результатам последующих исследований данных образцов методом кариотипирования по стандартной методике был установлен кариотип (46,X,del(X)(P11) и 45,X[22]/46,X,i(X)(q10)[5]/47,X,i(X)(q10),i(X)(q10)[2]).

**Заключение:** Результаты данной работы показали, что КФ-ПЦР является надёжным методом для быстрого выявления частых трисомий и позволяет проводить исследование хромосомных аномалий, в том числе при невозможности проведения стандартного кариотипирования.

## МЕМБРАНОСВЯЗАННАЯ МАТРИКСНАЯ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗА МТ1-ММП И ЕЕ ЭНДОГЕННЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

Тимошенко О.С., Гуреева Т.А., Кугаевская Е.В., Соловьева Н.И.  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
им. В.Н. Ореховича», Москва

## MEMBRANE-TYPE 1 MATRIX METALLOPROTEINASE (MT1-MMP) AND THE ENDOGENOUS REGULATORS OF ITS ACTIVITY IN SQUOAMOUS CELL CERVICAL CARCENOMAS

Timoshenko O.S., Gureeva T.A., Kugaevskaya E.V., Solovyeva N.I.  
*Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), Moscow*  
E-mail: ryzhakova.olga@list.ru

Степень прогрессии и злокачественности опухолей определяют процессы инвазии и метастазирования, которые напрямую связаны с деградацией соединительно-тканного матрикса (СТМ). Мембраносвязанная коллагеназа МТ1-ММП наряду с другими ММП принимает участие в разрушении компонентов СТМ. Активация про-МТ1-ММП осуществляется внутриклеточно в аппарате Гольджи с помощью сериновой протеиназы – фурина. Активность МТ1-ММП наиболее эффективно ингибируется эндогенным тканевым ингибитором ТИМП-2, который, кроме того, в комплексе с МТ1-ММП участвует в активации про-ММП-2 – желатиназы, гидролизующей фибриллярные коллагены и коллаген базальных мембран.

**Цель исследования:** выяснение особенностей экспрессии МТ1-ММП, его ингибитора ТИМП-2 и активатора МТ1-ММП – фурина как факторов прогрессии опухоли при плоскоклеточной карциноме шейки матки.

**Материал и методы:** Исследованы образцы ткани от пациентов: протяженность образца – от стенки влагалища до дна полости матки. Работа проводилась с использованием ПЦР, энзиматического, иммуногистохимического методов иммунографии.

**Результаты и обсуждение:** 1) При плоскоклеточной карциноме шейки матки происходит существенное увеличение экспрессии матриксной металлопротеиназы МТ1-ММП в опухоли. 2) Экспрессия активатора МТ1-ММП фурина в большинстве образцов опухоли превышала уровень экспрессии в нормальной ткани матки. 3) Экспрессия ингибитора ТИМП-2 находилась в основном на низком уровне или отсутствовала по данным ИГХ. 4) В морфологически нормальной ткани тела матки обнаружена существенная экспрессия МТ1-ММП. Следовательно, экспрессия как МТ1-ММП, так и ее эндогенных регуляторов направлена на увеличение деструктивного (инвазивного) потенциала опухоли. Данные имеют прогностическое значение и важны для понимания механизма развития заболевания.

Работа выполнена в рамках программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 гг.

## АСИММЕТРИЧНАЯ ИНАКТИВАЦИЯ X-ХРОМОСОМЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ БИОМАРКЕР X-СЦЕПЛЕННЫХ CNV ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ И ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВАХ

Толмачева Е.Н.<sup>1\*</sup>, Фонова Е.А.<sup>1,2</sup>, Соловьева Е.В.<sup>1</sup>, Минайчева Л.И.<sup>1</sup>, Лопаткина М.Е.<sup>1</sup>, Жигалина Д.И.<sup>1</sup>, Кашеварова А.А.<sup>1</sup>, Саженова Е.А.<sup>1</sup>, Никитина Т.В.<sup>1</sup>, Затула Л.А.<sup>2</sup>, Павлова К.А.<sup>2</sup>, Лебедев И.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия; <sup>2</sup>Сибирский государственный медицинский университет, Томск

## SKewed X-CHROMOSOME INACTIVATION – A PROMISING BIOMARKER OF X-LINKED CNV IN CASE OF MISCARRIAGE AND INTELLECTUAL DISABILITY

Tolmacheva E.N.<sup>1\*</sup>, Fonova E.A.<sup>1,2</sup>, Soloveva E.V.<sup>1</sup>, Minaycheva L.I.<sup>1</sup>, Lopatkina M.E.<sup>1</sup>, Zhigalina D.I.<sup>1</sup>, Kashevarova A.A.<sup>1</sup>, Sazhenova E.A.<sup>1</sup>, Nikitina T.V.<sup>1</sup>, Zatul L.A.<sup>2</sup>, Pavlova K.A.<sup>2</sup>, Lebedev I.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia; <sup>2</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

\*E-mail: kate.tolmacheva@medgenetics.ru

Невынашивание беременности и интеллектуальные расстройства – гетерогенные группы патологий чаще всего с неизвестной молекулярной этиологией. Спонтанные аборт регистрируются примерно в 15 % клинически распознаваемых беременностях, при этом значительную группу составляют случаи идиопатических выкидышей. Одной из причин гибели эмбриона могут быть микроперестройки на X-хромосоме, унаследованные от матери, и ассоциированные с асимметричной X-инактивацией (sXCI – skewed X-chromosome inactivation). Показано, что для женщин с привычным невынашиванием беременности характерна экстремальная sXCI ( $\geq 90-95$  %). sXCI также выявляется в 50 % случаев у носительниц X-сцепленных форм интеллектуальных расстройств (XLID – X-Linked Intellectual deficiency).

**Цель исследования:** Анализ характер инактивации X-хромосомы и поиск X-сцепленных CNV у женщин с невынашиванием беременности и имеющих детей с умственной отсталостью.

**Материал и методы:** Инактивация X-хромосомы проанализирована у 313 женщин с невынашиванием беременности, у 135 женщин без проблем с репродукцией и у женщин-носительниц X-сцепленных CNV из 24 семей. Анализ характера инактивации проведен методом метил-чувствительной ПЦР экзона I гена AR [1]. Степень инактивации  $\geq 90$  % принималась как sXCI. aCGH проведена на микрочипах SurePrint G3 Human CGH array 4×180K (Agilent Technologies, США). Патогенетически значимые CNV подтверждены с помощью РТ-ПЦР.

**Результаты и обсуждение:** Установлено, что частота sXCI у женщин с невынашиванием была значимо выше, чем контрольной группе ( $p = 0.019$ ) и составила 6.7



и 2.2 %, соответственно. При этом у женщин с привычным невынашиванием беременности смещение инактивации обнаруживалось в два раза чаще, чем у женщин с единственным выкидышем. Потенциально патогенетически значимые CNV выявлены в регионах Xp22.33, Xp11.23, Xq24 и Xq28. В данных регионах локализованы 44 гена, мутации в большинстве из которых ассоциированы с интеллектуальными нарушениями (RAB39B, UBE2A, L1CAM, CLIC2, CXorf56, GDI1). Кроме того, проанализирован характер XCI у женщин-носительниц CNV в семьях пациентов с умственной отсталостью. В случаях, когда CNV затрагивали регионы Xp22.3-22.2, Xq13.1 и Xq27.2, XCI была равновероятной у облигатных носительниц CNV и у пациенток с задержкой интеллектуального развития, но патогенетическая значимость этих CNV для формирования умственной отсталости не доказана. В двух семьях с делецией и дупликацией в регионе Xq24 женщины-носительницы имели экстремальную sXCI. Случай дупликации Xq24 в семье с пациентами с интеллектуальной недостаточностью был описан нами впервые, а делеция у пациента с умственной отсталостью и множественными дисморфиями материнского происхождения в регионе Xq24 затрагивала ген UBE2A, который отвечает за формирование синдрома интеллектуального дефицита типа Насименто (OMIM #312180). Результаты исследования позволили разработать стратегию и провести пренатальную диагностику у матери больного мальчика, которая имела 100 % sXCI и delXq24. На 11-й неделе беременности женщине был проведен амниоцентез и выявлено наличие у плода женского пола равновероятной XCI и отсутствие делеции. Вторая перекрывающаяся микроделеция в регионе Xq24 была выявлена у женщины с привычным невынашиванием беременности. Для семьи был разработан комплексный протокол преимплантационной генетической диагностики с использованием STR-маркеров и aCGH. После проведения процедуры ЭКО была отобрана одна бластоциста без хромосомной мутации для последующего переноса.

**Заключение:** Асимметричная инактивация X-хромосомы может быть маркером наличия структурных микроперестроек на X-хромосоме, и использование этого показателя увеличивает эффективность диагностики X-сцепленных хромосомных мутаций.

#### Список литературы

1. Allen RC, Zoghbi HY, Moseley AB, Rosenblatt NM, Belmont JW. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *Am J Hum Genet* 1992, 51:1229–1239.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 18-015-00437.

## АНАЛИЗ СЕГРЕГАЦИИ ХРОМОСОМ В ГАМЕТОГЕНЕЗЕ У НОСИТЕЛЕЙ РЕЦИПРОКНЫХ ТРАНСЛОКАЦИЙ АУТОСОМ

Тонян З.Н.<sup>1\*</sup>, Пуппо И.Л.<sup>2,3</sup>, Сайфитдинова А.Ф.<sup>3,4</sup> А. Ф., Логинова Ю. А.<sup>5</sup>, Чиряева О. Г.<sup>1</sup>,  
Кинунен А. А.<sup>3,6</sup>, Пастухова Ю. Р.<sup>5</sup>, Леонтьева О. А.<sup>3</sup>, Бичевая Н. К.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ АГуР им. Д.О. Отта»; <sup>2</sup>Национальный медицинский исследовательский центр  
им. В.А. Алмазова МЗ РФ; <sup>3</sup>Международный центр репродуктивной медицины; <sup>4</sup>Российский  
государственный педагогический университет им. А.И. Герцена; <sup>5</sup>DiaCarta, Inc, USA; <sup>6</sup>СПБ  
ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург

## ANALYSIS OF CHROMOSOME SEGREGATION IN RECIPROCAL TRANSLOCATION CARRIERS GAMETOGENESIS

Tonyan Z.N.<sup>1\*</sup>, Puppo I.L.<sup>2,3</sup>, Saifitdinova A.F.<sup>3,4</sup>, Loginova Y.A.<sup>5</sup>, Chiryayeva O.G.<sup>1</sup>, Kinunen  
A.A.<sup>3,6</sup>, Pastuhova Y.R.<sup>3</sup>, Leontyeva O.A.<sup>3</sup>, Bichevaya N.K.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg;  
<sup>2</sup>Almazov National Medical Research Centre St. Petersburg; <sup>3</sup>International Centre for Reproductive  
Medicine; <sup>4</sup>The Herzen State Pedagogical University of Russia, St. Petersburg; <sup>5</sup>DiaCarta, Inc,  
USA; <sup>6</sup>Saint Petersburg Centre for Medical Genetics, St. Petersburg, Russia

\*E-mail: ziravard@yandex.ru

Аутосомные реципрокные транслокации (АРТ) являются самой распространенной структурной перестройкой и обнаруживаются с частотой 1:500 в популяции (Gardner RJM., Amor DJ. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 2018). Носители таких транслокаций имеют повышенный риск образования генетически несбалансированных гамет вследствие нарушенного расхождения хромосом в метафазе мейоза I.

**Цель исследования:** Анализ мейотической сегрегации хромосом в метафазе мейоза I у носителей АРТ в циклах вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационной генетической диагностикой у пациентов Международного Центра Репродуктивной Медицины.

**Материалы и методы:** Проанализированы интерфазные ядра бластомеров эмбрионов третьего дня развития, полученные в результате биопсии в 35 циклах ВРТ у 27 пар, в которых один из супругов является носителем АРТ. Для анализа применялся метод FISH с использованием зондов к вовлеченным в перестройку хромосомам, а также к хромосомам 13, 16, 18, 21, 22, X и Y.

**Результаты и обсуждение:** Кариотипирование супружеских пар показало, что количество носителей АРТ мужского и женского пола оказалось одинаковым. Средний возраст женщин составил  $33 \pm 4$  года, мужчин –  $34 \pm 4$  года.

При анализе паттерна сегрегации на бластомерах альтернативная сегрегация наблюдалась в 28 % случаев. Сегрегация 3 : 1 и смежная-1 в 27 % и 21 % случаев соответственно. Сегрегация по типу смежная-2 выявлялась со сравнительно меньшей частотой в 12 %. Важно отметить, что в 1 % наблюдалась сегрегация 4 : 0, которая не была зарегистрирована в исследованиях, проведенных на пренатальном этапе развития,

что, возможно, связано с большой величиной хромосомного дисбаланса, образующегося при этом типе сегрегации. Также следует учитывать, что частота образования сбалансированных гамет во многом зависит от таких уникальных характеристик квадриллента, таких, как степень асимметрии и терминальность точек разрыва.

На основании данных о соотношении длин транслоцируемых и центральных сегментов, вовлечении в транслокацию акроцентрических хромосом и районов конститутивного гетерохроматина определялся наиболее вероятный тип патологической сегрегации для каждой рассмотренной транслокации. В 23 % (6/26) рассматриваемых квадриллентов ожидался смежный-1 тип сегрегации хромосом, в 19.2 % (5/26) – 3 : 1, в 3.8 % (1/26) – смежный-2, оставшиеся 54% (14/26) квадриллентов обладали характеристиками, предрасполагающими как к паттерну сегрегации 3 : 1, так и к смежному-1 типу. В 73 % случаев у носителей АРТ более чем в 50 % бластомеров наблюдалось совпадение теоретического и детектируемого типов сегрегации.

Потенциальная жизнеспособность эмбрионов оценивалась путем построения треугольника выживаемости и поверхности жизнеспособных дисбалансов. 27.7 % несбалансированных бластомеров эмбрионов были распределены в пределах треугольника выживаемости, 50.8 % – в пределах поверхности жизнеспособных дисбалансов. Половина (51.5 %) оказалась продуктами смежного-1 типа сегрегации; 33.3 % образовались в результате расхождения 3 : 1, а 15.2% – в результате смежного-2 типа сегрегации.

**Заключение:** Анализ факторов, влияющих на характер мейотической сегрегации хромосом в циклах ВРТ с ПГТ-СП, позволяет оценить частоту образования несбалансированных гамет, жизнеспособность эмбрионов с хромосомным дисбалансом, оценить риски остановки развития в пренатальном периоде. Эти вспомогательные данные можно использовать в медико-генетическом консультировании для определения наиболее вероятного типа расхождения хромосом в мейозе у АРТ и для оценки генетического риска по несбалансированному кариотипу у потомства.

## УРОВЕНЬ МРНК ГЕНОВ *FOXP3* И *ROR $\gamma$* В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И ПАЦИЕНТОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Топчиева Л.В.<sup>1</sup>, Корнева В.А.<sup>2</sup>, Малышева И.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»*

<sup>2</sup>*Петрозаводский государственный университет*

## *FOXP3* AND *ROR $\gamma$* GENES EXPRESSION IN PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES OF HEALTHY PEOPLE AND PATIENTS WITH ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSION

Topchieva L.V., Korneva V.A., Malysheva I.E.

<sup>1</sup>*Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the RAS,*

<sup>2</sup>*Petrozavodsk State University, Petrozavodsk; Russia*

E-mail: topchieva67@mail.ru

В патогенезе артериальной гипертензии (АГ) существенную роль играет воспаление, реализуемое через активацию клеток врожденного и приобретенного (адаптивного) иммунитета [1]. Важными компонентами последнего являются Т-регуляторные клетки (Treg) или иначе, Т-супрессоры. Дисбаланс в соотношении Treg клеток и общего числа Т-лимфоцитов может негативно сказываться на супрессии иммунного ответа и увеличивать риск возникновения ряда воспалительных заболеваний, в том числе и АГ. В развитии гипертензии существенную роль играют Т-хелперы 17 (Th17), подтип CD4<sup>+</sup> Т-клеток, характеризующийся продуцированием провоспалительного цитокина интерлейкина 17. Тем не менее, вопрос, как изменяется пул Treg клеток и Th17 у лиц с АГ, остается открытым [2, 3]. Кроме этого, не исследовано влияние гипотензивных препаратов на баланс этих клеток при АГ. Важнейшей характеристикой Treg клеток является экспрессия транскрипционного фактора FOXP3, а Th17 – транскрипционного фактора ROR $\gamma$ .

**Цель исследования:** Анализ уровня экспрессии генов FOXP3 и ROR $\gamma$  в лейкоцитах периферической крови (ЛПК) здоровых доноров и пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией (ЭАГ) (I-II стадии).

**Материал и методы:** В исследование включены 30 здоровых индивидов (возраст 45±4.3 лет), 27 пациентов с ЭАГ, не принимавшие гипотензивные препараты (возраст 42±5.2 года), 23 пациента с ЭАГ (I-II стадии), принимающие блокаторы  $\beta$ -адренорецепторов (метопролол (25 мг/сут) или бисопролол (5-10 мг/сут) (возраст 50±3.8 лет). Тотальную РНК выделяли из ЛПК с помощью реагента «Extract RNA» (Евроген, Россия). Для синтеза первой цепи использовали набор MMLV RT kit (Евроген, Россия). Уровень экспрессии генов FOXP3 и ROR $\gamma$  оценивали с помощью ПЦР в режиме реального времени на приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (Bio-Rad, США), используя набор «Screen-Mix SYBRGreen» (Евроген, Россия). Последовательность праймеров указана в работе [4]. В качестве референсного гена использовали ген 18S rRNA [5]. Статистическую обработку

данных проводили в программе Statgraphics 2.1. Для анализа статистической значимости различий уровней транскриптов был использован непараметрический критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни.

**Результаты и обсуждение:** Уровень транскриптов гена FOXP3 в ЛПК здоровых людей оказался значительно ниже, чем пациентов с ЭАГ независимо от того, принимали они или не принимали блокаторы  $\beta$ -адренорецепторов ( $8.2E-06 \pm 3.5E-06$  отн. ед.;  $0.0006 \pm 0.0004$  отн. ед.;  $0.0006 \pm 0.0003$  отн. ед.; соответственно в группе здоровых людей, пациентов с ЭАГ) ( $p = 0.00005$ ). Уровень мРНК гена ROR $\gamma$ t в ЛПК пациентов с ЭАГ без гипотензивной терапии значительно превышал таковой у здоровых индивидов ( $0.0010 \pm 0.0006$  отн. ед.;  $6.9E-06 \pm 2.3E-06$  отн. ед.; соответственно) ( $p = 0.011$ ). Содержание транскриптов этого гена в ЛПК пациентов с ЭАГ без терапии и пациентов с ЭАГ, принимающих блокаторы  $\beta$ -адренорецепторов значимо не различался ( $0.0010 \pm 0.0006$  отн. ед.;  $0.0004 \pm 0.0002$  отн. ед.; соответственно) ( $p = 0.12$ ).

**Заключение:** Выявлен повышенный уровень мРНК генов FOXP3 и ROR $\gamma$ t в ЛПК пациентов с ЭАГ по сравнению со здоровыми людьми, что свидетельствует об активации иммунного ответа при формировании стабильно высокого давления крови. Согласно данным литературы, различные лекарственные препараты, например, статины и кардиоселективные блокаторы  $\beta$ -адренорецепторов способствуют повышению пула Treg клеток [6] и снижению содержания IL-17 в плазме крови [3]. Тем не менее, мы не выявили статистически значимые различия в уровне мРНК генов FOXP3 и ROR $\gamma$ t в ЛПК пациентов с ЭАГ, принимающих или не принимающих метопролол или бисопролол.

#### Список литературы

1. Harrison D.G., Guzik T.J., Lob H. et al. Inflammation, Immunity and Hypertension // Hypertension. 2011. V. 57, N. 2. P. 132–140.
2. De Ciuceis C., Rossini C., Airò P. et al. Relationship between different subpopulations of circulating CD4<sup>+</sup> T-lymphocytes and microvascular structural alterations in humans // Am. J. Hyperten. 2017. V. 30, N. 1. P. 51-60.
3. Ji Q., Cheng G., Ma N. et al. Circulating Th1, Th2, and Th17 levels in hypertensive patients // Disease Markers. 2017. Vol. 2017, Article ID 7146290.
4. Huang H., Lu Z., Jiang C. et al. Imbalance between Th17 and regulatory T-cells in sarcoidosis // Int. J. Mol. Sci. 2013. V. 14. P. 21463-21473.
5. Pinto J.P., Dias V., Zoller H. et al. Hcpidin messenger RNA expression in human lymphocytes // Immunology. 2010. V. 130, N. 2. P. 217-30.
6. Liu Z., Zhao Y., Wei F. et al. Treatment with telmisartan/rosuvastatin combination has a beneficial synergistic effect on ameliorating Th17/Treg functional imbalance in hypertensive patients with carotid atherosclerosis // Atherosclerosis. 2014. Vol. 233. 291e299.

## ТРАНСКРИПТОМИКА ПЛАЦЕНТАРНОЙ ТКАНИ: ПОИСК КЛЮЧЕВЫХ БИОМАРКЕРОВ И СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ

Трифонова Е.А.<sup>1,2\*</sup>, Марков А.В.<sup>1</sup>, Степанов В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ,

<sup>2</sup>Сибирский государственный медицинский университет; Томск

## PLACENTAL TISSUE TRANSCRIPTOME: SEARCH FOR KEY BIOMARKERS AND PATHWAYS OF GREAT OBSTETRICAL SYNDROMES

Trifonova E.<sup>1,2\*</sup>, Markov A.<sup>1</sup>, Stepanov V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center

<sup>2</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

\*E-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru

Большие акушерские синдромы (БАС), ассоциированные с плацентарной патологией, остаются основным фактором материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. Для понимания фундаментальных основ этиопатогенеза данных гестационных осложнений с позиции единого генеза приоритетное значение имеет изучение молекулярных процессов, детерминирующих морфофункциональные нарушения в фетоплацентарной системе.

**Цель работы:** интегративный анализ данных полногеномного экспрессионного профилирования плацентарной ткани как основы для поиска общих молекулярных механизмов и идентификации новых генетических вариантов, определяющих подверженность заболеваниям группы БАС.

**Материалы и методы:** Изучены следующие наиболее распространенные патологии из группы БАС: преэклампсия (ПЭ), невынашивание беременности (преждевременные роды (ПР) и самопроизвольный выкидыш) и задержка роста плода (ЗРП). В базах данных «Gene Expression Omnibus» и «ArrayExpress» найдены 30 серий, описывающих характеристику транскриптома плацентарной ткани человека при выбранных фенотипах (номера серий доступны по запросу у авторов), которые были дополнены результатами собственного исследования (Трифонова и др., 2014). Суммарный объем анализируемых в интегративном анализе образцов плацентарной ткани человека составил 481.

**Результаты и обсуждение:** Обнаружены 4939 генов, дифференциально экспрессирующихся (ДЭГ) при ПЭ и физиологической беременности, 52 гена были обнаружены при сравнении группы с нормальной беременностью и группы с ЗРП и 96 ДЭГ были получены при анализе групп с ПР и физиологической беременностью. Анализ общности дифференциальной экспрессии при изученных осложнениях беременности выявил только один ген – SOD1, ассоциированный со всеми рассматриваемыми заболеваниями, и 63 локуса, транскрипционная активность которых статистически значимо изменялась как минимум при двух заболеваниях группы БАС. При проведении функциональной аннотации в ресурсе

Molecular Signatures Database (MSigDB) программного обеспечения «Gene Set Enrichment Analysis» было выявлено 10 категорий с  $FDR < 0.05$ , включающих 34 гена из 64 изученных. Необходимо отметить, что большая часть из данных генов одновременно вовлечена в реализацию нескольких генных онтологий и молекулярных процессов (например, локусы EDNRA, SOD1, SASH1, MAPK11, NPNT, ABCA7, ADAM9, NTRK2, UBB, MID1, ENG, TRIM38, SH2D3A, NCOA2, ADAMTS3 включены минимум в три и более из идентифицированных категорий). Наиболее значимые биологические пути, процессы и молекулярные функции, обогащенные данными генами-кандидатами БАС, представлены категориями «Положительная регуляция ответа на стимулы», «Положительная регуляция межклеточных взаимодействий», «Положительная регуляция MAPK каскада», «Положительная регуляция внутриклеточной передачи сигнала» и «Положительная регуляция процесса модификации белка», что свидетельствует о ключевой роли в молекулярных механизмах БАС нарушения межклеточных взаимодействий в плацентарной ткани.

Полученная с помощью базы данных «STRING» сеть белок-белковых взаимодействий подтверждает взаимосвязи между генами, выявленные при исследовании биологических путей и процессов. При анализе данной сети, включающей 26 протеинов, кодируемых изученными ДЭГ, были выявлены 8 генов, для которых доверительный уровень взаимодействий (combined score) составляет более 0.9: SOD1, CEACAM8, NCOA2, TRIP10, TSPAN14, TXNRD1, UBB, WDR61. Продукты некоторых из этих генов, согласно известным на сегодняшний день данным об их функциональных особенностях, потенциально могут быть вовлечены в молекулярные механизмы исследуемой патологии беременности. Необходимо отметить, что центральное место в данной сети с наибольшим числом взаимодействий занимают гены SOD1, TXNRD1 и UBB, кодирующие соответственно супероксиддисмутазу I типа, цитозольную форму тиоредоксинредуктазы и убиквитин.

**Заключение:** Интегративный анализ транскриптомных данных и анализ сетей белок-белковых взаимодействий продуктов генов, дифференциально экспрессирующихся в плацентарной ткани при патологической и физиологической беременности, позволили идентифицировать перспективные кандидатные гены подверженности БАС и обозначить наиболее важные общие молекулярные патогенетические механизмы преэклампсии, преждевременных родов и задержки развития плода, связанные с патологическими процессами, протекающими в плацентарной ткани.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №18-44-700007).

## ПРИМЕНЕНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ ОЦЕНКИ ФАКТОРОВ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К КОЛОРЕКТАЛЬНОМУ РАКУ

Угаров И.В.<sup>1\*</sup>, Черных В.Б.<sup>1,2</sup>, Иванов Н.В.<sup>1</sup>, Шаркова И.В.<sup>1,2</sup>, Масленников В.В.<sup>1</sup>, Остапенко Д.К.<sup>1</sup>, Соловей В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ООО «эксДжен Сайбернетикс», Москва

<sup>2</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

## APPLICATION OF ARTIFICIAL INTELLIGENCE TO ASSESS FACTORS OF GENETIC PREDISPOSITION TO COLORECTAL CANCER

Ugarov I.V.<sup>1\*</sup>, Chernykh V.B.<sup>1,2</sup>, Ivanov N.V.<sup>1</sup>, Sharkova I.V.<sup>1,2</sup>, Maslennikov V.V.<sup>1</sup>, Ostapenko D.K.<sup>1</sup>, Solovey V.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> xGen Cybernetics, <sup>2</sup> Research Centre for Medical Genetics; Moscow

\*E-mail: iugarov@yandex.ru

Колоректальный рак (КРР) – злокачественное многофакторное (полигенное) новообразование, занимающее лидирующие позиции среди всех онкологических заболеваний по распространенности в России и мире. Генетическое тестирование по высокопатогенным мутациям позволяет выявлять причину не более чем в 1/5 всех случаев. Одним из способов решения улучшения ситуации является выявление и определение прогностических ДНК-маркеров, позволяющих выявлять предрасположенность к колоректальному раку и персонализированно проводить профилактику на доклинической стадии.

В настоящее время отсутствуют скрининг методы для оценки генетической предрасположенности к колоректальному раку (КРР), поэтому разработка подхода анализа результатов генетического тестирования, и обеспечивающего эффективное выявление генетических вариантов, характерных для развития КРР является актуальной задачей.

**Цель работы:** разработать генетическую панель и выявить паттерны в результатах генетического тестирования для скрининга на предрасположенность к колоректальному раку.

**Материалы и методы:** Для набора генов выполнен анализ реферируемых российских и зарубежных научных статей по следующим ключевым словам: «colorectal cancer», «predisposity», «mutation», «single-nucleotide polymorphism». Для оценки работы модели использовали данные с TumorPortal (<http://www.tumorportal.org/>) и The Cancer Genome Atlas (TCGA, <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>).

На основе данных сформированы две группы: пациенты с раком тела матки (n=233) и когорта пациентов с другими нозологиями, выступающая в качестве контрольной группы (n=6513).

Для формирования математической модели и выявления сочетаний генотипов (паттернов), применен набор алгоритмов интеллектуального анализа данных, что позволило выявить генетические маркеры, недоступные для анализа стандартными статистическими



методами. Система работает по принципу «черного ящика» автоматически выбирая из ряда встроенных алгоритмов, с максимальными по значению чувствительности и специфичности.

**Результаты и обсуждение:** Разработан метод, который позволяет выявить скрининговые паттерны многофакторных состояний с учетом полигенной природы заболеваний и неопределенности патогенного эффекта отдельных генетических вариантов. Паттерны и математическая модель, созданная на основе метода, учитывает генетические варианты в 811 генах, показывает чувствительность 77 % и специфичность 90 %. В качестве примера сравним гены выявленных паттернов и базы данных Tumorportal. Скрининговые паттерны охватывают ген APC по данным Tumorportal, исключая гены TP53, KRAS, PIK3CA, FBXW7, SMAD4, TCF7L2, NRAS, BRAF, SMAD2 и PCBP1, остальные входят в группу генов окружения. Можно предположить, что, то применение созданного авторами подхода позволяет существенно повысить точность выявления обследуемых, имеющих характерные генетические варианты и, следовательно, проводить доклиническую профилактику колоректального рака.

**Заключение:** Анализ выявленных паттернов позволит более точно оценить роль межгенного взаимодействия и генов окружения в развитии КРР. Разработанный подход также может быть применим для выявления генотипов, характерных для развития других многофакторных состояний и полигенных заболеваний.

## ПРИМЕНЕНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ В ДИАГНОСТИКЕ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА

Угаров И.В.<sup>1\*</sup>, Черных В.Б.<sup>1,2</sup>, Иванов Н.В.<sup>1</sup>, Шаркова И.В.<sup>1,2</sup>, Масленников В.В.<sup>1</sup>, Остапенко Д.К.<sup>1</sup>, Соловей В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ООО «эксДжен Сайбернетикс», Москва

<sup>2</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва

## APPLICATION OF ARTIFICIAL INTELLIGENCE AND EPIGENETIC DATA IN THE DIAGNOSIS OF COLON ADENOCARCINOMA

Ugarov I.V.<sup>1\*</sup>, Chernykh V.B.<sup>1,2</sup>, Ivanov N.V.<sup>1</sup>, Sharkova I.V.<sup>1,2</sup>, Maslennikov V.V.<sup>1</sup>, Ostapenko D.K.<sup>1</sup>, Solovey V.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> xGen Cybernetics, Moscow

<sup>2</sup> Research Centre for Medical Genetics, Moscow

\*E-mail: iugarov@yandex.ru

Аденокарцинома толстого кишечника – самое часто злокачественное заболевание с быстрым метастазированием и высокой смертностью. Высоко патогенные мутации выявляются приблизительно в 20 % случаев, у остальных пациентов генетический скрининг в качестве профилактики не эффективен. В то же время профиль микроРНК в крови отражает текущую активность опухолевых клеток, и его анализ должен облегчить разработку диагностики аденокарциномы толстого кишечника на ранней стадии. Одним из способов решения такой задачи является выявление и определение биомаркеров – микроРНК, позволяющих выявлять предраковые изменения на ранней доклинической стадии и своевременно проводить профилактику и диагностику на ранних стадиях.

**Цель работы:** разработка алгоритма диагностики и выявления микроРНК, характерных для аденокарциномы толстого кишечника.

**Материалы и методы:** Для математической модели сформирован перечень микроРНК на основе анализа реферируемых зарубежных и российских научных статей по следующим ключевым словам: «colon adenocarcinoma», «diagnostics», «miRNA». Для оценки работы модели использовали данные с The Cancer Genome Atlas (TCGA, <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>).

На основе данных сформированы две группы: пациенты с аденокарциномой толстой кишки (n=187) и когорта пациентов с другими нозологиями, выступающая в качестве контрольной группы (n=1375).

Для формирования математической модели и выявления сочетаний генотипов (паттернов), применен набор алгоритмов интеллектуального анализа данных, что позволило выявить эпигенетические маркеры, недоступные для анализа стандартными статистическими методами. Система работает по принципу «черного ящика» автоматически выбирая из ряда встроенных алгоритмов максимальный по значениям чувствительности и специфичности.

**Результаты и обсуждение:** Разработан метод, который позволяет выявить диагностические эпигенетические паттерны многофакторных состояний. Паттерны и математическая модель, созданная на основе метода, учитывает экспрессию 56 микроРНК, из них наиболее часто изменены в выборке пациентов hsa-let-7a-1, hsa-let-7c, hsa-mir-106a, hsa-mir-10a, hsa-mir-1247, hsa-mir-125b-2. Чувствительность и специфичность данной модели составила 98 % и 62 %, соответственно. Применение данного подхода позволяет повысить точность диагностики пациентов и, следовательно, проводить раннюю диагностику рака толстого кишечника. Анализ выявленных паттернов позволит более точно оценить роль межгенного взаимодействия и экспрессии генов в развитии аденокарциномы толстого кишечника. Разработанный подход также может быть применим для выявления экспрессии микроРНК, характерной для других многофакторных состояний и полигенных заболеваний.

**УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ И ФЕРМЕНТОВ ЛИЗОСОМ В CD45+ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА, АССОЦИИРОВАННОЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *GBA***

Усенко Т.С.<sup>1,2,\*</sup>, Безрукова А.И.<sup>1</sup>, Богданова Д.А.<sup>1</sup>, Сенкевич К.А.<sup>1,2</sup>, Кудреватых А.В.<sup>3</sup>, Милюхина И.В.<sup>1,2,3</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> *Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина;* <sup>2</sup> *Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова;* <sup>3</sup> *Институт экспериментальной медицины; Санкт-Петербург*

**EXPRESSION LEVELS OF GENES OF MEMBRANE PROTEINS AND ENZYMES OF LYSOSOMES IN CD45+ BLOOD CELLS IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE ASSOCIATED WITH MUTATION IN THE *GBA* GENE**

Usenko T.S.<sup>1,2,\*</sup>, Bezrukova A.I.<sup>1</sup>, Bogdanova D.A.<sup>1</sup>, Senkevich K.A.<sup>1,2</sup>, Kydrevatyh A.V.<sup>3</sup>, Milukhina I.V.<sup>1,2,3</sup>, Pchelina S.N.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> *Petersburg Nuclear Physics Institute n.a. B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina;* <sup>2</sup> *Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;* <sup>3</sup> *Institute of Experimental Medicine; St. Petersburg, Russia*

\*E-mail: tatiana.s.usenko@gmail.com

Мутации в гене *GBA*, кодирующем лизосомный фермент глюкоцереброзидазу, являются генетическим фактором высокого риска развития болезни Паркинсона (БП), повышающим риск заболевания в 7-8 раз во всех популяциях [1]. Молекулярный механизм и как следствие, триггеры *GBA*-БП остаются неизвестными. Интересно отметить, что не у всех носителей мутаций в гене *GBA* развивается БП в течение жизни. Предполагается, что дисфункция лизосом может нарушать катаболизм альфа-синуклеина в клетках [2]. Ранее был показан кумулятивный вклад генов, мутации в которых приводят к лизосомным болезням накопления, в риск БП [3]. Можно предположить, что развитие БП у носителей мутаций в гене *GBA*, может быть связано не только с нарушением функции фермента глюкоцереброзидазы, но еще и нарушением работы других ферментов и мембранных белков лизосом, и, как следствие, нарушению катаболизма альфа-синуклеина.

**Цель данного исследования:** оценка экспрессии генов мембранных белков лизосом (лизосомно-ассоциированный мембранный белок 2 (*LAMP2*), интегрального белка лизосомных мембран 2 (*LIMP2/SCARB2*)) и ферментов лизосом (*N*-ацетилгалактозамин-6-сульфатаза (*GALNS*), альфа-галактозидаза А (*GLA*)), а также уровня экспрессии гена альфа-синуклеина в CD45+ клетках периферической крови у пациентов с *GBA*-БП, бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA* (*GBA*-носители), БП и в контроле.

**Материалы и методы:** В исследование включены 10 пациентов с *GBA*-БП, 9 *GBA*-носителей, 77 пациентов со БП с отсутствием семейного анамнеза и 99 неврологически здоровых индивидуумов (контроль), сопоставимых по полу и возрасту. Экспрессия генов *LAMP2*, *SCARB2*, *GLA*, *GALNS* и гена альфа-синуклеина была оценена в CD45+ клетках

периферической крови, выделенных методом магнитной сепарацией, методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Уровень экспрессии исследуемых генов был нормализован по отношению к уровню экспрессии гена GNB2L1 (guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 2-like) и гена АСТВ (actin beta).

**Результаты:** Впервые оценена экспрессия генов LAMP2, SCARB2, GLA, GALNS и гена альфа-синуклеина была оценена в CD45+ клетках периферической крови у пациентов с GBA-БП и GBA-носителей и выявлена повышенная экспрессия гена альфа-синуклеина в CD45+ клетках крови пациентов с GBA-БП и GBA-носителей относительно пациентов с БП ( $p = 0.011$ ,  $p = 0.014$ , соответственно) и контроля ( $p = 0.0073$ ,  $p = 0.009$ , соответственно). Экспрессия генов белков мембран лизосом (LAMP2, SCARB2) в CD45+ клетках крови снижена в группе пациентов с GBA-БП и GBA-носителей относительно пациентов с БП (LAMP2:  $p < 0.0001$ ,  $p = 0.021$ , соответственно; SCARB2:  $p = 0.01$ ,  $p = 0.045$ , соответственно) и контроля (LAMP2:  $p < 0.029$ ,  $p < 0.0001$ , соответственно; SCARB2:  $p = 0.046$ ). Также выявлено снижение уровня мРНК гена LAMP2 в CD45+ клетках крови у пациентов GBA-БП по сравнению с группой GBA-носителей ( $p = 0.024$ ). Экспрессия гена GALNS, кодирующего фермент лизосом, статистически значимо повышена в группе GBA-носителей относительно пациентов с БП и контроля ( $p = 0.028$ ,  $p = 0.0026$ , соответственно).

**Заключение:** Изменение экспрессии генов мембранных белков и ферментов лизосом у пациентов с GBA-БП и бессимптомных носителей мутаций в гене GBA позволяет предположить о вовлеченности в патогенез GBA-БП не только гена GBA, но и других генов.

#### Список литературы

1. Emelyanov A.K., Usenko T.S., Tesson C., Senkevich K.A., Nikolaev M.A., Miliukhina I.M., Kopytova A.E., Timofeeva A.A., Yakimovsly A.F., Lesage S., Brice A., Pchelina S. Analysis of genetic variability in Parkinson's disease in Russia. *Neurobiology of aging*. 2018.- V.71.-P.267.e7-267.e10.
2. Do J., McKinney C., Sharma P., et al. Glucocerebrosidase and its relevance to Parkinson disease. *Mol Neurodegener*, 2019. – V.14. – P.36-52.
3. Robak L.A., Jansen I.E., van Rooij J., et al. Excessive burden of lysosomal storage disorder gene variants in Parkinson's disease. *Brain*, 2017. – V. 140, № 12. – P. 3191-3203.

Исследование поддержано грантом РФФ 19-15-00315.

## АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА ДЕФОРМАЦИИ ПОЗВОНОЧНИКА У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМ И ИДИОПАТИЧЕСКИМ СКОЛИОЗОМ

Хальчицкий С.Е.<sup>1\*</sup>, Согоян М.В.<sup>1</sup>, Филиппова А.Н.<sup>1</sup>, Виссарионов С.В.<sup>1</sup>, Дмитриев А.В.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУ Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера МЗ РФ, <sup>2</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной РАН); Санкт-Петербург, Россия

## ANALYSIS OF MOLECULAR-GENETIC MECHANISMS OF SPINE DEFORMATION ETIOLOGY AND PATHOGENESIS IN CHILDREN WITH CONGENITAL AND IDIOPATHIC SCOLIOSIS

Khalchitsky S.E.<sup>1\*</sup>, Sogoyan M.V.<sup>1</sup>, Filippova A.N.<sup>1</sup>, Vissarionov S.V.<sup>1</sup>, Dmitriev A.V.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>H.Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery, <sup>2</sup>Institute of Experimental Medicine; Saint Petersburg, Russia  
\*E-mail: s\_khalchitski@mail.ru

Деформация позвоночника различного генеза является одним из распространенных и тяжелых ортопедических заболеваний детского возраста. Доля врожденных искривлений позвоночника, сформированных в результате аномалий развития тел позвонков, в общей структуре деформаций позвоночного столба составляет 3,2 %, при этом около 50 % врожденных деформаций позвоночника имеет прогрессирующий характер течения. Идиопатический сколиоз (ИС) у детей 10-18 лет диагностируют в 2-3 % наблюдений в общей структуре популяции. Однако, характер течения деформации позвоночника у пациентов с ИС различен: у одних искривление имеет быстрый темп прогрессирования, несмотря на проводимое консервативное лечение, у других – величина деформации остается практически неизменной до окончания роста.

В наших исследованиях были сформированы рабочие гипотезы возможных молекулярно-генетических факторов, приводящих к возникновению и оценке характера прогрессирования различных форм врожденного и идиопатического сколиоза.

В отношении врожденного сколиоза (ВС) были подвергнуты анализу наиболее распространенные полиморфизмы генов детоксикации и репарации ДНК, имеющие подтвержденное значение в исследованиях других врожденных пороков развития, в отношении ИС исследовали гены ферментов фолатного цикла, которые отвечают за активность ферментов, участвующих в метилировании ДНК, и влияют на многие реакции метаболизма, включая обмен мелатонина. Учитывая тот факт, что дефицит и аномалии сигнальной системы мелатонина служат одним из этиологических факторов ИС, изменения в генах, отвечающих за кодирование и активность ферментов фолатного цикла, например, MTHFR, могут быть связаны с формированием ИС.

**Материалы и методы исследования:** Под нашим наблюдением находились 200 детей с врожденными деформациями грудного и поясничного отделов позвоночника в возрасте от 1 года 2 месяцев до 16 лет. Были исследованы полиморфизмы генов CYP1A2, NAT2,

GSTM1, GSTT1, GSTP1, XRCC1, XRCC3 и их частотное распределение среди больных с врожденными деформациями позвоночника. Контрольную группу составили здоровые дети того же возраста.

При ИС объектом исследования были дети с третьей и четвертой степенями с прогрессирующим течением. Среди обследованных было 22 мальчиков и 88 девочек. При молекулярно-генетическом исследовании определяли полиморфные варианты генов ключевых ферментов обмена фолатов: MTHFR 677 C>T (rs 1801133), MTHFR 1298 A>C (rs 1801131), MTR 2756 A>G (rs 1805087), MTRR 66 A>G (rs 1801394). Контрольную группу составили здоровые дети в возрасте от 14 до 18 лет.

**Результаты:** В группе обследованных детей с ВС 79.5 % больных имели делеции генов GSTM1 или GSTT1, а 13.5 % – делецию обоих генов. В контрольной группе делеция того или иного гена этой группы составляла 65.8 %, а обоих генов – 9.5 %. При исследовании гена NAT2 было выявлено повышение на 35.5 % (9.1 % против 6.7 %) частоты гомозиготного генотипа медленного ацетилятора аллели \*6/6 (G590A) у больных ВС по сравнению с контрольной группой. Следует отметить, что носители неблагоприятной аллели среди больных ВС составили 46,36%, в то время как в контрольной группе – только 21.9 %. У больных ВС общий показатель гомозиготного носительства неблагоприятных аллелей составил 83 % (в контрольной группе – 62.2 %). Еще более значимым представляется сочетание нескольких неблагоприятных аллелей в гомозиготном состоянии. Такой показатель имелся у 53 % больных ВС, что статистически значимо отличает их от лиц контрольной группы (22.5 %).

При исследовании полиморфизма гена MTHFR 1298 A>C было выявлено, что 57.3 % больных идиопатическим сколиозом имели неблагоприятную аллель 1298C в гомозиготном или гетерозиготном состоянии, в то время как в контрольной группе этот показатель составлял 47.3 %. Мы также проанализировали гендерное распределение генотипов по изученным полиморфизмам и обнаружили, что существуют значительные различия в полиморфизме MTR A2756G.

**Выводы:** У большинства пациентов (83 %) с ВС имелись мутации кандидатных генов в гомозиготном состоянии, причем носительство нескольких неблагоприятных аллелей у больных ВС более чем в два раза превышает данный показатель в контрольной группе. У больных с ИС наибольшие различия с контрольной группой выявлены в отношении полиморфизма MTHFR 1298 A>C, также существуют значимые половые различия в распределении генотипов.

## ОПЫТ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ АХОНДРОПАЗИИ И ГИПОХОНДРОПАЗИИ С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Хальчицкий С.Е.<sup>1\*</sup>, Согоян М.В.<sup>1</sup>, Назаров В.Д.<sup>2</sup>, Виссарионов С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера МЗ РФ, <sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ; Санкт-Петербург

## EXPERIENCE OF AHONDROPLASIA AND HYPOCHONDROPLASIA DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS USING MOLECULAR GENETIC TESTING

Khalchitsky S.E.<sup>1\*</sup>, Sogoyan M.V.<sup>1</sup>, Nazarov V.D.<sup>2</sup>, Vissarionov S.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>H. Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery, <sup>2</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; St. Petersburg, Russia

\*E-mail: s\_khalchitski@mail.ru

**Введение:** Скелетная дисплазия представляет собой группу из более чем 200 заболеваний, характеризующихся аномальным развитием костной и хрящевой ткани, с последующим изменением размеров и форм различных костей скелета и непропорциональной задержкой роста. Ахондроплазия одна из самых частых нелетальных причин скелетной дисплазии. У пациентов с ахондроплазией при рождении отмечают ризомиелическое укорочение рук и ног, сравнительно короткое и узкое туловище, кисти рук в форме трезубца и макроцефалию с гипоплазией средней трети лица и выступающим лбом. Рост при рождении обычно несколько меньше нормы, хотя и пределах нижней ее границы; с возрастом – прогрессивно отстаёт от нормальных величин. В основном пациенты имеют нормальный интеллект, хотя у большинства имеется задержка в моторном развитии. Эта задержка вызвана сочетанием мышечной гипотонии, гиперподвижными суставами (локтевые суставы ограничены в разгибании и вращении), механическими затруднениями при удержании их большой головки и, реже, стенозом большого затылочного отверстия со сдавлением ствола мозга. Одной из форм дисплазий, схожей по патогенезу с ахондроплазией, но проявляющейся менее выраженными скелетными аномалиями (в патологический процесс не вовлекаются кости черепа и таза) является гипохондроплазия. Ахондроплазия и гипохондроплазия – врожденные заболевания опорно-двигательной системы с аутосомно-доминантным типом наследования, обусловлены мутациями в гене рецептора фактора роста фибробластов FGFR3. FGFR3 – трансмембранный рецептор тирозинкиназы. В эндохондральных костях активация FGFR3 тормозит пролиферацию хондроцитов в ростовой пластинке, таким образом, помогая координировать рост и дифференцировку хондроцитов с ростом и дифференцировкой клеток-предшественниц кости. Мутация 1138 G>A в гене FGFR3 в 99 % случаев приводит к заболеванию ахондроплазией, которая в 80 % случаев возникает de novo. Реже обнаруживается мутация



1138 G>C. Генетические aberrации в других участках гена FGFR3 приводят к развитию более легких форм нарушения развития скелета, в том числе, гипохондроплазии. Мутации C1620A и C1620G приводят к развитию гипохондроплазии в 70 % и 30 % случаев, соответственно. В очень редких случаях гипохондроплазия вызывается мутациями в участках гена FGFR3 Asn540Thr, Lys650Asn, Asn540Ser, Ile538Val, Lys652Gln, Lys650Gln. Гипохондроплазия из-за мягкости проявлений часто не диагностируется. Поэтому при любых случаях непропорционального развития скелета важна молекулярно-генетическая диагностика подтверждения диагноза наследственной скелетной дисплазии. Нами проведено исследование больных скелетными дисплазиями, получавшими лечение в НИДООИ им. Г.И. Турнера.

**Материалы и методы:** Геномная ДНК была выделена из цельной крови с использованием коммерчески доступного набора «РИБО-сорб» (Интерлабсервис, Россия) в соответствии с рекомендациями изготовителя. Исследование мутаций гена FGFR3 проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом и детекцией на гель-электрофорезе. Все образцы ДНК были протестированы на три известные мутации (1138 G>A, 1138G>C и 1620 C>G) в гене FGFR3. Условия ПЦР и дизайн праймеров подбирали самостоятельно. Фрагменты ДНК различной длины визуализировали при помощи флуоресцентного красителя SYBR Green I (Биотех-Индустрия, Россия).

**Результаты:** Проведен молекулярно-генетический анализ у 10 пациентов, направленных с диагнозом ахондроплазия и гипохондроплазия по трем мутациям в гене FGFR3. Мажорная мутация 1138G>A была выявлена в 9 случаях. Мутация 1138 G>C является редкой и в нашем исследовании не обнаружена. Мутация 1620 C>G, характерная для гипохондроплазии, выявлена в 1-м случае. Этот пациент был направлен с предварительным диагнозом ахондроплазия. Таким образом, с помощью молекулярно-генетического тестирования удалось провести дифференциальную диагностику.

**Заключение:** Диагностика скелетных дисплазий основана на анализе клинических и рентгенологических данных. Генетическое подтверждение является одним из главных этапов лабораторного обследования пациентов с нарушением развития опорно-двигательной системы. Для правильного клинического диагноза ахондроплазии и гипохондроплазии важно уметь отличить их от других скелетных дисплазий. Это возможно сделать с помощью молекулярно-генетического тестирования.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ И ПЕРСониФИЦИРОВАННАЯ НУТРИЦИОЛОГИЯ – МЕДИЦИНА БУДУЩЕГО?

Хорошилов И.Е.  
*ФГБОУ ВО СЗГМУ имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург*

## MOLECULAR AND PERSONIFIED CLINICAL NUTRITION – IS MEDICINE OF THE FUTURE?

Khoroshilov I.  
*North-Western state medical university n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia*  
E-mail: ighor1@yandex.ru

**Цель работы:** Показать роль молекулярной и персонифицированной нутрициологии в современной медицине и медицине будущего.

**Материалы и методы:** Проанализированы данные литературы за последние 30 лет, в том числе с использованием поисковой системы «Медлайн» (PubMed), по запросам «клиническое питание» (clinical nutrition) и «нутриционная поддержка» (nutritional support).

**Результаты:** Нутрициология – наука о питании и клиническое питание – прикладная дисциплина, занимающаяся предупреждением, диагностикой и лечением нарушений питания при различных заболеваниях и клинических состояниях. Современное клиническое питание включает лечебные диеты, функциональные пищевые продукты, питательные смеси, биологически активные добавки к пище, метаболические препараты.

Персонифицированный подход в клиническом питании предусматривает индивидуализированное назначение диеты, специальных питательных смесей и добавок к пище. При недостаточном питании и анорексии необходимо дополнительное назначение высокоэнергетических продуктов. При ожирении и избыточном питании, напротив, требуется ограничить поступление энергии с пищей. Поэтому вместо обычных продуктов этим больным могут быть назначены смеси пониженной энергоценности, а также пре- и пробиотики, метаболические вещества (карнитин).

В нашей стране в настоящее время применяются около 100 лечебных смесей для энтерального питания, в том числе стандартные, высокобелковые и высокоэнергетические, полуэлементные, специальные (почечные, печеночные, диабетические, легочные, иммунные) смеси. Данные питательные смеси могут применяться в виде напитка как дополнение к основной лечебной диете, а также в качестве зондового энтерального питания.

Современные смеси для энтерального питания представляет собой сложный нутриционно-метаболический комплекс, содержащий животные (молочные) и растительные белки, жиры, углеводы, макро- и микроэлементы, витамины. Кроме того, в состав такого питания включаются так называемые фармаконутриенты (аргинин, глутамин, нуклеотиды,

омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты, L-карнитин), пищевые волокна, пре- и пробиотики и т.п.

Наш собственный клинический опыт практического использования клинического питания показывает его высокую эффективность у различных категорий пациентов, в том числе при гастроэнтерологических и онкологических заболеваниях.

**Заключение:** Таким образом, современное клиническое питание представляет собой пример молекулярной и персонифицированной медицины – медицины будущего.

## МЕЗЕНХИМНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ИЗ ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ СОХРАНЯЮТ ИЗМЕНЁННЫЙ ФЕНОТИП ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

Чубарь А.В.<sup>1,3\*</sup>, Семенова Н.Ю.<sup>2</sup>, Енукашвили Н.И.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Институт Цитологии РАН, <sup>2</sup> Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА РФ, <sup>3</sup> ООО «Покровский банк стволовых клеток», <sup>4</sup> ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И. И. Мечникова, НИЛ клеточных технологий; Санкт-Петербург, Россия

## MESENCHYMAL STROMAL CELLS OF TUMOR MICROENVIRONMENT FROM PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA RETAIN TUMOR-EDUCATED PHENOTYPE AFTER TREATMENT

Chubar A.V.<sup>1,3\*</sup>, Semenova N.Yu.<sup>2</sup>, Enochashvily N.I.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology RAS, <sup>2</sup> Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology FMBA of Russia, <sup>3</sup> Pokrovskii Stem Cell Bank, <sup>4</sup> Cell Technologies Lab, North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov; St. Petersburg, Russia

\*E-mail: annachubar95@gmail.com

Множественная миелома (ММ) – гематоонкологическое заболевание, характеризующееся бесконтрольным делением клональных плазматических клеток (ПК) в костном мозге (КМ). Необходимым условием развития заболевания являются взаимодействия опухолевых клеток и компонентов микроокружения опухоли. Мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются ключевым компонентом микроокружения КМ. Предполагается, что изменённые клетки микроокружения могут влиять на прогрессию заболевания за счёт поддержания остаточных опухолевых клеток.

**Целью работы** было сравнить характеристики МСК, полученных от здоровых доноров (ЗД) и пациентов с ММ, имеющих разный тип ответа на лечение.

**Материал и методы:** В работе использовались культуры МСК, полученные из материала стеральной пункции 3 ЗД и 12 пациентов с ММ, которые были разделены на две группы в зависимости от успешности терапии: 3 пациента с неэффективным лечением (НЛ) и 9 пациентов с частичным или полным ответом на лечение (ЧПОЛ). Для полученных культур определяли иммунофенотип, пролиферативную активность, потенциал к остеогенной дифференцировке, а также наличие маркеров опухоль-ассоциированных фибробластов ( $\alpha$ -гладкомышечный актин, ассоциированная со старением  $\beta$ -галактозидаза, транскрипты участков некодирующей ДНК). Для оценки влияния миеломных клеток на транскрипцию некодирующей ДНК в МСК микроокружения проводили сокультивирование с клетками линии RPMI-8226 с дальнейшим выявлением транскриптов.

**Результаты и обсуждение:** В образцах всех пациентов скорость пролиферации снижалась в 100 % культур МСК от пациентов с НЛ и 62.5 % культур от пациентов с ЧПОЛ. Потенциал к остеогенной дифференцировке снижался в группе с НЛ больше, чем с ЧПОЛ. Синтез маркеров опухолевого микроокружения, наоборот, увеличивался в ряду

ЗД < Ч/ПОЛ < НЛ. Сокультивирование с миеломными клетками индуцировало транскрипцию некодирующей ДНК в МСК.

Таким образом, фенотип МСК, полученных от пациентов с ММ, отличается от ЗД и сохраняет черты фенотипа опухоль-ассоциированных фибробластов. Нарушение нормальной структуры гемопозитической ниши может быть причиной неэффективности лечения ММ.

Работа поддержана Грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых № МК-6706.2018.7, РФФ 19-74-20102.

**РАЗРАБОТКА ДИЗАЙНА И ПРИМЕНЕНИЕ ПАНЕЛЕЙ ДЛЯ ТАРГЕТНОГО  
СЕКВЕНИРОВАНИЯ NGS В АЛГОРИТМЕ СЕЛЕКТИВНОГО НЕОНАТАЛЬНОГО  
СКРИНИНГА НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ОБМЕНА МЕТОДОМ  
ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

Чурюмова Ю.А.

*Санкт-Петербургское Государственное Казенное Учреждение Здравоохранения  
«Диагностический (медико-генетический) центр», Санкт-Петербург*

**DESIGN AND APPLICATION OF PANELS FOR TARGET NGS SEQUENCING IN THE  
ALGORITHM OF SELECTIVE NEONATAL SCREENING OF INBORN ERRORS OF  
METABOLISM BY TANDEM MASS SPECTROMETRY**

Yuliya Churyumova

*Medical and Genetic Center, St. Petersburg, Russia*

\*E-mail: chury.yuliya@gmail.com

Неонатальный скрининг (НС) – это программа массового обследования новорожденных на распространенные врожденные заболевания, целью которого является предотвращение развития тяжелых осложнений этих заболеваний, включая летальный исход и инвалидизацию пациентов.

Селективный скрининг проводится с использованием метода тандемной масс-спектрометрии (ТМС) для диагностики четырех групп наследственных болезней обмена (НБО): органических ацидурий, аминокислотопатий, дефектов митохондриального  $\beta$ -окисления жирных кислот и лизосомных болезней накопления. С помощью ТМС в образцах сухих пятен крови одновременно исследуется несколько десятков аналитов: количественное содержание аминокислот, ацилкарнитинов и активность некоторых лизосомных ферментов. Основанием для направления крови на селективный скрининг является наличие определенной клинической симптоматики у ребенка и идентификация некоторых патогномичных лабораторных отклонений, что обуславливает клиническое подозрение врачом заболевания из указанных групп. Однако, помимо трудностей клинической диагностики НБО, обусловленных сложностью и широкой вариабельностью симптомов, зачастую клиницисты сталкиваются с проблемой интерпретации результатов ТМС из-за множества тестируемых аналитов и их соотношений. Поэтому дальнейшая диагностика у детей с положительными результатами ТМС очень важна.

Хорошо известно, что НБО в основном наследуются по аутосомно-рецессивному типу, соответственно, выявление патогенных вариантов в генах, приводящих к развитию заболеваний, может способствовать диагностике НБО. Возможности технологий высокопроизводительного секвенирования позволяют одновременно анализировать последовательность регионов интереса с получением данных высокого качества, что является несомненным преимуществом для применения в скрининговых программах. Совместно

со специалистами из ParseqLab (СПб, Россия) сотрудниками биохимической лаборатории СПбГКУЗ МГЦ был разработан дизайн панелей для таргетного секвенирования NGS с последующим внедрением для подтверждающей диагностики селективного скрининга аминокислотопатий, органических ацидурий, аминокислотопатий, дефектов митохондриального  $\beta$ -окисления жирных кислот. В данной статье приведены промежуточные результаты этого исследования.

**Материалы и методы:** 84 новорожденных с повышенными результатами селективного скрининга методом ТМС указанных заболеваний. Высокопроизводительное секвенирование проводилось с использованием таргетных панелей генов для диагностики: аминокислотопатий – VariFind METAB (AA) assay LT V 1 (37 генов, 201 bp), дефектов митохондриального  $\beta$ -окисления жирных кислот – VariFind METAB (FAO) assay LT V 1 (20 генов) и органических ацидурий – VariFind METAB (AO) assay LT V 1 (31 ген, 125 bp). Данные панели были разработаны для мультиплексного целевого ПЦР-обогащения всех экзонов выбранных генов и оценивались *in-silico* до производства. Установлены аналитические показатели 3 панелей НБО: чувствительность – 95.5 % – 100 %, специфичность – 97.0 % – 99.4 %. Были описаны ограничения и клинически значимые варианты в регионах с низким качеством.

**Результаты:** выявлены 6 пациентов с двумя патогенными мутациями в генах: MMACHC (c.271dupA/c.547\_549del), MUT (c.314G>A/c.314G>A), GCDH (c.1204C>T/c.670G>A), ETFB (c.655G>A/N), ETFA (c.882+54G>T/N), BTD (c.100\_104delinsC/c.100\_104delinsC), CBS (p.(Arg379Gln)/p.(Glu144Gln)). У всех пациентов подтвержден клинический диагноз. Кроме того, у одного пациента выявлены две мутации в гене MTHFR: p.Glu470Val/p.Glu470Gln, которые обнаруживаются в популяции с частотой 0.144 % и, по данным программ-предикторов патогенности, являются патогенными. Также выявлены 7 пациентов – гетерозиготных носителей патогенных аллелей в генах FAH, PRODH, HADHA, HADH, BTD. В 57 аллелях идентифицированы варианты с неизвестной клинической значимостью, из которых 33 находятся в интронных областях. В настоящее время клинический фенотип данных пациентов уточняется.

**Заключение:** Результаты данного исследования демонстрируют целесообразность применения NGS для диагностики нескольких групп НБО в клинической практике. При этом очевидна наибольшая эффективность последовательного применения биохимических и NGS тестов, что позволяет более правильно фокусировать молекулярно-генетическое исследование и существенно облегчить анализ полученных данных.

## ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ СПИННО-МОЗГОВЫХ ГРЫЖ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Шаповалов А.С.<sup>1\*</sup>, Герасимов А.П.<sup>1,2</sup>, Хачатрян В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, <sup>2</sup>ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург

## FEATURES OF THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF SPINAL HERNIAS IN NEWBORNS

Shapovalov A.S.<sup>1\*</sup>, Gerasimov A. P.<sup>1,2</sup>, Khachatryan W.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, <sup>2</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; St. Petersburg, Russia

\*E-mail: dr2shas@mail.ru

Спинальные дизрафии представляют собой сложный врожденный порок развития центральной нервной системы, связанный с неполным закрытием тканей мезодермального и эктодермального происхождения вдоль срединного шва, то есть с нарушением процесса нейруляции. Данный порок относится к наиболее распространенным порокам развития центральной нервной системы и являются одной из ведущих причин инвалидизации по всему миру. Распространенность спинальных дизрафий значительно менялось на протяжении последних десятилетий и продолжает показывать значительные различия между географическими регионами. Кроме того, отмечались различия между расами и этническими группами. Наряду с этим отмечается снижение случаев спинальных дизрафий, отчасти в результате улучшения пренатальной диагностики и прерывания беременности, прием фолиевой кислоты до зачатия и в течение первого месяца беременности.

На 2.03.20 на запрос “spina bifida” база данных OMIM дает 158 ссылок (как генов, так и нозологических единиц). Группа состояний, объединенных названием «предрасположенность к развитию дефектов нервной трубки (NTD) (OMIM: 182940) гетерогенна и связана с генами VANGL1 (610132), VANGL2 (600533), CELSR1 (604523) и FUZ (610622). Фолат-чувствительные дефекты нервной трубки (NTDFS) (OMIM: 601634) связаны с генами MTHFR (607093), MTR (156570), MTRR (602568) и MTHFD1 (172460). Данные гены, что закономерно, кодируют гены фолатного цикла. При безусловно доказанной роли дефицита фолатов в развитии аномалий группы spina bifida наличие определенных полиморфизмов в указанных генах также может играть свою роль. Более того, неблагоприятное сочетание полиморфизмов может повышать физиологическую потребность в фолиевой кислоте до двукратного уровня. Таким образом, с генетической точки зрения, спинномозговые грыжи являются мультифакторным состоянием.

**Цель исследования:** Разработка адекватной диагностики и рациональной тактики лечения новорожденных с открытыми спинальными дизрафиями.

**Материалы и методы:** Проведен ретроспективный анализ 75 новорожденных (39 девочек, 36 мальчиков), которые были оперированы в перинатальном центре ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» по поводу открытых спинальных дизрафий в период



с 2011 по 2018 гг. Все дети оперированы в неонатальном периоде (до 28 дней). Из них 56 пациентов родились в нашем центре. 9 детей (12 %) были недоношенными. У 51 (68 %) новорожденного отмечалась наружная ликворея после рождения. Миеломенингоцеле оказалось у 48 (64 %) детей, rhachischiasis posterior – у 16 (21 %), менингоцеле – у 10 (13 %), и в одном случае – менингоцистоцеле. Мальформация Киари установлена у 57 (76 %) новорожденных. Вентрикуломегалия после рождения наблюдалась у 68 (90 %). Диагностический комплекс включал в себя клинико-неврологические исследования, нейросонографию, УЗИ органов брюшной полости, ЭХО-КГ, биохимические исследования. В некоторых случаях нейровизуализация включала МРТ, КТ-исследование до хирургического вмешательства.

**Результаты и обсуждения:** В 47 (62 %) случаях оперативное лечение проведено в первые сутки после рождения, при этом 36 (48 %) детей оперированы в первые 6 часов после рождения. Причинами срочности оперативного лечения в этих случаях являлись нарушение целостности оболочек, ликворея и высокий риск вторичного инфицирования. Хирургия сводилась к иссечению грыжевого мешка, восстановлению спинно-мозгового канала с реконструкцией нейральной плакнды, миелорадикулолизу, пересечению патологически измененной терминальной нити, пластике и формированию дурального мешка, кожно-апоневротической пластике. В двух случаях проведена коррекция диастемы. Ликворорешивающая операция проведена у 31 (41 %) ребенка, при этом у 30 (97 %) из них первым этапом выполнена коррекция СМГ. 44 (58 %) пациента выписаны в удовлетворительном состоянии без нарастания вентрикуломегалии в динамике, и ЛШО им не потребовалась. В 1-м случае первым этапом выполнен трансабдоминальный миниинвазивный цефалоцентез под контролем УЗИ-навигации, что позволило снизить риски родоразрешения и осложнений течения гидроцефалии у новорожденного.

**Заключение:** Хирургическое лечение новорожденных с открытыми спинальными дизрафиями необходимо в первые часы после рождения, что значительно снижает риски развития вторичных воспалительных процессов, а также в условиях специализированного адекватно оборудованного перинатального центра, в структуру которого входит и нейрохирургическая служба. В отсутствие гипертензионно-гидроцефального синдрома, первым этапом целесообразна коррекция спинального порока с дальнейшей клинико-нейровизуализационной оценкой вентрикуломегалии в динамике. Актуален вопрос фетальной хирургии спинальных дизрафий и требует дальнейших разработок.

Спинномозговые грыжи являются мультифакторным состоянием, и генетический полиморфизм требует повышенного внимания в изучении патогенеза данного порока.

## ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ OXFORD NANOPORE ДЛЯ АНАЛИЗА ВАРИАНТОВ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЧЕЛОВЕКА

Шиков А.Е.<sup>1,2,3\*</sup>, Цай В.В.<sup>1</sup>, Федяков М.А.<sup>1</sup>, Эйсмонт Ю.А.<sup>1</sup>, Уразов С.П.<sup>3</sup>, Сарана А.М.<sup>2</sup>, Щербак С.Г.<sup>1,2</sup>, Глотов О.С.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Городская больница №40, <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, <sup>3</sup>Институт биоинформатики, <sup>4</sup>ФГБНУ НИИ им. Д.О. Отта; Санкт-Петербург

## APPLICATION OF OXFORD NANOPORE FOR VARIANT CALLING IN HUMAN MITOCHONDRIAL DNA

Anton E. Shikov<sup>1,3,4\*</sup>, Viktoriya V. Tsay<sup>1</sup>, Mikhail A. Fedyakov<sup>1</sup>, Yuri A. Eismont<sup>1</sup>, Stanislav P. Urasov<sup>1</sup>, Sergey G. Sherbak<sup>1,3</sup>, Oleg S. Glotov.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>City Hospital No 40, <sup>2</sup>Bioinformatics Institute, St. Petersburg State University, <sup>4</sup>Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology n.a .D.O. Ott; St. Petersburg, Russia

\* E-mail: antonshikov96@gmail.com

Технологии длинных прочтений совершили революционный скачок в секвенировании геномов. Тем не менее, для длинных прочтений характерны существенные ограничения, связанные с высокой степенью ошибок, что сужает их использование для рутинного поиска вариантов, который чаще всего применяется в клинической практике. Для подтверждающей диагностики ряда заболеваний используется генотипирование вариантов в ДНК митохондрий (мтДНК). Несмотря на то, что недавние исследования демонстрируют, что длинные прочтения удобно использовать для секвенирования и сборки митохондриальных геномов, данные об использовании длинных прочтений для поиска вариантов в мтДНК отсутствуют.

**Цель исследования:** оценка применимости длинных прочтений, полученных при помощи технологии Oxford Nanopore, для выявления информации о генетических вариантах, а также разработка оптимального пайплайна по выявлению вариантов в митохондриальном геноме человека.

**Материалы и методы:** В исследовании анализировали генетическую информацию 8 образцов, для которых мтДНК была секвенирована на платформе Illumina (MiSeq) и на платформе Oxford Nanopore (MinION). Данные платформы Illumina использовали в качестве золотого стандарта при оценке эффективности поиска вариантов. Для парных прочтений применяли стандартный пайплайн с использованием BWA и GATK3. Сырые сигналы от MinION были обработаны и демультиплексированы Guppy v 3.2, а в дальнейшем выровнены minimap2. Поиск вариантов осуществляли несколькими программами, с которыми впоследствии было проведено сравнительное исследование: Clairvoyante, Nanopolish variants, GATK3 и Varscan.

**Результаты и обсуждение:** По результатам секвенирования получены 8.9 Гб данных длинных прочтений и 569 Мб коротких парных прочтений. Среднее покрытие при использовании Nanopore было выше, чем у Illumina (3867 и 2872 соответственно), тем не менее, первая технология давала прочтения с более неравномерным распределением

покрытия на протяжении участков ДНК. Средний уровень ошибки для данных Oxford Nanopore составлял 8.9 %, что соответствует ошибке для длинных значений. Всего идентифицированы 637 вариантов (140 по данным Illumina, 154 с применением Nanopolish, 129 – Varscan, 372 – Clairvoyante, 324 – GATK. Только 26 вариантов были общими для обеих платформ и всех инструментов для поиска вариантов. Большая часть обнаруженных вариаций представляли собой ложноположительный результаты ввиду ошибок, связанных с гомополимерными повторами. С целью сравнения программ между собой была построена матрица сравнения на основе коэффициента Жаккара. Анализ матрицы выявил, что среди всех инструментов Nanopolish показал наибольшее сходство с данными Illumina (82 %). Из всех вариантов были отобраны 26 функционально значимых по результатам аннотации snpEff. На этой выборке из репрезентативных вариантов Nanopolish продемонстрировал 100 % схожесть с результатами Illumina. Таким образом, проведённое исследование, хоть и выполненное на ограниченном наборе данных, уже позволяет сделать заключение о принципиальной возможности применения длинных прочтений для поиска вариантов при использовании оптимального пайплайна. Включение технологии Oxford Nanopore в клиническую практику позволит удешевить и ускорить анализ медицинских данных.

## **НЕЙРОГЕНОМНЫЕ ВАРИАЦИИ: КЛАССИФИКАЦИЯ, ПРИЧИНЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ**

Юров И.Ю.<sup>1,2,3\*</sup>, Ворсанова С.Г.<sup>1,2</sup>, Юров Ю.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;

<sup>2</sup>ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия

## **NEUROGENOMIC VARIATIONS: CLASSIFICATION, CAUSES OF ORIGIN AND PHENOTYPE CONSEQUENCES**

Iourov I.Y.<sup>1,2,3\*</sup>, Vorsanova S.G.<sup>1,2</sup>, Yurov Y.B.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Mental Health Research Center, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National University, <sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Postgraduate Education; Moscow, Russia

\*E-mail: ivan.iourov@gmail.com

Нейрогеномные вариации, имеющие непосредственное влияние на функционирование головного мозга, представляют собой особые типы изменений генома. Можно выделить три типа последствий нейрогеномных вариаций: (1) регулярные геномные вариации, вызывающие нарушение развития центральной нервной системы (ЦНС) за счёт морфологических изменений головного мозга; (2) регулярные геномные вариации, вызывающие нарушение функционирования головного мозга за счёт молекулярных и клеточных процессов, которые непосредственно происходят в ЦНС; (3) геномные вариации в виде геномных/хромосомных аномалий или соматического мозаицизма, вызывающих хромосомную/геномную нестабильность в клетках головного мозга. В ряде наших предыдущих работ (Iourov et al., 2009; Yurov et al., 2008, 2014, 2019) было показано, что хромосомная/геномная нестабильность является одной из основных причин нейродегенерации. В данном случае наблюдается особый тип нейрогеномных вариаций, возникающих в результате, так называемого, «двойного удара». В случае нейродегенерации, связанной с хромосомной геномной нестабильностью, «двойной удар» реализуется за счет наличия регулярных геномных вариаций (присутствующих во всех клетках организма), которые создают предрасположенность к возникновению геномной и хромосомной нестабильности в клетках головного мозга. Нестабильность генома в свою очередь является результатом либо взаимодействий измененного генома с факторами внешней среды, либо накопления геномных вариаций в ходе онтогенеза. Помимо нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, атаксия-телеангиэктазия, болезнь Паркинсона, деменция с тельцами Леви и фронтотемпоральная деменция) нестабильность генома в виде геномных вариаций также наблюдается при аутистических расстройствах, умственной отсталости и шизофрении. В частности, при шизофрении наблюдается хромосомспецифическая

анеуплоидия (хромосомы 1, 18 и X). При аутистических расстройствах наблюдается нестабильность, связанная с изменением числа хромосом 9, 15 и X, а также хромотрипсис в клетках головного мозга, который, по-видимому, также является результатом наличия геномных вариаций, создающих предрасположенность к хромосомной нестабильности в клетках головного мозга. Учитывая ранее полученные данные можно предложить систему выявления нейрогеномных вариаций, включающий в себя три блока методов: (1) анализ регулярных геномных вариаций с помощью методов SNParray или секвенирования генома нового поколения; (2) изучение нестабильности генома или соматического мозаицизма с помощью анализа последовательностей ДНК в отдельных клетках (цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы); (3) интерпретационные (биоинформатические) технологии, позволяющие оценивать последствия вариаций генома за счёт анализа изменений геномных сетей. Использование данной системы анализа нейрогеномных вариаций позволяет определить предрасположенность к геномной/хромосомной нестабильности в клетках головного мозга. В частности, это возможно с помощью оценки изменения процессов сохранения стабильности генома клеток головного мозга, нарушение которых приводит к геномной/хромосомной нестабильности (хромотрипсис, анеуплоидия), а также к определению возможных последствий нарушения процессов, обеспечивающих функционирование ЦНС. Помимо этого, существуют также и нейроэпигеномные вариации в виде потери гетерозиготности в участках геномного импринтинга, которые приводят к нарушениям функционирования головного мозга (Iourov et al., 2015, Юров и др., 2019). Эти нейроэпигеномные вариации также требуют особого методического подхода к их выявлению. В частности, методы SNParray позволяют выявлять потери гетерозиготности в участках геномного импринтинга, а соответствующие биоинформатические технологии позволяют оценивать их патогенность. Суммируя данные по проведённым исследованиям, можно сделать вывод о том, что концепция нейрогеномных вариаций является удобной моделью для анализа причин возникновения и фенотипических последствий, связанных с заболеваниями ЦНС. Изучение нейрогеномных вариаций также позволяет создать эффективную систему молекулярной диагностики патогенных вариаций последовательностей ДНК, как для болезней ЦНС, так и для других наследственных заболеваний, связанных с патологией различных органов и тканей человека.

Работа выполняется при финансовой поддержке РФФИ и СИТМА в рамках научного проекта № 18-515-34005.

## **ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ С НЕОПРЕДЕЛЕННОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТЬЮ НА КЛИНИЧЕСКУЮ КАРТИНУ КАРДИОМИОПАТИЙ У ПАЦИЕНТОВ ДЕТСКОГО ВОЗРАСТА**

Яковлева Е.В.\*, Ковальчук Т.С., Фомина Н.М., Никитина С.Ф., Вершинина Т.Л.,  
Васичкина Е.С., Фомичева Ю.В., Первунина Т.М., Костарева А.А.  
*ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург*

## **EFFECT OF MUTATIONS WITH UNCERTAIN CLINICAL SIGNIFICANCE ON CARDIOMYOPATHY CLINICAL FEATURES IN CHILDREN'S PATIENTS**

Yakovleva E.V., Kovalchuk T.S., Fomina N.M., Nikitina S.F., Vershinina T.L., Vasichkina E.S.,  
Fomicheva Yu.V., Pervunina T.M., Kostareva A.A.  
*Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia*  
\*E-mail: Yakovleva\_ev@almazovcentre.ru

Кардиомиопатии (КМП) являются одной из ведущих кардиологических причин смертности детей вследствие развития хронической сердечной недостаточности (ХСН). Многообразие и неспецифичность клинических проявлений, генетическая гетерогенность данной нозологической группы обуславливает трудности диагностики заболевания. Несмотря на то, что к настоящему моменту описано множество причинных генов, мутации в которых приводят к формированию КМП, полное понимание генетических модифицирующих факторов по-прежнему отсутствует.

**Цель исследования:** Изучить особенности клинического течения кардиомиопатий у пациентов детского возраста с выявленными мутациями неопределенной клинической значимости.

**Материалы и методы:** Группу исследования составили 18 пациентов (9 мальчиков и 9 девочек) с различными фенотипами КМП в возрасте от 10 месяцев до 17 лет, у которых по результатам генетического исследования были выявлены только варианты нуклеотидной последовательности с неопределенной клинической значимостью (в соответствии с критериями ACMG 2015 г.). Критерии исключения: вторичные КМП, наличие хотя бы одной патогенной мутации по данным генетического исследования.

Пациентам проводилось комплексное обследование, включающее сбор клинико-анамнестических данных, лабораторные анализы, эхокардиография, ЭКГ, суточное ЭКГ-мониторирование, по показаниям – нагрузочные пробы, МРТ сердца с контрастированием и эндомиокардиальная биопсия. Длительность наблюдения пациентов – с 2015 по 2020 гг.

**Результаты:** Фенотипы КМП в исследуемой группе распределились следующим образом: дилатационный – 9 (50 %), рестриктивный – 6 (33.3 %), гипертрофический – 1 (5.6 %), смешанный фенотип – 2 пациента (11.1 %). Возраст дебюта заболевания варьировал от периода новорожденности до 17 лет. Клинические проявления ХСН от I

до III функционального класса (по NYHA/Ross). В клинической картине также отмечались: нарушения сердечного ритма и проводимости – 7, синкопальные состояния – 3 пациента. Летальный исход, обусловленный основным заболеванием – в 4 из 18 случаев.

У 11 из 18 пациентов (61 %) выявлены 2 и более мутации с неопределенной клинической значимостью, в то время как изолированные мутации обнаружены только в 7-ми случаях. У большинства пациентов со множественными мутациями отмечались аритмии, синкопальные состояния, у троих пациентов со множественными мутациями – летальный исход.

Наиболее частыми в исследуемой группе пациентов явились мутации в гене TTN (7 пациентов, 39 %), MYH7 (3 пациента, 16.7 %), ANK2 (3 пациента, 16.7 %), MYLK2 (2 пациента, 11.1 %). Среди прочих выявлены мутации в генах FLNC, TPM1, MYH6, MYBPC3, MYRN, VCL, LMNA, LAMA4, JPH2, RBM20, патогенные мутации в которых приводят к формированию КМП.

У 4-х из 7-ми пациентов с нарушениями сердечного ритма и проводимости были выявлены мутации с неопределенной клинической значимостью в одном из следующих генов: SCN1B, KCNH2, KCNC1, ANK2, патогенные мутации в которых являются причиной аритмий.

Не выявлены статистически значимые корреляции между генотипом и возрастом дебюта заболевания, функциональным классом ХСН. Также не выявлено статистически значимые половые различия в клинической картине заболевания и характере мутаций.

**Заключение:** Мутации с неопределенной клинической значимостью у пациентов с КМП требуют детального изучения, так как в некоторых случаях могут служить причиной заболевания. Нельзя исключить, что наличие у пациентов множественных мутаций с неопределенной клинической значимостью имеет важное прогностическое значение.

## КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

### КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ MED13L-СИНДРОМА (СИНДРОМА УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ С ПАТОГНОМОНИЧНЫМИ ЧЕРТАМИ ЛИЦА С ПОРОКАМИ СЕРДЦА ИЛИ БЕЗ НИХ)

Булатникова М.А.<sup>1\*</sup>, Василишина А.А.<sup>1</sup>, Ларионова В.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Медицинский центр «Покровский» ООО «ПБСК», <sup>2</sup>ФБГОУ ВО СЗГМУ им. Мечникова МЗ РФ; Санкт-Петербург

### MED13L-SYNDROME (MENTAL RETARDATION AND FACIAL WITH OR WITHOUT CARDIAC DEFECTS). A CASE REPORT

Bulatnikova M.A.<sup>1\*</sup>, Vasilishina A.A.<sup>1</sup>, Larionova V.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medical center "Pokrovsky" of Pokrovsky stem cell bank, <sup>2</sup>North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

\*E-mail: marinaus3@yandex.ru

MED-комплекс (Mediator) – эволюционно консервативный белковый комплекс, необходимый для инициации взаимодействия между связывающимися с ДНК транскрипционными факторами и РНК – полимеразой 2. Функционирующий комплекс состоит из 4 субъединиц: CDK8, MED12 (кодируемая генами MED12 и MED12L), MED13 (кодируемая генами MED13 и MED13L) и циклина С. Мутации в генах CDK8, MED12, MED12L, MED13, MED13L, приводящие к нарушению сборки и работы MED-комплекса являются причиной заболеваний развития нервной системы (neurodevelopmental disorder) с тяжелой задержкой психомоторного и психоречевого развития. Наибольшее количество случаев приходится на мутации в генах MED12 и MED13L. Небольшие группы больных с умственной отсталостью, обусловленной мутациями в генах CDK8 и MED13, были описаны в течение последних трех лет, и эти больные требуют дальнейшего изучения. Мутациями в гене MED12 (локализован в локусе Xq13.1) обусловлено развитие, по крайней мере, четырех частично перекрывающихся между собой фенотипов: синдром Опитца-Каведжиа (синдром FG 1ого типа), синдром Люджина-Фринса, синдром Ohdo-X-сцепленный и несиндромальная умственная отсталость X-сцепленная. Мутации в гене MED13L, выявленные в CNV, служат причиной развития двух фенотипов. Исторически первым была описана декстрапозиция крупных сосудов, и пороки развития сердца [1]. С 2014 года в нескольких работах были описаны группы детей с умственной отсталостью, при этом были обнаружены как пороки сердца и декстрапозиция крупных сосудов, так и без них. Было обращено внимание на то, что фенотип без серьезных пороков развития сердца, вероятно, встречается чаще [2-4]. В целом фенотип этих больных был расценен как достаточно хорошо узнаваемый, что легло в основу названия болезни – умственная отсталость с патогномоничными чертами лица и пороками сердца или без них [4]. В патогномоничный комплекс краниофациальных



микроаномалий входят брахицефалия, выступающие лобные бугры, монголоидный разрез глазных щелей (у части пациентов), гипоплазия средней части лица, макростомия, приоткрытый рот и гипотония орофациальной зоны, короткая шея. Тогда же было обращено внимание на сходство с фенотипом, обычно наблюдаемым при микроделеции 22q11.2. В более поздних работах были уточнены наиболее патогномичные признаки данного фенотипа, известного сейчас также под названием MED13L-синдрома: гипоплазия средней части лица, макростомия, приоткрытый рот и непропорционально крупный язык, выявляемый в первые годы жизни ребенка. Ниже мы приводим клиническое наблюдение MED13L синдрома [5].

Мальчик пяти лет направлен неврологом на консультацию генетиком с предположением на неverified генетический синдром. Жалобы включали в себя отсутствие речи, моторную неловкость, более выраженную в крупных движениях, хронические запоры. Ребенок – от 2-ой беременности, протекавшей без серьезных отклонений; роды 2ые, осложненные слабостью родовой деятельности. После рождения обнаружен умеренно выраженный синдром угнетения. В родильном доме выявлена двусторонняя косолапость, обращено внимание на стигмы дисэмбриогенеза с крупным языком. На 1-м году ребёнок развивался с выраженной задержкой как моторных, так и психоречевых навыков. Состояние было расценено как гипоксически-ишемическое поражение ЦНС. На фоне получаемой реабилитационной терапии самостоятельно сидел в 9 мес., самостоятельно пошел в возрасте 2 лет 8 мес. Комплекс оживления сформировался с незначительной задержкой на 1 мес, но к 1 году на имя не окликался, после 3х лет речь не появилась. При осмотре: обращает внимание поведение ребенка – практически на протяжении всего осмотра разнообразные стереотипии (в основном, раскачивание вправо-влево всем телом), кружение, хлопанье в ладоши; мало интересуется игрушками в кабинете (предложенная игрушка вызывает кратковременный интерес). Ребёнок не отзывается на имя. К маме и другим детям подходит, рассматривает, подражает их пению, речь отсутствует (лепетание с большим разнообразием звуков). Выявлены лёгкая атаксия, моторная неловкость; лоб широкий, высокие брови, миндалевидной формы глаза, легкий птоз, умеренно выраженная гипоплазия средней части лица, умеренно выраженная макростомия, тонкая верхняя губа, гипотония орофациальной области, короткая шея, горизонтальная борозда на одной руке, неспецифичные изменения дерматоглифики на другой, пупочная грыжа. На фотографиях 1-го года жизни в первые месяцы выявлены: монголоидный разрез укороченных глазных щелей, более выраженный птоз, макростомия, гипотония орофациальной области. В связи с предположением редких форм микроделеционных синдромов и моногенных форм несиндромальной умственной отсталости направлен на расширенный матричный микроэРРейный анализ и клиническое секвенирование экзома.

По результатам микроматричного хромосомного анализа, клинически значимых протяженных зон потери гетерозиготности не найдено. При секвенировании экзона обнаружен ранее не описанный вероятно патогенный вариант NM\_015335.4 p.Trp1307\* в гене MED13L. Проведено обследование семьи с поиском данного варианта секвенированием по Сенгеру у ребенка и родителей. У ребенка подтверждено наличие варианта. У родителей варианта не выявлено, что предполагает его происхождение как мутации *de novo*. С учётом того, что был обнаружен не описанный ранее вариант, семья вызвана для повторного осмотра и повторного углубленного сбора анамнеза, клинического сопоставления с имеющимися на сегодня в литературе данными о MED13L синдроме. Ввиду полного соответствия наблюдаемых у ребенка темпов развития, неврологических проблем, а также наличия всего комплекса патогномичных краниофациальных микроаномалий (как со стороны лица, так и туловища и конечностей), в том числе и таких наиболее нозоспецифичных, как макростомия, крупный выступающий вперед язык, монголоидный разрез глазных щелей в раннем детском возрасте, с учетом исключения схожих микроделеционных синдромов, на основании клинических данных и молекулярно-генетической диагностики установлен диагноз по OMIM «умственная отсталость с патогномичными чертами лица с пороками сердца или без них», обусловленный возникшим *de novo* ранее не описанным вариантом (вариант NM\_015335.4 p.Trp1307\* в гене MED13L).

#### Список литературы

1. Muncke N., Jung C., Rüdiger H., et al. Missense mutations and gene interruption in PROSIT240, a novel TRAP240-like gene, in patients with congenital heart defect (transposition of the great arteries). *Circulation* 2003, 108(23):2843-2850.
2. Hamdan F.F., Srour M., Capo-Chichi J.M., et al. De novo mutations in moderate or severe intellectual disability. *PLoS Genet* 2014, 10(10):e1004772.
3. Cafiero C., Marangi G., Orteschi D., et al. Novel de novo heterozygous loss-of-function variants in MED13L and further delineation of the MED13L haploinsufficiency syndrome. *Eur J Hum Genet* 2015, 23(11):1499-504.
4. Adegbola A., Musante L., Callewaert B., et al. Redefining the MED13L syndrome. *Eur J Hum Genet* 2015, 23(10):1308-1317.
5. Tørring P.M., Larsen M.J., Brasch-Andersen C., et al. Is MED13L-related intellectual disability a recognizable syndrome? *Eur J Med Genet* 2019, 62(2):129-136.

**КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ И ЛЕЧЕНИЕ СИНДРОМА КЛИФСТРЫ, ОБУСЛОВЛЕННОГО МИКРОДЕЛЕЦИЕЙ В УЧАСТКЕ 9Q34.3: ВОЗМОЖНОЕ УЛУЧШЕНИЕ НА ФОНЕ КУРСОВОГО ПРИЕМА АКАТИНОЛА-МЕМАНТИНА**

Булатникова М.А.<sup>1\*</sup>, Василишина А.А.<sup>1</sup>, Куринная О.С.<sup>2,3</sup>, Юров И.Ю.<sup>2,3</sup>, Ларионова В.И.<sup>4</sup>  
<sup>1</sup>Медицинский центр “Покровский” ООО “ПБСК”, Санкт-Петербург, <sup>2</sup>ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, <sup>3</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, <sup>4</sup>ФБГОУ ВО СЗГМУ им. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург

**KLEEFSTA SYNDROME DUE TO MICRODELETION 9Q34.3: APPARENT IMPROVEMENT ON ACATINOL-MEMANTINE TREATMENT. A CASE REPORT**

Bulatnikova M.A.<sup>1\*</sup>, Vasilishina A.A.<sup>1</sup>, Kurinaya O.S.<sup>2,3</sup>, Iourov I.Y.<sup>2,3</sup>, Larionova V.I.<sup>4</sup>  
<sup>1</sup>Medical center “Pokrovsky” of Pokrovsky stem cell bank, St. Petersburg, <sup>2</sup>Mental Health Research Center, Moscow, <sup>3</sup>Academician Yu.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, <sup>4</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg; Russia  
\*E-mail: marinaus3@yandex.ru

Синдром Клифстры – редкое заболевание, проявляющееся задержкой психомоторного и психоречевого развития с первого года жизни, сочетанием умственной отсталости с проявлениями, свойственными расстройствам аутистического спектра, диффузной мышечной гипотонией, выраженным гипотонико-гипостатическим симптомокомплексом, нарушениями поведения, наблюдающимися у части детей в подростковом возрасте, психотическими состояниями во взрослом возрасте, патогномичным комплексом краниофациальных микроаномалий. У части детей отмечаются расстройства сна (частые пробуждения, нарушенный сон в утренние часы). У 30 % развивается эпилепсия, практически у всех детей наблюдаются тяжелые нарушения экспрессивной речи. В структуре синдрома описан также широкий круг пороков развития, наиболее частыми из которых являются пороки сердца, почек и крипторхизм. В настоящее время развитие синдрома связывают, главным образом, с нарушением нормальной функции гена ЕНМТ1 в результате микроделеции в участке 9q34, либо реже – с точковыми мутациями в гене ЕНМТ1.

Приводим описание ребёнка с этим синдромом. Девочка 9-ти лет консультирована в связи с предположением невролога неверифицированного генетического синдрома. До этого она наблюдалась с диагнозом «детский церебральный паралич». Ребенок от 1-й беременности, протекавшей без значимых отклонений до 32-х недель. В ходе третьего скрининга выявлен порок сердца – стеноз легочной артерии. Роды были 1-ые срочные со слабостью родовой деятельности, при рождении обращено внимание на множественные стигмы дизэмбриогенеза. С 1-го года развивалась задержка моторного и речевого развития; устойчиво держала голову в 6 мес., самостоятельно садилась – к 11 мес., стала вставать, держась за бортики кровати, в 1.5 года, тогда же стала делать один-два шага, не держась за опору. При попытке идти дальше падала либо вставала и боялась идти; с 2 лет 9 мес. –

самостоятельная ходьба с выраженной атаксией. В дальнейшей выраженность атаксии уменьшалась, но атаксическая походка сохранялась. Комплекс оживления сформировался по возрасту, но с 3 мес. девочка не гулила нормально, звуков практически не было, к 4-5 мес. появилось «мычание». Отдельные слоги (ма-ма, па-па) появились ближе к году, других слогов не было. Около 1 года -1,5 лет появилось слово «папа», которое девочка использовала периодами. К 3-4 годам появились слова «мама», «да», «дай», в дальнейшем словарный запас практически не рос, сохраняются периоды от нескольких недель до 2-х мес., когда девочка молчит. Ребёнок хорошо понимает бытовую речь, выполняет просьбы по дому, с 4-х до 6-7 мес. наблюдалось расстройство сна, характерное для синдрома Клифстры, пробуждение во вторую половину ночи, ближе к утру, что совпало с появлением мычания. При осмотре врача-генетика: спокойная, на осмотр реагирует адекватно в соответствии с возрастом; обращает на себя внимание неловкость как в крупных, так и мелких движениях, атаксия легкой степени; диффузная мышечная гипотония; рост ниже среднего; множественные краниофациальные микроаномалии – аркообразные брови, легкий птоз, нос бульбообразной формы, удлинённый носогубный желобок, ушные раковины несколько уменьшены в размерах, противозавиток и мягкая мочка утолщены (форма ракушки), умеренная прогнатия и брахидактилия; короткая шея; светлый цвет волос и кожных покровов. Девочка была направлена на микроматричный анализ в связи с предположением разных микроделеционных синдромов, включая редкие. По данным микроматричного анализа выявлена микроделеция в участке 9q34.3. На повторной консультации с дополнительным сбором анамнеза поставлен диагноз синдрома Клифстры, который установлен по совокупности результатов клинических и молекулярно-генетического обследований. На этой же консультации мать отметила эффективное применение акатинола-мемантина, назначенного неврологом, при этом девочка стала лучше концентрировать внимание, особенно на занятиях; стала внимательней слушать, и эти изменения отмечал и дефектолог. В последующем были проведены еще два курса данного препарата, в ходе которых впечатление об улучшении концентрации внимания при приеме акатинол-мемантина сохранилось.

У девочки наблюдается «гаплодефицит» гена GRIN1, кодирующего одну из субъединиц метаботропного глутаматного рецептора NMDA, играющего ключевую роль в процессах нейропластичности и апоптоза нейронов. С гетерозиготными мутациями в данном гене связано заболевание развития нервной системы с судорогами или без них, проявляющееся тяжелой задержкой развития, умственной отсталостью (OMIM #614254). Хотя на сегодняшний день и считается, что клиническая картина синдрома Клифстры определяется главным образом геном EHMT1, роль других генов в течение синдрома Клифстры, определяемых микроделецией, остается не изученной. Об их значении

свидетельствует тот факт, что проявления синдрома Клифстры, обусловленном микроделециями и мутациями в гене EHMT1, имеют различия. Таким образом, описанные при приеме акатинола-мемантина улучшения у девочки с синдромом Клифстры могут иметь патогенитическое объяснение, поскольку как роль делеции гена GRIN1 в патогенезе микроделеционных форм синдрома Клифстры, так и терапевтические возможности акатинола-мемантина и других ингибиторов метаболотропных NMDA рецепторов, очевидна и требует дальнейшего изучения. Есть ряд сообщений об улучшении, наблюдаемом при применении акатинола-мемантина, у детей с GRIN1-ассоциированными заболеваниями. Наблюдаемые позитивные изменения при приеме акатинола-мемантина могут быть и случайными, но тем не менее мы обращаем внимание на это наблюдение.

## ДИФФУЗНАЯ ЛЕПТОМЕНИНГИАЛЬНАЯ ГЛИОНЕЙРОНАЛЬНАЯ ОПУХОЛЬ У ДЕТЕЙ: 3 КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЯ

Валиахметова Э.Ф.<sup>1</sup>, Папуша Л.И.<sup>2</sup>, Ясько Л.А.<sup>2</sup>, Друй А.Е.<sup>2</sup>, Новичкова Г.А.<sup>2</sup>, Карачунский А.И.<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup> ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» МЗ РФ,

<sup>2</sup> ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева» МЗ РФ

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ; Москва

### DIFFUSE LEPTOMENINGEAL GLIONEURONAL TUMOR IN CHILDREN: 3 CLINICAL CASES

Valiakmetova A.F.<sup>1</sup>, Papusha L.I.<sup>2</sup>, Yasko L.A.<sup>2</sup>, Druy A.E.<sup>2</sup>, Novichkova G.A.<sup>2</sup>, Karachunsky A.I.<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup>*N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery,*

<sup>2</sup>*D. Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,*

<sup>3</sup>*N.I. Pirogov Russian National Research Medical University; Moscow, Russian Federation*

E-mail: andgeval@gmail.com

Диффузная лептоменингеальная глионейрональная опухоль (ДЛГО) является редкой опухолью ЦНС [1]. Патогенез ДЛГО не изучен до конца, тем не менее недавние исследования показали активацию МАРК сигнального пути в клетках опухоли [2].

**Цель:** Представить 3 случая ДЛГО, их клинические и молекулярно-генетические особенности, а также опыт успешного применения таргетной терапии.

**Материалы и методы:** Молекулярно-генетическое исследование нуклеиновых кислот, выделенных из ткани опухоли фиксированной в формалине и залитой в парафиновый блок, проводилось методами ПЦР в режиме реального времени с целью выявления химерных транскриптов KIAA1549-BRAF и секвенирования по Сенгеру 15 экзона гена BRAF для детекции миссенс замены V600E.

**Результаты и обсуждение:** Первый пациент – мальчик 2-х лет с ДЛГО, в ткани опухоли которого был выявлен химерный транскрипт KIAA1549-BRAF. Пациент получал химиотерапию (ХТ) Carbo/VCR после биопсии в 1 линии лечения. В течение 3,5 лет сохраняется стабилизация заболевания. Второй пациент – мальчик 8 лет с ДЛГО, в ткани опухоли пациента был обнаружен генетический вариант в гене BRAF V600E. После биопсии в 1 линии лечения получал ХТ Carbo/VCR, но на контрольной МРТ после индукционной фазы была выявлена прогрессия заболевания. После этого была назначена ингибиторная терапия Вемурафенибом. Полный ответ на лечение был зафиксирован через 10 месяцев и сохраняется по нынешний день. У третьего пациента заболевание манифестировало в возрасте 2 лет 3 месяцев в виде гипертензионной и судорожной симптоматики, а также обширного поражения оболочек головного и спинного мозга с кистозным компонентом по данным МРТ. После биопсии была верифицирована ДЛГО, диагностирован химерный транскрипт KIAA1549-BRAF. Учитывая распространенность опухоли, отсутствие эффективных стандартных методов лечения и результаты молекулярно-генетического исследования

консилиумом было принято решение о назначении МЕК ингибитора траметиниба в первой линии терапии. После начала лечения, через 22 месяца наблюдалось клиническое улучшение состояния пациента, на контрольной МРТ отмечена стабилизация заболевания.

Химерные транскрипты KIAA1549-BRAF описаны в 75% случаев ДЛГО. Аминокислотная замена в гене BRAF V600E является менее распространенной находкой [3]. На сегодняшний день не существуют терапевтические стандарты для пациентов с ДЛГО. Данные зарубежной литературы и наш опыт позволяет рекомендовать молекулярное исследование ДЛГО для выявления активирующих событий в гене BRAF и тщательного планирования лечения столь редкого новообразования.

#### **Список литературы**

1. Reifenberger G, Rodriguez F, Burger PC, Perry A, Capper D. Diffuse leptomeningeal glioneuronal tumor, in Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK (ed): World Health Organization Histological Classification of tumours of the Central Nervous System. 4th ed. Lyon, International Agency for Research on Cancer; 2016, pp 152-155.

2. Rodriguez FJ, Schniederjan MJ, Nicolaides T, et al: High rate of concurrent BRAF - KIAA1549 gene fusion and 1p deletion in disseminated oligodendroglioma – like leptomeningeal neoplasms (DOLN). Acta Neuropathol 2015, 129(4):609-610.

3. Dodgshun AJ, SantaCruz N, Hwang J, et al: Disseminated glioneuronal tumors occurring in childhood: treatment outcomes and BRAF alterations including V600E mutation. J Neurooncol 2016, 128(2):293-302.

## РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ДИАГНОСТИКЕ СИНДРОМА CADASIL

Долина А.А., Яковлев Д.С.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

## THE ROLE OF MOLECULAR TECHNOLOGIES IN THE DIAGNOSIS OF CADASIL SYNDROME

Dolina A.A., Yakovlev D.S.

*St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

Email: dolinanast.357@mail.ru

Email: akovlev986@mail.ru

**Введение:** Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CADASIL) – моногенная церебральная болезнь, поражающая мелкие сосуды, наиболее распространенная причина наследственного инсульта [1]. Заболевание характеризуется повторяющимися субкортикальными инфарктами, мигренью с аурой, снижением когнитивных функций, диффузным поражением белого вещества и психическими расстройствами. Впервые признано отдельным заболеванием в 1993 году [2]. CADASIL вызывается мутациями в NOTCH3 [3] и определяется накоплением гранулярных осмиофильных включений во внеклеточном пространстве вблизи поверхности гладкомышечных клеток среднего слоя сосудистой стенки и прогрессирующей дегенерацией данных сосудов. Клинический диагноз CADASIL ставится на основании сочетанного возникновения специфических аномалий МРТ головного мозга, истории инсультов и/или ишемических событий в семейном анамнезе, снижения когнитивных функций в относительно молодом возрасте, и может быть подтвержден идентификацией патогенной мутации в гене NOTCH3.

**Цель исследования:** Показать роль молекулярных технологий в диагностике синдрома CADASIL.

**Материалы и методы:** На неврологическое отделение №2 СПбГБУЗ «Елизаветинская больница» 20.12.2018 г. в состоянии средней тяжести была госпитализирована больная Л., 53 лет. 17.12.2018 г. пациентка упала и не могла самостоятельно подняться. В момент поступления в неврологическом статусе: сознание ясное, дезориентирована во времени, пространстве, окружении. Речевые нарушения: дизартрия средней степени. Дисфагия. Тетрапарез – в нижних конечностях до 1 балла, в верхних – до 4 баллов слева и до 3 баллов справа. Карпорадиальный, биципитальный, триципитальный, коленный, ахиллов рефлексы – D=S, низкие. Обнаруживаются патологические рефлексы (D=S). Нарушение чувствительности по полиневритическому типу. Атаксия. По шкале NIHSS – неврологические нарушения средней степени (9 баллов), Ривермид: 0. Рэнкин: 5. Из анамнеза жизни известно, что мать больной имеет психическое расстройство, брат здоров,



имеет здоровых детей и внуков. Зафиксирована МР-картина лакунарного ОНМК по ишемическому типу с геморрагическим пропитыванием в бассейне терминальных ветвей правой передней мозговой артерии в острой стадии. Выявлены зоны гиперинтенсивного сигнала в височных долях, диффузные изменения белого вещества головного мозга, множественные ликворные кисты, признаки церебральной атрофии с заместительным расширением наружных и внутренних ликворных пространств. Данная МР-картина возможна при CADASIL-синдроме.

Возраст пациентки и отсутствие данных в пользу наличия воспалительного поражения стали причиной для поиска иной причины сосудистой катастрофы. Пациентке рекомендован анализ крови на наличие NOTCH-3 мутации для исключения CADASIL синдрома. В результате генодиагностики в гене NOTCH-3 была обнаружена патологическая гетерозиготная мутация 194 C > C/S.

Клинический диагноз: I63.8 Другой инфаркт мозга. Церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с субкортикальными инфарктами и лейкоэнцефалопатией (CADASIL). Острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу в бассейне правой передней мозговой артерии с геморрагическим пропитыванием (лакунарный подтип) от 17.12.18.

**Результаты и обсуждение:** Описанная нами анамнестическая и клиническая картина при отсутствии других наиболее распространенных факторов риска сосудистых катастроф должна стать поводом для поиска редких причин их возникновения. Клинический случай демонстрирует сложность диагностики CADASIL и других церебральных заболеваний мелких сосудов в связи с их субклиническим течением до определенного возраста и патогенетической гетерогенностью. Заболевание является редким, но следует понимать, что в практике может маскироваться под другие нозологические формы, ключевым моментом в верификации диагноза CADASIL является именно генодиагностика.

#### Список литературы

1. Chabriat H, Joutel A, Dichgans M, Tournier-Lasserre E, Boussier MG. CADASIL. *Lancet Neurol* 2009;8:643-53. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70127-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70127-9).

2. Tournier-Lasserre E, Joutel A, Melki J, Weissenbach J, Lathrop GM, Chabriat H, et al. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy maps to chromosome 19q12. *Nat Genet* 1993;3(3):256–259. <https://doi.org/10.1038/ng0393-256>.

3. Joutel A, Corpechot C, Ducros A, et al. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature*. 1996;383:707–10. <https://doi.org/10.1038/383707a0>.

**КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЯЖЕЛОГО СИНДРОМА  
ДЫХАТЕЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ У ДВУХ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С  
ГЕТЕРОЗИГОТНЫМИ МУТАЦИЯМИ ГЕНА *ABCA3***

Ситник Н.Г.<sup>1,3\*</sup>, Малышева О.М.<sup>2</sup>, Кулакова Г.В.<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> *Клинический родильный дом Минской области*, <sup>2</sup> *Институт генетики и цитологии  
НАН Беларуси*, <sup>3</sup> *Белорусская медицинская академия последипломного образования*;  
Минск, Беларусь

**CLINICAL CHARACTERISTICS OF SEVERE RESPIRATORY SYNDROME  
IN 2 PREMATURE INFANTS WITH HETEROZYGOUS MUTATIONS OF THE  
*ABCA3* GENE**

Sitnik N.G.<sup>1,3\*</sup>, Malisheva O.M.<sup>2</sup>, Kulakova G.V.<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> *Clinical maternity hospital of Minsk region, Minsk, Belarus*  
<sup>2</sup> *Institute of Genetics and Cytology of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk*  
<sup>3</sup> *Belarussian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Belarus*  
\*E-mail: [n.g.sitnik@gmail.com](mailto:n.g.sitnik@gmail.com)

Нарушения в генах, ассоциированных с синтезом и метаболизмом сурфактанта, приводят к различным клиническим проявлениям – от неонатальной дыхательной недостаточности до интерстициальной болезни легких.

Представлен анализ клинического течения синдрома дыхательных расстройств у 2-х недоношенных новорожденных с гетерозиготными мутациями гена *ABCA3*.

Материалы и методы. Ребенок А. родился от 2-ой беременности (1-ая неразвивающаяся), 1-х преждевременных родов в сроке 29-30 недель с весом 1360 грамм. Состояние ребенка при рождении тяжелое, обусловленное синдромом дыхательных расстройств. Ребенок переведен на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ), произведено эндотрахеальное введение препарата сурфактанта, но через 6 часов  $FiO_2$  возросло до 45%. Попытки экстубации оказывались неудачными, и лишь с 9х суток жизни ребенок переведен на неинвазивную вентиляцию (nCPAP) с кислородозависимостью 30-25 %. Последующие 13 суток жизни на спонтанном дыхании сохранялась кислородозависимость 23-22 %.

Ребенок Ж. родился от 2-ой беременности (1-ая беременность закончилась выкидышем в 11-12 недель), 1-х преждевременных родов в сроке 28-29 недель с весом 1160 грамм. Состояние ребенка при рождении тяжелое, обусловленное синдромом дыхательных расстройств. Ребенок находился на ИВЛ, произведено эндотрахеальное введение препарата сурфактанта. Через 4 часа после сурфактантной терапии кислородозависимость выросла до 35 %, а к концу 7 суток  $FiO_2$  достигло 50 %. С 13 суток параметры вентиляции постепенно снижались, и к 15 суткам ребенок был экстубирован. Кислородозависимость на спонтанном дыхании сохранялась до 65 суток жизни.

В обоих случаях следует отметить нестабильное и волнообразное течение патологического процесса, что выражалось в повышении кислородозависимости до 45% после

сурфактантной терапии, неэффективности попыток перевода на спонтанное дыхание, а также длительной кислородозависимости.

Для уточнения причин тяжелого течения заболевания выполнено высокопроизводительное секвенирование с использованием панели «Клинический экзом» (TruSight One Sequencing Panel) на секвенаторе MiSeq (Illumina) с последующей обработкой полученных данных (fastq-файлы) алгоритмом Enrichment (Illumina). Проведен поиск патогенных вариантов генов, ассоциированных с синтезом, процессингом, транспортом и клиренсом сурфактанта. Не обнаружены патогенные варианты в генах CSF2RA, CSF2RB, SFTPB, SFTPC, SFTPD, SFTPA1 и SFTPA2.

У ребенка А. выявлен патогенный гетерозиготный вариант p.Glu292Val (rs149989682) в 9 экзоне гена ABCA3, который является наиболее распространенной мутацией ABCA3, зарегистрированной у детей. У ребенка Ж. обнаружены гетерозиготные варианты p.Ala54Val (rs759790104) в 5 экзоне и p.Arg288Lys (rs117603931) в 8 экзоне гена ABCA3. Клиническое значение варианта p.Arg288Lys в развитии дыхательных расстройств у недоношенных противоречиво, можно говорить лишь о связи этого варианта с тяжестью течения заболевания. На данный момент в базе gnomAD зарегистрирован только один пациент с гетерозиготным вариантом p.Ala54Val, который по программам предсказания относится к вероятно патогенным.

Ген ABCA3 является критическим для синтеза и процессинга легочного сурфактанта. Известно более 200 мутаций в гене ABCA3, которые у 75 % пациентов представлены в виде сложных гетерозигот. Мутации в этом гене связаны с тяжелым течением синдрома дыхательных расстройств, дыхательной недостаточностью и резистентностью к обычным методам лечения. Молекулярные нарушения ABCA3 связаны с наследственным нарушением метаболизма сурфактанта (OMIM 601615). Для развития заболевания необходимо наличие гомозиготного патогенного варианта или 2 компаунд гетерозиготных вариантов [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**].

В связи с вышеизложенным, можно предположить, что тяжелое клиническое течение СДР связано с наличием обнаруженных мутаций ABCA3 у наших пациентов. Длительная кислородозависимость (65 суток) и более тяжелое течение СДР у пациента Ж. вероятно обусловлены наличием у него 2-х компаунд гетерозиготных вариантов ABCA3.

**МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ МИОПАТИЯ С МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ ТК2 С ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ДИНАМИКОЙ В ДВИГАТЕЛЬНОЙ СФЕРЕ НА ФОНЕ КОМПЛЕКСНОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ**

Соколова М.Г.

*ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, кафедра неврологии  
им. акад. С.Н. Давиденкова, Санкт-Петербург*

**MITOCHONDRIAL MYOPATHY WITH A MUTATION IN THE TK2 GENE WITH POSITIVE DYNAMICS IN MOTOR ACTIVITY AGAINST THE BACKGROUND OF COMPLEX PHARMACOTHERAPY**

Sokolova M.G.

*North-West State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia  
E-mail: sokolova.m08@mail.ru*

Митохондриальная миопатия с мутацией в гене ТК2 (TK2d) – очень редкое генетическое заболевание, наследуемое по аутосомно-рецессивному типу, возникающее вследствие дефицита киназы 2 тимидина и приводящее к развитию синдрома истощения митохондриальной ДНК. У детей митохондриальная миопатия ТК2 впервые была описана в 2001 году, у взрослых в 2013 году. У больных с ТК2 производится меньше мтДНК, что приводит к энергодефициту и нарушению функции с последующей гибелью мышечной ткани. До настоящего времени заболевание считалось неизлечимым и трудным для диагностики – в 97% случаев диагноз не устанавливается из-за наличия различных клинических форм (скрытые, латентные), отсутствия патогномоничных симптомов и невозможности генетического тестирования в большинстве стран мира.

Представлено динамическое наблюдение за двумя пациентами детского возраста с диагнозом митохондриальная миопатия с мутацией в гене ТК2 для оценки влияния проводимого комплексного фармакологического лечения на двигательную активность больных.

На протяжении трех лет под наблюдением находились два ребенка мужского пола с подтвержденной молекулярно-генетическим исследованием мутацией в гене ТК2 в экзоне 7с:472>Т:p.R158W. в гомозиготном состоянии. Проводилось клинико-неврологическое и лабораторное исследование до начала терапии и в процессе лечения.

До начала лечения в возрасте 2-х и 5-ти лет оба ребенка имели выраженный дефицит в двигательной сфере, не могли самостоятельно передвигаться, выявлялись симптомы выраженного миопатического синдрома: диффузная мышечная атрофия, гипорефлексия и гипотония. Два года дети постоянно принимали комплексную медикаментозную терапию: Л-карнитин, Аква ДЗ, Рыбий жир, Идебенон, Дезоксицитидин, Тимидин. На фоне проводимой терапии у детей было отмечено восстановление двигательной активности (больной А. 7-ми лет – самостоятельно встает, садится, ест, одевается, ходит с поддержкой; больной В.

5-ти лет – самостоятельно садится, ползает, одевается), которое зафиксировано видео-съемкой, отмечено снижение концентрации КФК и ЛДГ в сыворотке крови.

Таким образом, проведение комплексной фармакологической терапии у больных митохондриальной миопатией с мутацией в гене ТК2 способно не только стабилизировать состояние больных, но и восстановить двигательные функции.

**ЭТАПНОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНОГО  
С СОЧЕТАННОЙ МОНОГЕННОЙ И ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ:  
ПРИМЕНЕНИЕ «ОБРАТНОГО» КАРИОТИПИРОВАНИЯ**

Яблонская М.И.<sup>1\*</sup>, Колотий А.Д.<sup>1,2</sup>, Юров И.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова,*

<sup>2</sup>*ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва*

**THE ALGORITHM OF MOLECULAR CYTOGENETIC EXAMINATION OF A PATIENT  
WITH A COMBINATION OF MONOGENIC AND CHROMOSOMAL PATHOLOGY:  
APPLICATION OF “REVERSE” KARYOTYPING**

Yablonskaya M.I.<sup>1\*</sup>, Kolotii A.D.<sup>1,2</sup>, Iourov I.Y.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Academician Y.E. Veltishchev Research Clinical Institute of Pediatrics, Pirogov Russian National University*

<sup>2</sup>*Mental Health Research Center, Moscow, Russia*

\*E-mail: i.yablonsky@mail.ru

Использование совокупности цитогенетических, молекулярно-цитогенетических методов, а также полноэкзомного секвенирования и «обратного» кариотипирования при обследовании больных с недифференцированными формами умственной отсталости и задержкой психомоторного развития, совершенствование биоинформатического анализа позволяют установить характер изменений генома как причину нарушения нервно-психического развития и уточнить медико-генетический прогноз в семьях, имеющих ребенка с наследственной патологией.

**Цель исследования:** Продемонстрировать сложный путь клинико-лабораторной диагностики наследственного заболевания и возможности использования современных геномных исследований в клинической практике.

**Материалы и методы:** Обследована девочка 3 лет с задержкой физического и психоречевого развития. Исследование включало: цитогенетический анализ лимфоцитов периферической крови, полное секвенирование экзома, молекулярно-цитогенетический метод сравнительной геномной гибридизации на микрочипах с разрешающей способностью не более 1000 пар нуклеотидов (молекулярное кариотипирование или arrayCGH); повторный цитогенетический анализ – «обратное» кариотипирование.

**Результаты и обсуждение:** Девочка 3 лет поступила в отделение врожденных и наследственных заболеваний в связи с задержкой физического и выраженной задержкой психоречевого развития, нарушением пигментации кожи в виде множественных пятен цвета «кофе с молоком» и светло-коричневых полос на нижних конечностях и спине, расположенных по линиям Блашко, комплексом микроаномалий развития. Кариотип лимфоцитов периферической крови (по месту жительства): 46,XX. В первую очередь исключалось сочетание нейрофиброматоза 1 типа (OMIM 162200) и синдрома

Блоха-Сульцбергера (ОМIM 308300). Полное секвенирование экзона подтвердило наличие у ребенка нейрофиброматоза 1 типа (в гене NF1 выявлена ранее описанная гетерозиготная патогенная мутация с.5488C>T:p.Arg1830Cys(NM\_000267) и исключило синдром Блоха-Сульцбергера. На следующем этапе поиска причин задержки развития и кожных изменений, не свойственных нейрофиброматозу, было проведено молекулярное кариотипирование с высоким разрешением, выявившее крупные мозаичные дупликации: 14q12q21.1 размером 16931514 пар нуклеотидов и 14q24.3q32.33 размером 32404026 пар нуклеотидов, что явилось основанием для проведения «обратного» кариотипирования. Повторное цитогенетическое исследование пробанда выявило мозаичную трисомию хромосомы 14 и Робертсоновскую транслокацию хромосомы 14 (кариотип: 46,XX,rob(14;14)(q10;q10),+14,9phqh[5]/ 46,XX,9phqh,14cenh-[95]). Фенотипические проявления у больной сходны с описанными в литературе у пациентов с мозаичной трисомией хромосомы 14. У матери пробанда кариотип 46,XX; выявлена хромосомная нестабильность в виде численных и структурных аномалий аутосом.

**Заключение:** Таким образом, совершенствование геномных технологий дает возможность объяснить клинические проявления у детей с наследственной патологией, демонстрирует необходимость обследования родителей и позволяет осуществлять эффективное медико-генетическое консультирование семей.

Работа поддержана Госзаданием Минздрава России № АААА-А18-118051590122-7.

# МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ ВОПРОСЫ СОВРЕМЕННОЙ ЭКОНОМИКИ МЕДИЦИНЫ

## К ВОПРОСУ ОЦЕНКИ ИННОВАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ В ФАРМАЦЕВИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ

Беркович М.И. Волин А.Ю.  
*Костромской Государственный Университет*

## REVISITING THE ASSESSMENT OF INNOVATION ACTIVITY IN PHARMACEUTICAL INDUSTRY

Berkovich M.I., Volin A.Yu.  
*Kostroma State University, Kostroma, Russia*  
E-mail: ecdepart@kstu.edu.ru  
E-mail: volin.andrei2011@yandex.ru

Фармацевтическая отрасль является не только одной из социально значимых сфер современного хозяйства, но и одной из наиболее инновационных отраслей. Это обуславливает принятие комплекса мер, направленных на стимулирование инноваций в данной отрасли [1]. Об эффективности данных мероприятий здесь можно судить не только на основе изучения агрегированных показателей отраслевой статистики, подверженных влиянию различных конъюнктурных факторов, но и на основе анализа процессов, связанных с активизацией инновационной деятельности отдельных фармацевтических производителей.

В экономической литературе представлены различные подходы к количественному определению инновационной активности (см., например, [2, с. 158-163], [3]). Однако фармацевтическая отрасль имеет определенную специфику, которую необходимо учитывать при оценке инновационной деятельности фармацевтических производителей. Приведенные ниже характеристики инновационной активности в фармацевтике получены на основе отбора представленных в научной литературе показателей путем оценки их применимости и последующей адаптации к специфике фармацевтического рынка.

Следует подчеркнуть, что процесс создания новых препаратов является особой стадией фармацевтического производства, и вложения в разработку новых лекарств являются высоко рискованными – вновь создаваемые молекулы в большинстве случаев не доходят до конечных потребителей по соображениям эффективности и безопасности. В связи с этим имеет смысл оценивать не только показатели, характеризующие конечные результаты инновационной деятельности производителя, к которым относятся следующие: количество выведенных на рынок инновационных препаратов, их доля в объеме продаж компании, обновляемость продукции компании, а также количество патентов на лекарственные препараты. Следует также учитывать показатели, характеризующие собственно процесс инновационной



деятельности – расходы на разработку новых препаратов и их доля в общем объеме затрат компании, доля исследователей в штате компании, а также удельный вес особого экспериментального оборудования, задействованного в инновационном процессе. Представляет также интерес общее количество клинических исследований всех стадий, проводимых компанией для вывода на рынок уникальных препаратов, в том числе успешных исследований и исследований, завершившихся неудачным результатом, а также их соотношения. Из этого следует, что оценка инновационной активности фармацевтических производителей не должна сводиться исключительно к показателям результативности и эффективности инновационной деятельности, а призвана характеризовать интенсивность всех процессов, связанных с инновационной деятельностью предприятия и с его вовлеченностью в создание инноваций.

Особенности фармацевтической отрасли обуславливают не только специфику перечня показателей, характеризующих инновационную активность предприятий, но и неоднозначность определения и интерпретации некоторых из них. Например, с учетом дифференциации структуры производства оригинальных препаратов и дженериков имеет смысл не учитывать при характеристике инновационной активности факторы, связанные с расширением производства дженериков – расходы на трансфер технологий и налаживание их производства, а также научных работников, фармацевтическое оборудование и установки, занятые в данных процессах, так как данные ресурсы направляются на копирование и тиражирование уже существующих разработок и не участвуют непосредственно в инновационном процессе. Кроме того, не вся интеллектуальная собственность компании является показателем ее инновационной активности, поскольку приобретенные у других производителей патенты на производство лекарств, а также объекты интеллектуальной собственности, связанные с дженериками (например, средства их индивидуализации) объективно не отражают активность предприятия в сфере инноваций.

### **Список литературы**

1. Об утверждении Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года: [приказ Министерства промышленности и торговли РФ от 23 октября 2009 г. №965].
2. Вертакова, Ю.В., Симоненко Е.С. Управление инновациями: теория и практика: учеб. пособие / Ю.В. Вертакова, Е.С. Симоненко. – М.: Эксмо, 2008. – 432 с.
3. Rogers M. The Definition and Measurement of Innovation [Электронный ресурс] / M. Rogers // Melbourne Institute Working Paper No. 10/98. – Мельбурн, Австралия: The University of Melbourne, 1998. – 27 с.

## РАЗВИТИЕ ПРЕВЕНТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ В КОНТЕКСТЕ РЕАЛИЗАЦИИ НАЦИОНАЛЬНОГО ПРОЕКТА «ЗДРАВООХРАНЕНИЕ»

Кундрюков В.А.\*, Головцова И.Г.

*Санкт-Петербургский государственный экономический университет, Санкт-Петербург*

## DEVELOPMENT OF PREVENTIVE MEDICINE IN THE CONTEXT OF IMPLEMENTATION OF THE NATIONAL PROJECT "PUBLIC HEALTH CARE"

Kundryukov V.A.\*, Golovtsova I.G.

*St. Petersburg State University of Economics, St. Petersburg, Russia*

\*E-mail: Fpsvvv@gmail.com

Формирование и внедрение концепции превентивной медицины, популяризация здорового образа жизни для населения, профилактика и контроль неинфекционных заболеваний на сегодняшний день являются приоритетными направлениями государственной политики в сфере здравоохранения. Задачи популяризации здорового образа жизни и профилактики неинфекционных заболеваний зафиксированы в бюджете и в планах мероприятий национального проекта «Здравоохранение», призванного обеспечить устойчивое увеличение численности населения Российской Федерации и повысить ожидаемую продолжительность жизни до 78 лет к 2024 году.

**Целью исследования** является установление взаимосвязей между внедрением принципов превентивной медицины и достижением целей национального проекта «Здравоохранение», определение степени влияния диспансеризации на предотвращение рисков развития заболеваний. Для достижения поставленной цели нами были подробно проанализированы и обобщены положения, содержащиеся в таких документах как «Паспорт национального проекта «Здравоохранение», «Стратегия формирования здорового образа жизни населения, профилактики и контроля неинфекционных заболеваний на период до 2025 года», «Концепция предиктивной, превентивной и персонализированной медицины» и др. Проведено сопоставление анонсируемых Министерством здравоохранения изменений с концепцией 4-П медицины. Составлен перечень существующих на данный момент проблем и представлены пути их решений.

**Результаты и обсуждение:** На основании проведенного исследования сделаны следующие выводы и рекомендации.

1. Несмотря на активное продвижение здорового образа жизни со стороны государства, большая часть населения все еще не является его приверженцами.
2. Несмотря на бесплатную диспансеризацию, подавляющее число пациентов обращаются к врачу непосредственно в момент заболевания.
3. Степень доверия пациентов к врачам находится на достаточно низком уровне, статус и доходность профессии также стали оцениваться ниже, чем раньше.

4. Работа в формате 4-П накладывает на врача серьезную психологическую нагрузку, на взаимодействие Врач-Пациент выделяется слишком мало времени.

5. Наиболее эффективные инструменты превентивной медицины (такие как определение состояние биомаркеров) все еще находятся в процессе исследования или внедрения, отсутствуют образовательные стандарты в сфере превентивной медицины.

6. Необходимо выстроить четкую систему организации здорового образа жизни человека и обеспечить ее преемственность на всех этапах жизни.

7. Необходимым условием для развития превентивной и персонифицированной медицины является преодоление кризиса нехватки медицинского персонала для того, чтобы врач имел достаточно времени на индивидуальный подход к каждому пациенту.

8. Превентивная медицина должна быть доступной всем слоям населения, независимо от их материального состояния.

9. Для возвращения доверия пациентов необходим рост статуса врача, требуется обеспечить медицинских работников достойными условиями труда и социальными гарантиями.

## УПРАВЛЕНЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ В ОРГАНИЗАЦИЯХ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

Тозикова М.А.

*Санкт-Петербургский государственный экономический университет*

## MANAGEMENT PROBLEMS IN HEALTH CARE ORGANIZATIONS

Tozikova M.A.

*St. Petersburg State Economic University, ST. Petersburg, Russia*

E-mail: kazakova.m@unecon.ru

На сегодняшний день проблемы вовлеченности персонала являются актуальными для организаций здравоохранения, поскольку это в первую очередь влияет на качество предоставляемых услуг, а также на конкурентоспособность организаций.

Для выявления патологичности менеджмента применяется апробированная методика, которая выделяет причины устойчивого «целенедостижения». Проблема патологичности менеджмента впервые была поставлена Пригожиным А.И. [1], а на сегодняшний день данную методику совершенствуют и применяют в своих исследованиях доктор экономических наук, профессор Цветков А.Н. и доктор экономических наук, профессор Плешакова Е.Ю. [2].

Данная методика представляет собой анкетирование, в котором находятся 25 вопросов, связанных с патологиями менеджмента и их градациями, от присутствия «болезни» в организации до ее отсутствия [2]:

1. Приверженность патернализму – проявление детско-родительской модели организационного поведения: менеджер – мудрый и справедливый родитель, сотрудники – дети с их умиляющими и раздражающими характеристиками.

2. Господство управленческой структуры над основной функцией – отвлечение управленческими подразделениями от работы подразделений, занятых выполнением основной функции.

3. Автаркия подразделений – структурные подразделения организации замкнуты на собственных задачах в отрыве от целей и интересов смежных подразделений и организации в целом. Патология проявляется в принятии менеджментом этих подразделений таких решений, которые создают проблемы в достижении общих целей.

4. Несовместимость личности с функцией (мотивирование должностью) – эта патология развивается, когда менеджмент организации не видит другого способа мотивации (повышения оплаты) кроме повышения в должности. Если талантливого профессионала с целью поощрения назначают менеджером, а он для этой функции не годится, то в итоге организация приобретает плохого менеджера и теряет хорошего профессионала.

5. Бюрократическая инновация – выражается в подмене реальных изменений перечнем действий по их осуществлению. Когда в организации назревает проблема, первой реакцией сотрудников с бюрократическим мышлением становится составление планов действий

и мероприятий для исправления положения или решения проблемы, с тем, чтобы показать их начальству и создать видимость бурной деятельности. Часто все этим и ограничивается: планы есть, а действий нет, и ситуация не исправляется.

6. Аппаратный прессинг при принятии решений – личный аппарат менеджеров вмешивается в процесс принятия решений.

7. Конфликт с переходом на личности – часто в конфликтном коллективе формируются группы «смертельных врагов», использующие в качестве аргументов грубость и оскорбления. Такое положение вещей является патологией, не дает достичь поставленной менеджментом цели. Для этого необходимо следить, чтобы стороны не переходили на личности и не использовали в качестве аргументов грубость и оскорбления.

8. Бессубъектность – готовность сотрудников организации выполнять возложенные на них обязанности.

9. Преобладание личных отношений над служебными – предпочтение сотрудниками в своих служебных взаимоотношениях личным отношениям.

10. Дублирование организационного порядка – менеджмент не уверен в действенности установленного им организационного порядка и дублирует посредством приказов и распоряжений должностные инструкции и положения, в соответствии с которыми выполняются все обязанности и реализуются все права внутри организации.

11. Игнорирование организационного порядка – менеджер нарушает установленный самим же организационный порядок, отдает распоряжения через несколько уровней вниз по скалярной цепи.

12. Демотивирующий стиль руководства – превалирование наказания над поощрениями.

13. Приверженность пассивному риску – пассивный риск возникает, когда менеджер стремится уклониться от принятия решений, назревших изменений. Это уклонение приводит к упущенным возможностям.

14. Приверженность количественному росту – все усилия менеджмента сосредоточиваются на росте организации или структурного подразделения. Количественный рост наглядно демонстрирует результат, «успокаивает» менеджмент.

15. Угроза статусу – уровень угрозы статусу делает командную работу неэффективной.

16. Управленческая алчность – стремление замкнуть на себя все решения, не доверяя своим заместителям – членам команды. Менеджер не использует ресурс вовлеченности персонала.

17. Информационная фобия – страх высшего руководства раскрыть информацию перед своими заместителями, участниками команды.

18. Гиперинновационность – «разумность характера» инноваций.

19. Антиинновационное поведение – негативность отношения к инновациям.

20. Легизм – создание нормативными документами организации возможности для позитивного развития.

21. Клановость – предоставление благ участникам клана для поощрения личной преданности. На нижних уровнях иерархии приводит к невозможности судить о том, что происходит в управлении.

22. Тирания – сомнительная легитимность проявляется в некомпетентности и низком профессионализме руководителя, в проявлениях репрессивного менеджмента, в избавлении от «неудобных» сотрудников.

23. Перманентный трудовой подвиг – в коллективе назревает усталость от «подвигов», происходит «выгорание».

24. Организационный иммунодефицит – организация, используется топ-менеджментом и рядовыми сотрудниками в личных целях: для личного обогащения («левые» доходы, воровство, использование оборудования и помещений и т.п.), для решения личных проблем (трудоустройство родных и близких, использование престижа организации в личных целях и т.п.). Постепенно эта деятельность в организации становится основной: организация не может защититься от этих явлений.

25. Рассеивание целей – цель организации должна быть разделена на более мелкие подцели и роздана для исполнения в структурные подразделения (декомпозиция цели). Когда работы по достижению целей заканчиваются, необходимо эти мелкие подцели интегрировать (снова собрать). На практике задуманное первоначально и результат интегрирования чаще всего не совпадают, то есть достичь исходной цели не получается.

В ходе исследования было проведено анкетирование в 27 организациях здравоохранения разных типов – поликлиники, медицинские центры и стоматологии, которые являются государственными и частными учреждениями.

В результате анализа выявлено, что в практически в каждом учреждении здравоохранения присутствуют 68 % «болезней» из представленного выше списка патологий. Если говорить о преобладающих патологиях, то можно выделить три самых частых «болезней» в организациях здравоохранения:

1. Конфликт с переходом на личности. Данная проблема есть у всех медицинских организаций.

2. Дублирование организационного порядка. Обнаруживается в 85 % опрошенных медицинских организаций.

3. Приверженность пассивному риску и приверженность количественному росту. Присутствует в 81.5 % опрошенных медицинских организаций.

Стоит отметить, что в ходе проведенного анализа патологичности менеджмента были выделены 11 патологий, которые влияют на вовлеченность персонала в организациях здравоохранения [3]:

1. Приверженность патернализму.
2. Клановость.
3. Тирания.
4. Бессубъектность.
5. Конфликт с переходом на личности.
6. Преобладание личных отношений над служебными.
7. Легизм.
8. Демотивирующий стиль руководства.
9. Управленческая алчность.
10. Угроза статусу.
11. Информационная фобия.

Если говорить о патологиях вовлеченности персонала, то согласно проведенному анализу анкет, все 11 «болезней» присутствуют во всех организациях, что негативно сказывается на качестве предоставляемых медицинских услуг. Если говорить о самых преобладающих патологиях, то можно выделить три самых частых «болезней» в организациях здравоохранения, связанных с вовлеченностью:

1. Конфликт с переходом на личности Данная проблема есть у всех медицинских организаций.

2. Демотивирующий стиль руководства и управленческая алчность. Обнаруживается в 74 % опрошенных медицинских организаций.

3. Тирания. Присутствует в 67 % опрошенных медицинских организациях.

Вовлеченность состоит из трех составляющих: физическое состояние, эмоциональное и интеллектуальное, что заставляет сотрудников добровольно прилагать больше усилий к выполнению работы [4]. Вовлеченность персонала напрямую влияет на качество медицинских услуг, и то, что во многих организациях присутствуют данные патологии, свидетельствует о том, что необходимо искать пути выхода из состояния «болезни» вовлеченности персонала и менеджмента учреждения здравоохранения в целом. Организациям здравоохранения необходимо задуматься о персонале и о том, как обеспечить качество медицинских услуг.

Чтобы выйти из состояния «болезни» и повысить качество предоставляемых медицинских услуг необходимо:

1. Руководителям организации здравоохранения необходимо вовлекать своих сотрудников в обеспечения качества медицинских услуг: мотивировать, повышать квалификацию, обеспечивать оснащенность рабочего места согласно специализации и всех условий, которые необходимы для оказания качественных медицинских услуг [5].

2. Руководителям организации здравоохранения необходимо разработать либо усовершенствовать систему менеджмента качества (СМК) в организации, согласно стандарту ISO 9001:2015. Надо понимать, что СМК в организациях любой отрасли отлаживает процесс обеспечения качества товара или услуги, а также повышает престиж учреждения, что очень важно для любого руководителя [5].

3. Руководителям организации здравоохранения необходимо обратить внимания на профессиональные стандарты, которые немногие внедряют в свою деятельность, но стоит понимать, что стандарты объединяют интересы работников, работодателей, клиентов и государства.

К сожалению, в нашей стране внедрение стандартов считается большинством необязательной процедурой, поэтому далеко не все области в полной мере затрагиваются стандартами, но учитывая какими темпами развивается окружающая среда и экономика мира, необходимо перенимать зарубежный опыт.

#### **Список литературы**

1. Пригожин А.И. Дезорганизация: причины, виды, преодоление. М.: Альпина Бизнес Букс, 2007.

2. Цветков А.Н., Плешакова Е.Ю. Анализ патологий менеджмента на стадиях жизненного цикла организации // Финансовый университет при Правительстве Российской Федерации, 2015 г.

3. Головцова И.Г., Плешакова Е.Ю., Тозикова М.А. Патологии менеджмента и вовлеченность персонала в обеспечение качества медицинских услуг // Информационно-экономические аспекты стандартизации и технического регулирования. 2019. № 3. (49). С. 10.

4. Тозикова М.А., Плешакова Е.Ю. Влияние профессиональных стандартов на кадровую политику в организациях здравоохранения. В сборнике: Национальная концепция качества: государственная и общественная защита прав потребителей сборник тезисов докладов международной научно-практической конференции. Санкт-Петербургский государственный экономический университет. 2018 С. 170-174.

5. Тозикова М.А. Вовлеченность персонала в обеспечение качества медицинских услуг. – Национальная концепция качества: государственная и общественная защита прав



потребителей – сборник тезисов докладов международной научно-практической конференции СПбГЭУ. – СПб: Издат-во: КУЛЬТ-ИНФОРМ-ПРЕСС. – СПб., 2019 г.

6. Тозикова М.А. Новая версия стандарта ISO 9001:2015: новые акценты в управлении персоналом. В сборнике: Интеграция науки, образования и бизнеса – основа модернизации экономики. 2018 С. 61-65.









Научное издание

**МУЛЬТИДИСЦИПЛИНАРНЫЕ АСПЕКТЫ  
МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ  
V РОССИЙСКОГО КОНГРЕССА  
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

**«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ  
МЕДИЦИНЫ – ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»**

**Санкт-Петербург**

**26–29 марта 2020 г.**

*Под научной редакцией В.И. Ларионовой*

Подписано в печать 16.06.2020. Формат 60×84 1/16.  
Усл. печ. л. 14,5. Тираж 500 экз. Заказ 523.

Издательство СПбГЭУ. 191023, Санкт-Петербург, Садовая ул., д. 21.

Отпечатано на полиграфической базе СПбГЭУ