

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

*ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ПЕРВЫХ РОССИЙСКИХ НАЦИОНАЛЬНЫХ
РЕКОМЕНДАЦИЙ ПО ПРОБЛЕМЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ НАРУШЕНИЙ
СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ*

Земцовский Э.В.

*МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ НАРУШЕНИЙ
СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА. ДОСТИЖЕНИЯ И
ПРОБЛЕМЫ*

Кадурина Т.И., Горбунова В.Н.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ АГРЕССИВНОГО ПАРОДОНТИТА

Кадурина Т.И., Цимбалистов А.В., Шторина Г.Б., Нацвлишвили Т.Т.

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

*РОЛЬ МОДИФИКАЦИИ ЭКСПРЕССИИ mTOR В МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ И
РАЗВИТИЯ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ*

*Анисимов В.Н., Забежинский М.А., Попович И.Г., Егормин П.А., Пискунова Т.С.,
Семенченко А.В., Тындык М.Л., Юрова М.Н.*

ВОЗМОЖНОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ

*Иванов Д.В., Хадарцев А.А., Хадарцев В.А., Станков Д.С., Субботина Т.И., Сабурова
И.Н., Кошелева Н.В., Горкун А.А.*

КЛИНИЧЕСКИЕ, БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ МИНЕРАЛИЗАЦИИ СКЕЛЕТА

*МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ
ОСТЕОПОРОЗА КАК МИШЕНИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ПРЕПАРАТОВ*

*Фаламеева О.В., Графов А.В., Храпова Ю.В., Куляев Е.А., Рзаев М.М., Верхотурова
В.Т., Плотникова И.В., Садовой М.А.*

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ МУТАГЕННОГО ЭФФЕКТА КСЕНОБИОТИКОВ

*ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ XRCC1 И XRCC3 НА УРОВЕНЬ
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У РАБОЧИХ УРАНОДОБЫВАЮЩЕЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ*

Васильева З.Ж., Берсимбаев Р.И., Бекманов Б.О., Ау У.

*КОМЕТНЫЙ АНАЛИЗ ДНК В ОЦЕНКЕ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ЭФФЕКТОВ
ЭКЗОГЕННЫХ ТОКСИКАНТОВ НА УРОВНЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК*

Ващенко А.А., Зайцев В.Г., Меклеева Б.В., Островский О.В.

РОЛЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОЦЕНКЕ ОТДАЛЁННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ЧЕЛОВЕКА.

Воробцова И.Е., Семёнов А.В., Васильева З.Ж.

ОПОСРЕДОВАННЫЙ АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ, ВЫЯВЛЯЕМЫЙ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ЛИМФОЦИТОВ РАЗНОПОЛЫХ ДОНОРОВ

Колесникова И.С., Воробцова И.Е.

ЧАСТОТА МУТАЦИЙ В ГЕНЕ TP53 И ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОБЛУЧЕНИИ ЧЕЛОВЕКА

Площанская О.Г., Веремеева Г.А., Почухайлова Т.Н., Блинова Е.А., Аклеев А.В.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

Тимошевский В.А., Лебедев И.Н., Васильев С.А.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ТРОМБОЗОВ

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

Бердюгина О.В.

СОВМЕСТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПО РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН РОССИИ И УКРАИНЫ С ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫМИ ФОРМАМИ ТРОМБОФИЛИИ

Глотов А.С., Вашукова Е.С., Канаева М.Д., Бикмуллина Д.Р., Зайнулина М.С., Татарский П.С., Лившиц Л.А., Баранов В.С.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ КАРДИОЛОГИЯ

СОЧЕТАННОЕ ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ТРАДИЦИОННЫХ ФАКТОРОВ РИСКА НА РАЗВИТИЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Андреев Е.Ю., Балацкий А.В.,¹ Макаревич П.И., Самоходская Л.М., Бойцов С.А.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КОННЕКСИНА-37 В РАЗВИТИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Балацкий А.В., Андреев Е.Ю., Самоходская Л.М., Бойцов С.А.

ГАПЛОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА CCL2 У БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Белоногова В.А., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Карамова И.М., Мустафина О.Е.

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА У БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМИ ФЕНОТИПАМИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Войтович А.Н., Богданова М.А., Смирнов Б.И., Быстрова А.А., Глебовская Т.Д., Красильникова Е.И., Бадмаева М.И., Беркович О.А., Шляхто Е.И., Ларионова В.И.

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

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

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА Q192R ГЕНА ПАРАОКСОНАЗЫ PON1
С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЛИПИДОГРАММЫ**

Колбасин Л.Н., Урванцева И.А., Гильнич Н.А.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АНГИОТЕНЗИНОГЕНА M235T И КЛИНИЧЕСКИЕ,
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ИШЕМИЧЕСКОГО
ГЕНЕЗА**

Краснова О.А., Ситникова М.Ю., Иванов С.Г., Ларионова В.И.

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИКИ СЕМЕЙНОЙ
ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ И В ПЕТРОЗАВОДСКЕ**

Мандельштам М.Ю., Головина А.С., Комарова Т.Ю., Липовецкий

Б.М., Константинов В.О., Корнева В.А., Денисенко А.Д., Васильев В.Б.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ
ПРИ СЕМЕЙНЫХ ФОРМАХ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ**

Пинелис В.Г., Березнева Н.А., Громыко О.Е., Асанов А.Ю.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ
ECNOS 4A/4B, PON1 Q191R, EDN1 LYS198ASN, AVCA1 C69T У ЖЕНЩИН С
КАРДИАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ X И С АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИМ
ПОРАЖЕНИЕМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ**

Феоктистова В.С., Колесниченко М.Г., Леонова И.А., Болдуева С.А., Сироткина О.В.

**АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ НЕКОТОРЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА
ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА
И АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ**

Хавинсон В. Х., Стрекалов Д. Л., Лыцев А. А., Горбунова В. Н., Шварц Е. И.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ НЕВРОЛОГИЯ

**ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ПРОКСИМАЛЬНОЙ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ
АТРОФИЕЙ ПРЕПАРАТАМИ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ**

Вахарловский В.Г., Железнякова Г.Ю., Киселёв А.В., Команцев В.Н., Егорова А.А., Сезнева Т.Н., Юрьева Р.Г., Вахарловская М.В., Баранов А.Н., Баранов В.С.

**ОПУХОЛИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В СТРУКТУРЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ**

Горбунова В. Н.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА UGT1A6

У ДЕТЕЙ С ЭПИЛЕПСИЕЙ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

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

О РИСКЕ РЕЦИДИВОВ ИДИОПАТИЧЕСКИХ ФОРМ ЭПИЛЕПСИИ У ДЕТЕЙ

Гузева В.В., Гузева О.В.

**ДЕФИЦИТ СИНАПТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В МОЗГЕ ТРАНСГЕННЫХ
DROSOPHILA MELANOGASTER С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА APP ЧЕЛОВЕКА**

Кислик Г. А., Родин Д.И., Большакова О.И., Саранцева С. В.

**ТРУДНОСТИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ ГИПЕРКИНЕТИЧЕСКОГО СИНДРОМА**

Клочева Е.Г., Голдобин В.В.

**КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ ПРИ
МИОДИСТРОФИИ ДЮШЕННА/БЕККЕРА**

Ледащева Т.А.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФОРМЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА.

Пчелина С.Н., Якимовский А.Ф., Емельянов А.К., Иванова О.Н., Усенко
Т.С., Дроздова А.С., Шабалина И.Г., Шварцман А.Л.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И
КЛИНИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ
МИОПАТИЙ Сайкова Л.А., Пустозеров В.Г.**

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИШЕМИЧЕСКОГО
ИНСУЛЬТА Чухловина М.Л.**

**ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНА SCN1A ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКИХ ЭПИЛЕПСИЯХ
Шахтарин В.В., Дрозд О.В., Рогожина Е.М., Айвазян С.О., Бачманова М.С,
Притыко А.Г.**

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА
ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

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

**АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.**

Афанасьев Б.В., Зубаровская Л.С., Станчева Н.В., Семенова Е.В.

**ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ СYP1A1, СYP1B1 И СYP19A1 ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ
МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ**

Бабенко А.С., Синелёв В.А., Свирид А.В., Денчук Л.Н., Боровицкий Д.И.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ПАРАМЕТРОВ
ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У РЕЦИПИЕНТОВ
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

Вавилов В.Н., Акимова А.В., Бархатов И.М., Ширяев С.Н., Афанасьев Б.В.

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
ГЕМОБЛАСТОЗОВ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

Джумагазиева Д.С., Бородулин В.Б., Царёва О.Е.

ПУТИ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ В ХОДЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОНИТОРИНГА МОБ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ АЛЛОТГСК

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

ИССЛЕДОВАНИЕ СОЧЕТАННОЙ ЭКСПРЕССИИ ОНКОПРОТЕИНОВ С-МУС И МР53 ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ НЕХОДЖКИНСКИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЛИМФОМ

Ковынев И.Б., Поспелова Т.И., Скворцова Н.В., Лямкина А.С., Воропаева Е.Н., Березина О.В., Тарновский Р.В.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МУТАЦИЙ ГЕНОВ FLT3 И NPM1 У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ, МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И СМЕШАННЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Мартынкевич И.С., Грицаев С.В., Москаленко М.В., Аксенова В.Ю., Иванова М.П., Мартыненко Л.С., Цыбакова Н.Ю., Абдулкадыров К.М.

МУТАЦИЯ V617F В ГЕНЕ JAK2 У БОЛЬНЫХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Москаленко М.В., Мартынкевич И.С., Аксенова В.Ю., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Цыбакова Н.Ю., Удальева В.Ю., Усачева Е.И., Карягина Е.В., Шнейдер Т.В., Абдулкадыров К.М.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ЧЕРТЫ РЕДКИХ ФОРМ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ

Никитин В.Ю., Сухина И.А., Новицкий А.В., Ширина И.В., Иванов А.М., Вершинина М.Г.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ В ДИАГНОСТИКЕ ХРОНИЧЕСКИХ В-ЛИМФОЦИТАРНЫХ ЛЕЙКОЗОВ/НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ

Новицкий А.В., Сухина И.А., Никитин В.Ю., Иванов А.М., Елисеева М.И.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ И ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Панкратова О.С., Чухловин А.Б., Эйсмонт Ю.А., Ширяев С.Н., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В.

ПЕРЕСТРОЙКИ ГЕНА MLL У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Цаур Г.А., Попов А.М., Наседкина Т.В., Кустанович А.М., Каленник О.В., Ковалев С.Ю., Ригер Т.О., Семенихина Е.Р., Иванова А.С., Яковлева Ю.А., Друй А.Е., Шорилов Е.В., Стренева О.В., Плеханова О.М., Стригалева М.В., Алейникова О.В., Meyer C., Marschalek R., Савельев Л.И., Фечина Л.Г.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ АЛЛЕРГОЛОГИЯ, ПУЛЬМОНОЛОГИЯ

К ВОПРОСУ ОБ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА NOS-1 В ФОРМИРОВАНИИ АТОПИИ У ДЕТЕЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Вахарловская М.В., Петрова М.А., Иващенко Т.Э.

АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ С3435Т ГЕНА МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ (MDR1), R130Q ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 13 (IL13), 590 С/Т IL4 - МАРКЕРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Миронова Ж.А., Трофимов В.И., Дубина М.В., Янчина Е.Д., Симакова М.А., Белаш В.А.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

КАРТИНА АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА У ЖЕНЩИН С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Журавский С.Г., Мазикина Д.А., Золотова Н.Б., Пискунова Н.В., Тараскина А.Е., Пчелина С.Н., Котова С.М.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PRDX5 В ПОПУЛЯЦИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

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

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

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

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА В2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА И ГЕНА В3 СУБЪЕДИНИЦЫ G-БЕЛКА У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И У ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ

Исупова Е.А., Виноградова М.А., Жданова М.В., Кононова О.А., Новик Г.А., Ларионова В.И.

АССОЦИАЦИЯ ГЕНОТИПОВ COLL1A1 С РАЗВИТИЕМ ФИБРОЗА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРОДУОДЕНИТЕ И СОПУТСТВУЮЩИМ КАРИЕСОМ У ДЕТЕЙ

Кузьмина Д.А., Москаленко М.В., Костик М.М., Азанчевская С.В., Сидоркин А.О., Мороз Б.Т., Новикова В.П., Ларионова В.И.

ЭНТЕРОВИРУС, ИНФАРКТ МИОКАРДА И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ

Плоткин В.Я., Тимошина М.А., Азанчевская С.В., Иващенко Т.Э., Хромов-Борисов Н.Н.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА DRD2 С ПОВЕДЕНЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ В ФОРМЕ АЛКОГОЛИЗМА И СОЗАВИСИМОСТИ

Рожнова Т.М., Асанов А.Ю., Аксёнова М.Г.

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ D ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА И COL1A1 У МУЖЧИН С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ОСТЕОПАТИЯМИ

Слозина Н.М., Неронова Е.Г., Трофимова И.В., Саблин О.А.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЙ ПОЛИМОФИЗМА A38G ГЕНА CC16 У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Тихонова В.С., Войтович А.Н., Коростовцев Д.С., Ларионова В.И.

ЧАСТОТА РЕДКИХ АЛЛЕЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С

ОТЯГОЩЕННЫМ СЕМЕЙНЫМ АНАМНЕЗОМ ПО РАННЕМУ РАЗВИТИЮ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ

Хмырова А.П., Войтович А.Н., Богданова М.А., Кононова О.А., Любашева Л.О., Разоренова Т.С., Ларионова В.И.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАССЕЯННОМУ СКЛЕРОЗУ

Хусаинова А.Н., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Заплахова О.В., Бахтиярова К.З., Мустафина О.Е.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

СИНДРОМ НИЙМЕГЕН В УКРАИНЕ

Акопян Г. Р., Макух Г. В., Костюченко Л. В., Маркевич Н. В.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

ЦЕЛИАКИИ

Андрюхина Е.Н., Рославцева Е.А.

НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОГЕНЕЗА МУКОВИСЦИДОЗА

Пухальский А.Л., Шмарина Г.В., Капранов Н.И., Алешкин В.А.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРИ МУТАЦИИ ГЕНА WT 1, ЛОКАЛИЗОВАННОГО НА 11p13

Стрелкова Т.Н., Карпова А.П., Рогова М.В., Зиновьева С.Л.

ВЫЯВЛЕНИЕ МУТАЦИИ R408W У БОЛЬНЫХ С ФЕНИЛКЕТОНУРИЕЙ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Хальчицкий С.Е., Мхеидзе М.О., Никифорова И.Ф., Иванов И.А., Стадник Н.П., Шабанова Е.С.

ГИПЕРФЕНИЛАЛАНИНЕМИИ: ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ДЕФЕКТОВ

Шапошников А.М., Хальчицкий С.Е., Булычева И.А.

МУКОВИСЦИДОЗ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА TNF

Шмарина Г.В., Пухальский А.Л., Алешкин В.А.

ВОПРОСЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ ЛИЗОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАКОПЛЕНИЯ НА ТЕРИТОРИИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

Шорина А.Р.,² Федорук Н.П.,¹ Масленников А.Б.

ОБРАЗОВАНИЕ И ИНТЕГРАЦИЯ

МОДУЛЬНЫЙ ПРИНЦИП ПРЕПОДАВАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ КАК МЕТОД ОПТИМИЗАЦИИ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА Асанов А.Ю., Субботина Т.И.

ОБРАЗОВАНИЕ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ В КУБАНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ Голубцов В.И., Зайцева А.Т., Лазарев К.Ю.
ОПЫТ ПРЕПОДАВАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ В СПБГПМА
Горбунова В.Н., Имянитов Е. Н.

MEDICAL GENETICS EDUCATION: ORGANIZATION MODELS AND EXAMPLES FROM UNDERGRADUATE MEDICAL STUDENTS LEVEL TO CONTINUING MEDICAL EDUCATION (CME)

Coviello Domenico

ОПЫТ СОЗДАНИЯ ЭЛЕКТРОННОГО УЧЕБНОГО ПОСОБИЯ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ И ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МЕДИЦИНЕ

Малиновская Н.А., Салмина А.Б., Михуткина С.В., Болдырев А.А.

ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ – ЕСТЬ ПРОБЛЕМА?!

Мхеидзе М.О.

MEDICAL GENETICS EDUCATION AND TRAINING FOR MEDICAL STUDENTS, GENETIC COUNSELING STUDENTS, AND CLINICAL GENETICS RESIDENTS

Thurston Virginia C.

METHODS FOR INTEGRATING MEDICAL GENOMICS INTO A MEDICAL SCHOOL CURRICULUM

Thurston Virginia C.

ОНКОГЕНЕТИКА

АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Афанасьев Б.В., Зубаровская Л.С., Станчева Н.В., Семенова Е.В.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ IN SITU (FISH) В ДИАГНОСТИКЕ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Васильева З.Ж., Воробцова И.Е., Тимофеев Д.А., Школьник М.И.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКА P73 НА АПОПТОЗ, КАНЦЕРОГЕНЕЗ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ

Виноградская Г.Р., Волницкий А.В., Филатов М.В.

ОЦЕНКА ЗНАЧИМОСТИ ЭКСПРЕССИ ВРСА1 И TOP2A В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА ЖЕЛУДКА

Волков Н.М., Проценко С.А., Суспицын Е.Н.

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МНОЖЕСТВЕННЫХ
ОПУХОЛЕЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА
ЧЕЛОВЕКА**

Вострухина О.А., Штам Т.А., Бутрович Г.М., Ланцов В.А.

**ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ АНАЛИЗА ГЕНЕТИЧЕСКИХ
МУТАЦИЙ КОННЕКСИНА-26 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЖЕЛУДКА**

Мозговой Е.Д.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ, АССОЦИИРОВАННЫЙ С
РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЖЕЛУДКА КИШЕЧНОГО ТИПА**

Новиков Д.Г.

**КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ПУТЕМ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ В ГЕНЕ BRAF И
ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Понур Б.А., Костенко И.Г., Зубкова Т.В., Сильченко С.А.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ В
КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ**

Слозина Н.М., Неронова Е.Г., Трофимова И.В., Саблин О.А.

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИЗАЦИИ IN SITU
В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ**

Травин М.А., Агеева Т.А., Тоцкая Е.Г.

СКРИНИНГ НОВОРОЖДЕННЫХ

MODERN APPROACHES TO NEONATAL SCREENING

Mönch Eberhard G.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

**LARGE SCALE CLINICAL APPLICATION OF QF-PCR FOR RAPID
PRENATAL DIAGNOSIS OF COMMON CHROMOSOME ANEUPLOIDIES**

Cirigliano V., Voglino G., Marongiu A., Ordoñez E., Rueda L., Plaja A., Fuster C.

**NEW DEVELOPMENTS IN PRENATAL
DIAGNOSIS**

Nilsson Mats

**ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА В ПРЕНАТАЛЬНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ**

Погорелова Т.Н., Орлов В.И., Гунько В.О.

**ДИАГНОСТИКА ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ: ПОДХОДЫ, МЕТОДЫ,
РЕЗУЛЬТАТЫ**

Рубцов Н.Б.

**BACS-ON-BEADS™, A NEW TECHNOLOGY FOR RAPID DETECTION OF
FETAL MICRODELETIONS AND ANEUPLOIDIES**

Ruosaari Salla

THE ORIGIN AND DIAGNOSTICS OF COMMON CHROMOSOME DISORDERS

Hulten Maj A.

ПРОБЛЕМЫ МЕТРОЛОГИИ, СЕРТИФИКАЦИИ И СТАНДАРТИЗАЦИИ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

ORGANIZATION AND QUALITY IN THE PROVISION OF MEDICAL GENETIC SERVICES IN EUROPE

Coviello Domenico

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

Rosalind Hastings

РЕПРОДУКТИВНАЯ ГЕНЕТИКА

HUMAN CHIMERA AND TWINS IN CURRENT REPRODUCTIVE CYTOGENETICS

Golubovsky Michael D.

ГЕНЕТИКА ГОНАДНОГО МОЗАИЦИЗМА

Ковалева Н.В.

USING ARRAY-CGH IN PGD FOR CARRIERS OF BALANCED TRANSLOCATIONS

Kremenskoj M.O.

PREIMPLANTATION DIAGNOSIS: PRIMARY PREVENTION OF GENETIC DISORDERS AND STEM CELL THERAPY OF CONGENITAL AND ACQUIRED CONDITIONS WITH NO OTHER AVAILABLE TREATMENT

Kuliev Anver

MEIOTIC ABNORMALITIES IN HUMAN SPERMATOGENESIS

Martin Renée H.

CYTOGENETIC/MOLECULAR APPROACHES TO STUDYING SPONTANEOUS ABORTIONS

Soler Anna

СКРИНИНГ МУТАЦИЙ ГЕНА CFTR ПРИ МУЖСКОМ БЕСПЛОДИИ

Маркова Е.В., Казьмина Н.В., Казанцева О.М., Татару Д.А., Зайцева Т.А., Светлаков А.В.

АНГИОГЕНЕЗ И ПРИВЫЧНОЕ НЕВЫНАШИВАНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Садекова О.Н., Никитина Л.А., Тихончук Е.Ю., Демидова Е.М., Самоходская Л.М.

ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕПАРАТИВНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЧЕЛОВЕКА: ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ β И 3'→5'-ЭКЗОНУКЛЕАЗЫ TREX-2

Белякова Н. В., Легина О. К., Ронжина Н. Л., Шевелев И. В., Крутяков В. М.

THE IMPACT OF WHOLE GENOME TESTING ON LABORATORY SERVICES IN EUROPE

Hastings Rosalind

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ СПОРТИВНОЙ ГЕНЕТИКИ

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ МИОГЕННОГО ФАКТОРА 6 И А-АКТИНИНА-3, И ИХ АССОЦИАЦИЯ С ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ И СТРУКТУРОЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ЧЕЛОВЕКА

Дружевская А.М., Астратенкова И.В.

ОЦЕНКА УЗКОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ И ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ТРЕНИРОВОЧНОГО ПРОЦЕССА У ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПОРТСМЕНОВ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОГРАММ

Егоров В.М., Глотов О.С., Глотов А.С.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В СПОРТЕ - СТРАТЕГИЧЕСКОЕ НАПРАВЛЕНИЕ СПОРТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Лидов П.И.

РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ В ГЕНЕЗЕ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ «СПОРТИВНОГО СЕРДЦА»

Линде Е.В., Ахметов И.И., Орджоникидзе З.Г.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ, И ПИТАНИЕ ЮНЫХ СПОРТСМЕНОВ

Топанова А.А., Гольберг Н.Д.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА А/G ГЕНА МЫШЕЧНОЙ КРЕАТИНКИНАЗЫ (СКММ) С ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТЬЮ СПОРТСМЕНОВ

Федотовская О.Н., Астратенкова И.В.

СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МНОГОМЕРНОЙ СТАТИСТИКИ ПРИ СРАВНИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ДВУХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП

Бражникова Е.А., Дружинин В.Г.

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

Воробьев Н.И.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ КЛАСТЕРНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

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

ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПАСПОРТИЗАЦИИ

Хромов-Борисов Н.Н.

**ВОЗМОЖНОСТИ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ**

РЕАБИЛИТАЦИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Шихлярова А.И., Барсукова Л.П., Марьяновская Г.Я., Шейко Е.А., Коробейникова Е.П., Протасова Т.П.

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО
ТОКСИКОЗА С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ**

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

ДНК-МЕТОДЫ В СУДЕБНОЙ ПРАКТИКЕ

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ В
ПРАКТИКЕ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОГО ЭКСПЕРТА В СЛУЧАЯХ
ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ТУПОЙ ТРАВМЕ**

Березовский Д.П., Корниенко И.В.

ВОПРОСЫ ТЕРМИНОЛОГИИ

**ПРОБЛЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ АДЕКВАТНОЙ
ТЕРМИНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ ГЕНЕТИКЕ**

Шавловский М.М.

ФАРМАКОГЕНЕТИКА

**НОВАЯ МЕТОДИКА ФЕНОТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ
ИНДИВИДУАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450
ЧЕЛОВЕКА**

Филимонова А.А.

ЭПИГЕНЕТИКА И НЕКАНОНИЧЕСКОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ

**ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ АТАКСИЕЙ-
ТЕЛЕАНГИЭКТАЗИЕЙ**

Куранова М.Л., Плескач Н.М., Михельсон В.К., Спивак И.М.

ЭПИГЕНЕТИКА И РЕПРОДУКЦИЯ

ЧЕЛОВЕКА

Лебедев И.Н.

**АНОМАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАРТИНЫ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОМНОЙ
ДНК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ В-КЛЕТОЧНОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ:
ГИБРИДИЗАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ НА ДНК-ЧИПАХ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ
ЗНАЧИМОСТЬ**

*Москалёв Е.А., Воробьёв И.А., Буре И.В., Гладких А.А., Никитин Е.А.,
Beier V., Hoheisel J.D.*

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
МИНИСАТЕЛЛИТА В2VNTR ГЕНА BDKRB2 В НОРМЕ И ПРИ
ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМ.**

*Пищик Е.В., Сучкова И.О., Соловьев К.В., Аленина Н.В., Бадер М., А.С.Глотов,
Баранов В.С., Паткин Е.Л.*

**ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОНКОМАРКЕРЫ ВО ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ДНК КРОВИ:
ОСОБЕННОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В
ОНКОДИАГНОСТИКЕ**

*Рыкова Е.Ю. , Елистратова Е.В. , Скворцова Т.Э., Брызгунова О.Е., Тамкович С.Н. ,
Цветовская Г.А , Чикова Е.Д., Шелестюк П.И., Власов В.В., Лактионов П.П.*

**ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ ГЕНОМНОГО
ИМПРИНТИНГА ПРИ ПАТОЛОГИИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
ЧЕЛОВЕКА**

Саженова Е.А., Лебедев И.Н.

БОЛЕЗНИ ЭКСПАНСИЙ В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)

*Сухомясова А.Л., Максимова Н.Р., Ноговицына А.Н, Назаренко Л.П., Гуринова Е.Е.,
Коротов М.Н., Николаева И.А. , Пузырев В.П.*

**ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС ЭМБРИОНАЛЬНОГО ГЕНОМА ПРИ
ХРОМОСОМНОЙ МОЗАИЦИЗМЕ**

Толмачева Е.Н., Кашеварова А. А., Лебедев И.Н.

**СОЧЕТАНИЕ МУТАЦИЙ ГЕНА p53 И МЕТИЛИРОВАНИЯ MGMT ПРИ
ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ**

*Холодов Б. В., Белохвостов А.С., Шахтарин В.В., Суворова Е.Г., Горичева О.В.,
Абрамов А.А., Зарецкий А.Р., Тарасова Е.М., Горельишев С.К. *, Шишкина Л.В. *,
Притыко А.Г.*

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ПЕРВЫХ РОССИЙСКИХ НАЦИОНАЛЬНЫХ РЕКОМЕНДАЦИЙ ПО ПРОБЛЕМЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ НАРУШЕНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Земцовский Э.В.

ФГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им.
Алмазова Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая
Медицинская Академия 194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Тел/факс: +7 812 275-7344, e-mail: zemtsovsky@mail.ru

Осенью 2009 года были приняты первые Российские рекомендации по проблеме наследственных нарушений соединительной ткани (ННСТ). Сообщение посвящено изложению основных положений, изложенных в этих рекомендациях. Речь, прежде всего, идет о необходимости унификации используемой терминологии для обозначения ННСТ и ознакомлении российской медицинской общественности с общепринятыми в мировой практике подходами к диагностике и тактике ведения таких больных. Для подготовки обсуждаемых рекомендаций по инициативе секции соединительнотканых дисплазий сердца, созданной в 2006 году при ВНОК, был сформирован Комитет Экспертов и Рабочая группа, которые и подготовили Проект Рекомендаций, прошедший впоследствии всестороннее обсуждение и процедуру оценки по протоколу «AGREE». В основу рекомендаций положены согласованные международные критерии диагностики синдромов Марфана(СМ), Элерса-Данло(СЭД) и несовершенного остеогенеза (НО), а также аналитический обзор «Диспластические синдромы и фенотипы», подготовленный нами и вышедший в свет в 2007 году. Реалии отечественного здравоохранения таковы, что практический врач фактически лишен возможности провести современное молекулярно-генетическое исследование и уточнить характер генетического дефекта. В свете сказанного знание врачами первого контакта общепринятых в мировой практике клинических подходов и критериев диагностики моногенных ННСТ приобретает первостепенное значение. Не менее важно и четкое понимание того, что клинические критерии существенно уступают молекулярно-генетическим методам диагностики ННСТ. Именно поэтому Российские рекомендации предполагают, что в случае невыполнения согласованных критериев или неполного соответствия конкретного случая таким критериям, врач будет оперировать понятием «дисплазия соединительной ткани» (ДСТ), понимая под этим термин

нарушения соединительной ткани полигенно-мультифакториального характера, объединенные в синдромы и фенотипы на основе общности клинических проявлений. Экспертами был согласован подход, согласно которому врач не должен оперировать термином ДСТ, не пытаясь раскрыть его, и не обозначив определенный диспластический синдром или фенотип, а в случае невозможности классифицировать диспластический синдром, писать о «неклассифицируемом» диспластическом фенотипе. Авторы рекомендаций отдают себе отчет в необходимости широкой пропаганды разработанных подходов и внедрения их в клиническую практику, без чего невозможно ни дальнейшее научное познание ННСТ, ни успешная организация профилактики и лечения этих состояний.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ НАРУШЕНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА. ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ

Кадурина Т.И.¹, Горбунова В.Н.²

¹ Медицинская академия последипломного образования

193 015 Санкт-Петербург, улица Кирочная, 41

Тел/факс (812)3035094, e-mail: tikadurina@mail.ru

² Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая Медицинская Академия

194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

Тел/факс: +7 812 245 0448, e-mail: vngor@mail.ru

Обсуждается этиология наследственных нарушений соединительной ткани (ННСТ), в основе которой лежат: (1) генетические дефекты белков внеклеточного матрикса (коллагены, протеогликаны, белки эластических волокон, гликопротеины, структурные белки) и ферментов их биосинтеза, а также белков (2), участвующих в регуляции морфогенеза соединительной ткани (трансформирующие и фибробластные факторы роста, их рецепторы и антогонисты, транскрипционные факторы). Авторами проанализированы более 250 моногенных заболеваний, обусловленных наследственными дефектами перечисленных выше групп белков. Установлено, что для многих ННСТ характерны клинический полиморфизм и генетическая гетерогенность, обусловленные двумя особенностями наследования: (1) существованием аллельных серий (45%), когда разные мутации в одном и том же гене приводят к клинически различающимся заболеваниям и (2) возможностью развития клинически сходных заболеваний при повреждении разных генов (10%). Представлена общая клинико-инструментальная характеристика ННСТ. Проанализированы частота поражения

отдельных «органов-мишеней» и систем, а также их сочетаний при ННСТ. Авторы полагают, что результаты данного анализа имеют важную практическую значимость. Предполагается, что в самое ближайшее время возможно значительное расширение списка мутантных генов и специфических мутаций, ассоциированных с ННСТ. Дается информация о современном состоянии молекулярной диагностики наследственных заболеваний соединительной ткани. Обсуждаются сложности молекулярной и биохимической диагностики ННСТ в нашей стране и за рубежом, которые во многом определяются их клиническим полиморфизмом и генетической гетерогенностью, уникальным характером большинства идентифицируемых мутаций и др. Указывается на необходимость начала работы по созданию национальных регистров и банков ДНК больных с ННСТ в Российской Федерации. Доклад иллюстрирован рисунками и фотографиями больных с ННСТ из личного архива авторов.

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ АГРЕССИВНОГО
ПАРОДОНТИТА** Кадурина Т.И., Цимбалистов А.В., Шторина Г.Б.,
Нацелишвили Т.Т.

Медицинская академия последипломного образования
193015 Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41
E-mail: tea-dent@hotmail.com

Выделяют две формы пародонтита: хронический и агрессивный. В отличие от хронического генерализованного пародонтита, агрессивными формами пародонтита (АП) в основном страдают молодые (от 17 до 35 лет), практически здоровые люди, у которых наблюдается высокая скорость прогрессирования (1,08-1,8 мм в год) заболевания. Выделяют две формы АП – локализованную и генерализованную.

Данные литературы свидетельствуют о сегрегации локализованной формы АП в семьях пробандов. Однако результаты клинико-генеалогических исследований противоречивы. Ряд исследователей считают, что данная патология передается как X-сцепленный доминантный признак, другие предполагают аутосомно-рецессивный или аутосомно-доминантный с неполной пенетрантностью типы наследования. В то же время имеются данные, свидетельствующие в пользу мультифакторной природы заболевания. Так, описаны полиморфизмы разных генов (IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, FNO-a, VDR, COL4A1, COL1A1, FcγRIIIb-NA1 и др.), ассоциированных с развитием АП, что противоречит данным других исследователей, отрицающим указанную связь.

Данные литературы о распространенности, генетическом полиморфизме и патогенезе генерализованного АП практически отсутствуют, что обусловлено, с одной

стороны, клиническим полиморфизмом (выделяют - генерализованный ювенильный и быстро прогрессирующий пародонтит), а с другой - недостаточностью исследований.

В настоящее время под нашим наблюдением находятся 20 пациентов (13 женского и 7 мужского пола) в возрасте от 20 до 35 лет с диагнозом генерализованный АП. Проведено анкетирование, анализ анамнестических, клинико-генеалогических, рентгенологических и молекулярно-бактериологических (PCR Real-Time) данных. Предварительные результаты свидетельствуют о генетической гетерогенности данной формы АП. Так, сегрегация и указание на аутосомно-доминантный тип наследования заболевания выявлены только в половине семей, а в остальных получены данные в пользу мультифакторной природы патологии. Запланированы молекулярно-генетическое исследования для выявления частоты генотипов и аллелей полиморфных маркеров ряда генов, ассоциированных с состоянием клеточного иммунитета, микробного пейзажа и метаболизма костной ткани у больных с генерализованным АП.

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

РОЛЬ МОДИФИКАЦИИ ЭКСПРЕССИИ mTOR В МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Анисимов В.Н., Забежинский М.А., Попович И.Г., Егормин П.А., Пискунова Т.С., Семенченко А.В., Тындык М.Л., Юрова М.Н.

НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий
197758 Песочный-2, Санкт-Петербург Тел.: (812) 596-
6539; e-mail: aging@mail.ru

Протеин-киназа мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) является ключевым звеном в контроле клеточного старения и старения организма в целом. Угнетение экспрессии mTOR, наблюдаемое при ограничении калорийности питания (ОКП), воздействии метформина или рапамицина может приводить к увеличению продолжительности жизни (ПЖ), торможению развития новообразований и других ассоциированных с возрастом заболеваний. Нами было изучено влияние антидиабетических бигуанидов на ПЖ и развитие опухолей у грызунов. Под влиянием буформина на 9% увеличивалась средняя ПЖ крыс, замедлялось старение эстральной функции и в 1,6 раза снизилась частота развития опухолей. Фенформин на 3 мес увеличивал максимальную ПЖ и в 1,3 раза снижал частоту опухолей у крыс, а у мышей

СЗН/Sp, увеличил на 21%, среднюю и на 26% максимальную ПЖ, в 4 раза уменьшилась частота опухолей. Под влиянием метформина и рапамицина увеличивалась средняя ПЖ, наблюдалось отчетливое замедление развития аденокарцином молочной железы у трансгенных мышей HER-2/neu. У мышей SHR введение метформина сдвигало вправо кривую выживаемости, на 38% увеличивало среднюю ПЖ и на 10% - максимальную ПЖ. Показано, что метформин оказывает влияние на активность тех же генов, экспрессия которых изменяется при ОКП, прежде всего генов, регулирующих метаболизм ксенобиотиков, клеточный стресс, энергетический обмен, биосинтез, передачу сигналов и цитоскелет. Имеющиеся данные позволяют рассматривать применение метформина в качестве перспективного геропротектора. В клинических наблюдениях показано, что применение метформина снижает риск развития рака, снижает более, чем на треть общую смертность, смертность от инфарктов миокарда и осложнений сахарного диабета 2-го типа.

ВОЗМОЖНОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

ЭНДОМЕТРИЯ

Иванов Д.В.², Хадарцев А.А.¹, Хадарцев В.А.², Станков Д.С.², Субботина Т.И.¹, Сабурова И.Н.³, Кошелева Н.В.³, Горкун А.А.³

¹ ГОУ ВПО «Тульский Государственный Университет», Тула

² ГУП ТО «Научно-исследовательский институт новых медицинских технологий», Тула

³ НИИ ОПП РАМН, Москва

Тел.: +7(4872)332209, e-mail: Doctor_Ivanov@inbox.ru;

В данной работе исследовали свойства эндометриальных стволовых клеток к различным видам дифференцировки в специализированные клетки. Анализ образцов проводили при помощи проточного цитометра FACScalibur (BD Biosciences) с программным обеспечением CellQuest.

Фенотип популяции СКЭ не изменился в процессе культивирования после 2,4 и 8 пассажей и оставался стабильным на всех пассажах. Фенотип популяции СКЭ был определен как CD11b⁻, CD14⁻, CD34⁻, CD45⁻, CD44⁺, CD79⁺, CD90⁺, CD105⁺.

В результате работ были получены убедительные данные о выраженной дифференцировке стволовых клеток эндометрия в адипогенном, остеогенном, миогенном и, в частности, кардиомиогенном направлении. Эти данные свидетельствуют о высоком дифференцировочном потенциале стволовых клеток эндометрия.

Применяя методику иммуноцитохимического окрашивания с использованием антител, определяли наличие нестина, виментина, гладкомышечного альфа актина в колониях стволовых клеток эндометрия до 8 пассажа. Полученные результаты говорят о высокой экспрессии данных белков, что свидетельствует о направленной дифференцировке стволовых клеток эндометрия в кардиомиогенном направлении и сохранении потенциала клеток.

Наличие анеуплоидий проверяли методом сравнительной геномной гибридизации. Результаты компьютерного анализа реакции гибридизации тестируемой и контрольной ДНК с хромосомами метафазной пластинки периферийных лимфоцитов исключили возникновение числового нарушения хромосом в исследуемом образце.

Работа выполнена по госконтракту № 02.512.12.2058 от 22.05.2009 г.

КЛИНИЧЕСКИЕ, БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ МИНЕРАЛИЗАЦИИ СКЕЛЕТА

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ОСТЕОПОРОЗА КАК МИШЕНИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

***Фаламеева О.В., Графов А.В., Храпова Ю.В., Куляев Е.А., Рзаев М.М.,
Верхотурова В.Т., Плотникова И.В., Садовой М.А.***

ФГУ НИИ травматологии и ортопедии Росмедтехнологий
Новосибирск, Россия

В течение последних лет остеопороз рассматривается как одна из проблем медицины, имеющих важное социально-экономическое значение. Несмотря на то, что молекулярно-генетические механизмы нарушений накопления и потери костной плотности в разные возрастные периоды в настоящее время изучаются достаточно широко, многие процессы изучены недостаточно. Анализ данных литературы показывает достоверные ассоциации с кандидатными генами, участвующими в процессах костного метаболизма, в различных выборках пациентов с остеопорозом.

Целью настоящей работы являлось изучение роли генов-кандидатов в формировании генетической предрасположенности к остеопорозу у лиц обоего пола и оценка их связи с показателями МПК и переломами разной локализации.

В работе проанализирован вклад полиморфизма генов рецептора эстрогена (ЕК), $\alpha 1$ -цепи коллагена 1 типа (COL1A1), рецептора аполипопротеина E (ApoE),

трансформирующего фактора роста (TGF), рецептора чувствительности к кальцию (CASR), семейства генов, необходимых для нормального роста кости - CCN (WISP1, WISP2, WISP3), гена TNFRSF11B, кодирующего синтез рецептора остеопротегерина (OPG), гена TNFRSF11, ответственного за синтез белка RANKL, гена TNFRSF11A, кодирующего синтез самого рецептора RANKL, гена рецептора кальцитонина (CTR) у 300 жителей Новосибирска обоего пола в возрасте от 50 до 75 лет. Определены ассоциации показателей относительного риска переломов у больных с аллельными полиморфизмами кандидатных генов и установлены их межгенные взаимодействия.

Таким образом, разработка новых отечественных конкурентоспособных на мировом рынке препаратов для лечения остеопороза на основе использования молекулярных мишеней весьма актуальна в настоящее время.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ МУТАГЕННОГО ЭФФЕКТА КСЕНОБИОТИКОВ

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ XRCC1 И XRCC3 НА УРОВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У РАБОЧИХ УРАНОДОБЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Васильева З.Ж.¹, Берсимбаев Р.И.³, Бекманов Б.О.³, Ау У.⁴

¹ Российский Научный Центр Радиологии и Хирургических Технологий
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи,
Санкт-Петербург, e-mail: radgenetika@mail.ru

² Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Астана, Казахстан

³ ДГП Институт общей генетики и цитологии РГП ЦБИ КН МОН РК, Алматы,
Казахстан

⁴ Техасский университет, Галвестон, США

Важной особенностью клетки является ее способность воссоединять случайные разрывы ДНК за счет системы репарации. Белки, кодируемые генами *XRCC1* и *XRCC3*, являются важными регуляторами системы репарации ДНК, поврежденных в результате ионизирующей радиации и воздействия алкилирующих агентов. Одним из факторов влияющих на репарационные процессы в клетке, является полиморфизм генов *XRCC1* и *XRCC3*. При радиационном воздействии полиморфизм генов *XRCC1* и *XRCC3* влияет на активность системы репарации, приводя к увеличению частоты хромосомных нарушений. В работе изучена ассоциация полиморфизма генов *XRCC1* (Arg 399 Gln) и *XRCC3* (Thr 241 Meth) с уровнем цитогенетических нарушений у рабочих Целинного

горно-металлургического завода (г. Степногорск, Казахстан). Проанализированы аллельные варианты гена *XRCC1* и выявлено следующее распределение среди выборки из 100 рабочих: G/G – 15%; A/A – 35%; G/A – 50%. Увеличение частоты хромосомных aberrаций наблюдалось у носителей гомозигот по дикому аллелю G/G, составляя величину $2,66 \pm 0,29$. Более низкий уровень цитогенетических нарушений был выявлен у носителей генотипа A/A, составляя $2,01 \pm 0,16$. Анализ распределения вариантов генотипа *XRCC3* у рабочих показал, что 52% составляли лица, имеющие гетерозиготный генотип T/M, 39% - T/T и 9% - M/M. У гетерозиготных носителей T/M уровень хромосомных нарушений был ниже, чем у гомозиготных, составляя $1,81 \pm 0,13$, по сравнению с $2,65 \pm 0,18$ у T/T и с $2,88 \pm 0,40$ у M/M.

***КОМЕТНЫЙ АНАЛИЗ ДНК В ОЦЕНКЕ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ЭФФЕКТОВ
ЭКЗОГЕННЫХ ТОКСИКАНТОВ НА УРОВНЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК***

Ващенко А.А., Зайцев В.Г., Меклеева Б.В., Островский О.В.

Волгоградский государственный медицинский
университет 400131 Волгоград, пл. Павших Борцов, 1 Тел.
(8442)385363, e-mail: alexa-1808@yandex.ru

В настоящее время актуальной проблемой является повышение уровня загрязнения окружающей среды генотоксическими веществами. Особую сложность составляет оценка действия этих веществ в концентрациях, не превышающих допустимый уровень, но способных при длительном воздействии оказывать ДНК-повреждающее действие. Важным является оценка повреждения ДНК индивидуальных клеток.

Цель исследования состоит в установлении возможности использования кометного анализа для определения повреждения ДНК экзогенными токсикантами.

Как геохимические процессы, так промышленное загрязнение приводит к накоплению соединений мышьяка (значимых токсикантов). Мы исследовали кратковременное (30 минут) и длительное (24 часа) воздействие арсенита натрия (Na_3AsO_3) на клетки цельной крови человека. Число клеток с поврежденной ДНК (КПД) оценивалось с использованием щелочного варианта метода ДНК-комет [1]. Так как одним из механизмов действия Na_3AsO_3 является индукция окислительного стресса, полученные данные сравнивались с аналогичными эффектами под действием H_2O_2 .

Na_3AsO_3 вызывает увеличение доли КПД. При более длительном воздействии доля КПД возрастает. Эффект Na_3AsO_3 слабее, чем действие H_2O_2 в тех же условиях.

Обнаружено, что увеличение доли КПД после обработки Na_3AsO_3 интактных клеток больше, чем при обработке им же клеток, подвергшихся действию H_2O_2 , т.е. эффекты Na_3AsO_3 и H_2O_2 частично аддитивны. ДНК-повреждающий эффект мышьяка лишь отчасти можно объяснить индукцией окислительного стресса. Все указанные выше различия были значимыми ($p < 0,0001$).

Таким образом, применение данного подхода позволяет оценивать чувствительность индивидуальных клеток к ДНК-повреждающему действию экзогенных токсикантов.

1. Singh N.P., et al. Mutat Res 1991; 256:1–6.

РОЛЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОЦЕНКЕ ОТДАЛЁННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ЧЕЛОВЕКА.

Воробцова И.Е., Семёнов А.В., Васильева З.Ж.

ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»

197758, Санкт-Петербург, Песочный, Ленинградская ул., 70

Тел.: +7-812-596-8779, факс: +7-812-596-6705, e-mail: radgenetika@mail.ru

В настоящее время ионизирующее излучение стало глобальным экологическим фактором. Оно воздействует на человека в низких дозах, что затрудняет оценку риска отдалённых медико-биологических последствий с помощью эпидемиологических наблюдений. Изучение радиационных нарушений в клетках позволяет понять начальные этапы развития отдалённой лучевой патологии. С 1986 г. нами обследуются ликвидаторы последствий аварии на ЧАЭС и их дети; лица, эвакуированные с радиационно загрязнённых территорий; так называемые «ветераны подразделений особого риска», рабочие уранового производства и контрольные доноры. Всего обследовано около 1000 человек в возрасте от 3 до 75 лет. Проведено многопараметровое обследование этих групп: по частоте нестабильных и стабильных (FISH-метод) хромосомных aberrаций (ХА), микроядер, GРА- и НРРТ-мутаций, стабильности генома лимфоцитов, при облучении *in vitro*. Экспонированные группы характеризовались: повышенным уровнем генетических повреждений, хромосомной нестабильностью, ускоренным возрастным накоплением стабильных ХА. Показана связь между полиморфизмом по генам GSTM и GSTT и уровнем ХА. Частота ХА положительно коррелировала с риском развития сердечно-сосудистых и желудочно-кишечных заболеваний. Т.о., частота ХА может служить прогностическим признаком

развития некоторых видов соматической патологии и являться показателем биологического возраста.

Для биологической реконструкции поглощённой человеком дозы обычно используется калибровочные кривые доза-частота ХА, полученные при облучении лимфоцитов *in vitro*. На онкологических пациентах, подвергавшихся общему облучению в диапазоне доз от 10 до 100 сГр (облучение лимфоцитов *in vivo*). Показана меньшая эффективность облучения лимфоцитов *in vivo* по сравнению с их облучением *in vitro*, т.е., при реконструкции доз по *in vitro* калибровочной кривой реальная доза оказывается заниженной.

Прямыми повреждениями ДНК трудно объяснить все наблюдаемые радиационные эффекты, особенно нестохастические. На совместной культуре лимфоцитов разнополых доноров показано существование радиационно индуцированного «эффекта свидетеля», т.е. возможность передачи «сигналов повреждения» от облучённых клеток к необлучённым.

***ОПОСРЕДОВАННЫЙ АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ, ВЫЯВЛЯЕМЫЙ ПРИ
СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ЛИМФОЦИТОВ РАЗНОПОЛЫХ
ДОНОРОВ***

Колесникова И.С., Воробцова И.Е.

РНЦРХТ Росмедтехнологий Санкт-Петербург, п.
Песочный, Ленинградское ш., д.70 Тел.: (812) 596-6779,
e-mail: radgenetika@mail.ru

Принято считать, что причиной различных биологических последствий действия ионизирующих излучений является повреждение молекул ДНК. Однако поскольку только мишенным механизмом не всегда можно объяснить наблюдаемые радиационные эффекты, появилось предположение о возможности возникновения повреждений в необлучённых клетках, соседствующих с облучёнными, по механизму «эффекта свидетеля».

Мы исследовали «эффект свидетеля» в совместных культурах лимфоцитов разнополых доноров по развитию адаптивного ответа (АО) в необлучённых клетках донора одного пола при адаптирующем радиационном воздействии на лимфоциты донора противоположного пола. Эксперименты проводили при двух временных схемах адаптирующего и повреждающего воздействий: G_0-G_1 и G_1-G_1 . Лимфоциты мужского/женского донора облучали в адаптирующей дозе 0.05 Гр до стимуляции ФГА

(G₀) либо через 24 часа после начала культивирования (G₁). Через 5 часов совместного культивирования с неадаптированными лимфоцитами донора противоположного пола (т.е. на стадии G₁) культуры облучали в повреждающей дозе 1 Гр. Параллельно в соответствующие сроки совместные культуры лимфоцитов облучали только в дозе 1 Гр. На метафазных препаратах учитывали хромосомные aberrации отдельно в мужских и женских лимфоцитах. Полученные результаты свидетельствуют о развитии опосредованного АО («эффект свидетеля») в лимфоцитах доноров, культивированных совместно с предоблучёнными в дозе 0.05 Гр лимфоцитами доноров противоположного пола, а также о влиянии на его выраженность временной схемы адаптирующего и повреждающего воздействий. Таким образом, предлагаемый метод совместного культивирования лимфоцитов разнополых доноров позволяет обнаружить радиационно индуцированный «эффект свидетеля» на примере развития опосредованного АО.

ЧАСТОТА МУТАЦИЙ В ГЕНЕ TP53 И ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОБЛУЧЕНИИ ЧЕЛОВЕКА

Площанская О.Г., Веремеева Г.А., Почухайлова Т.Н., Блинова Е.А., Аклеев А.В.

ФГУН Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА РФ
454076 Челябинск, ул. Воровского 68а Тел.:
3512-32-79-26, e-mail: mgk@urcrm.chel.su

У жителей прибрежных сёл р. Теча Исследована частота мутаций в гене Tr53 и оценены особенности внутриклеточных процессов, направленных на защиту клетки от повреждения и организма в целом от пролиферации генетически дефектных клеток (контроль клеточного цикла, апоптоз). Исследована группа лиц (151 человек), подвергшихся хроническому облучению в результате производственной деятельности ПО «Маяк» (Южный Урал, Россия). Облучение в данной популяции носило двухкомпонентный характер: внешнее γ - и внутреннее, в основном за счёт ⁹⁰Sr. Мощность дозы облучения достигала 3.0 Гр/год в первые годы воздействия, экспоненциально снижаясь со временем. Средняя накопленная доза облучения составила 0.99 Гр (от 0,01 Гр до 9.1 Гр). Группа сравнения включала 69 человек, не подвергавшихся облучению, соответствующего возраста, пола, этнической принадлежности.

Проводился анализ мутаций в 5,6, 7 и 8 экзонах гена Tr53 (метод SSCP анализа). Выявлено повышение частоты мутаций в группе лиц, подвергшихся облучению по сравнению с необлучённым контролем (15,6% против 1.4%, p<0.05). Сохранение

мутантного генотипа определяется эффективностью функционирования множества внутриклеточных систем, значительное место среди которых занимает апоптоз и контроль клеточного цикла. Отмечена достоверно более высокая интенсивность апоптоза (0.38 ± 0.04 , $p=0.01$) у облучённых людей против 0.22 ± 0.05 в контроле. Выявлено так же, что у облучённых людей, количество клеток (метод TUNEL), находящихся в задержке цикла на G1/S фазе (по содержанию Chk-2) увеличено в сравнении с необлучёнными лицами (0.8 ± 0.1 , против 0.36 ± 0.07 , $p=0.001$). Исходный уровень клеток, находящихся в продвижении по клеточному циклу, оцененный по содержанию Ki-67, у облучённых людей достоверно не отличается от необлучённых лиц, однако стимуляция к делению с последующей 24-часовой инкубацией *in vitro* позволяет выявить тенденцию к увеличению частоты Ki-67 позитивных лимфоцитов по сравнению с контролем (11.36 ± 1.05 против 7.63 ± 1.6 , $p=0.07$).

Таким образом, молекулярно-клеточные исследования в группе хронически облучённых людей позволяют сделать заключение об активации механизмов внутриклеточной защиты от повреждения генетического материала. Вместе с тем сохраняется повышенный уровень мутаций в гене Trp53, что свидетельствует о высокой интенсивности мутационных процессов и недостаточной эффективности защитных механизмов.

***ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ
РАДИАЦИИ Тимошевский В.А., Лебедев И.Н., Васильев С.А.***

Научно-исследовательский институт медицинской генетики
СО РАМН Томск, Набережная р. Ушайки, д. 10
Тел.: +7 (3822) 51-3146, e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

Исследование закономерностей возникновения хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови широко используется для определения характера мутационного процесса в соматических клетках человека. Особый интерес представляет спектр и частота хромосомных нарушений, индуцированных ионизирующей радиацией у работников радиохимического производства. Для определения характера и степени радиационного влияния традиционно используется метод учета хромосомных aberrаций, являющихся общепризнанным маркером такого рода мутагенных воздействий. Однако не следует исключать из внимания и числовые хромосомные нарушения, которые также обладают большим мутагенным потенциалом. Для регистрации изменений числа хромосом возможно использование как

интерфазного FISH-анализа с применением центромероспецифичных ДНК-зондов, так и более информативного подхода, связанного с анализом двухъядерных цитокинез-блокированных лимфоцитов. С использованием данных технологий нами был продемонстрирован анеугенный эффект как внешнего гамма-облучения (Назаренко, Тимошевский, 2005), так и внутреннего альфа-воздействия инкорпорированного плутония-239. Радиационно-индуцированный анеугенез может быть связан с повреждением различных механизмов, контролирующих процессы сегрегации хромосом. Кроме того, не исключено, что в процессы анеугенеза могут вовлекаться преимущественно перестроенные хромосомы. Действительно, сравнительный анализ результатов стандартного метафазного исследования и показателей интерфазного молекулярно-цитогенетического теста позволил выявить значимые корреляционные отношения между некоторыми типами структурных и числовых хромосомных нарушений. При этом наиболее сильная связь с аномалиями «цитомы» наблюдалась для aberrаций хромосомного типа – маркеров воздействия плотно-ионизирующего излучения. Таким образом, применение интерфазного FISH-анализа позволяет расширить спектр регистрируемых хромосомных нарушений и детализировать клатогенный и анеугенный компоненты воздействия ионизирующей радиации.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ТРОМБОЗОВ

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ТРОМБОЗАМИ, У БОЛЬНЫХ С ОТЯГОЩЕННЫМ

АНАМНЕЗОМ Бердюгина О.В.

Государственное учреждение здравоохранения
«Свердловская областная клиническая больница №1»
620102 Екатеринбург, ул. Волгоградская, 185 Тел.: +7-
904-988-43-82, e-mail: berolga73@rambler.ru

Известно, что существует генетическая предрасположенность индивидуума к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе тромбозам. Установленным фактом является наследственная патология «ранних», рецидивирующих и нетипично локализованных тромбозов.

Целью данного исследования стало изучение генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии у больных с отягощенным анамнезом.

Материал и методы. Генетические полиморфизмы, ассоциированных с риском развития тромбофилии (FGB –455, F2 20210, F5 1691, SERPINE1 -675, ITGA2, ITGB3 1565), изучали у больных с отягощенным анамнезом: наличием тромбоза глубоких вен, ишемического инсульта, присутствием тромботических проявлений у родственников первой линии в возрасте до 50 лет. Выделение ДНК проводили колоночным методом (реагенты фирмы «Protrans», Германия), амплификацию осуществляли с использованием наборов фирмы «ДНК-технология», Россия.

Результаты. Из 16 обследованных пациентов полиморфизмы, ассоциированные с риском развития тромбофилии, были выявлены у 15 больных. Из них ген FGB –455 G >A был обнаружен у 6 больных, т.е. в 38% случаев, ген F2 20210 G>A не был выявлен ни разу, ген F5 (Лейденовская мутация) 1691 G>A обнаружен у 1 больного, ген ингибитора активатора плазминогена SERPINE1 -675 4G/5G был обнаружен у 13 больных, т.е. в 81% случаев. Гены тромбоцитарного звена гемостаза обнаружены у 16 пациентов: ген ITGA2 807 C/T у 11 больных, т.е. в 69% случаев и у 5 больных ген ITGB3 1565 T>C, т.е. в 31% случаев.

Выявлены следующие сочетания полиморфизмов: 2 полиморфизма – у трех больных (19%), 3 полиморфизма – у 7 больных (44%) и 4 полиморфизма – у 4 больных (25% пациентов).

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать вывод о необходимости дальнейшего изучения полиморфизмов в группе риска для определения прогностических возможностей их использования в клинической практике.

**СОВМЕСТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПО РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ МЕТОДОВ
ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У
БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН РОССИИ И УКРАИНЫ С ГЕНЕТИЧЕСКИ
ОБУСЛОВЛЕННЫМИ ФОРМАМИ ТРОМБОФИЛИИ Глотов А.С., Вашукова Е.С.,
Канаева М.Д., Бикмуллина Д.Р., Зайнулина М.С., *Татарский П.С., *Лившиц Л.А.,
Баранов В.С.**

НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН
Телефон/факс: (812) 328-02-62, e-mail: anglotov@mail.ru
199034 Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 2
*Институт молекулярной биологии и генетики НАН
Украины 03680 Украина, Киев-680, ул. Заболотного, 150

В настоящей работе проведено исследование ассоциации генетически обусловленных форм тромбофилии с развитием гестоза у женщин России и Украины

по сравнению с беременными женщинами без осложнений. В исследования были включены следующие маркеры: мутации в гене фактора 5 (Лейден, *F5* 1691G>A), протромбина (*F2* 20210G>A), полиморфизмом генов фактора 7 (*F7* 10976G>A), ингибитора активатора плазминогена 1 типа (*PAI1* -6755G/4G), фибриногена (*FGB* -455G>A), гликопротеинов GP3a (*GP3a* 1565T>C), GPIa (*GPIa* 807C>T) и метилентетрагидрофолат редуктазы (*MTHFR* 677C>T). При предварительном анализе результатов исследования (ассоциация 1 ген – 1 признак) показано, что только для Российской популяционной группы были обнаружены статистически значимые отличия между изучаемыми группами женщин с гестозом и беременных без осложнений по частотам генотипов гена *PAI1* (-675 5G/4G) и генотипов гена *MTHFR* (677C>T). Таким образом, показано, что изучение генетических маркеров наследственной тромбофилии имеет значение для выявления риска развития гестоза в России и требует дальнейшего изучения и более взвешенного оценки вклада для Украины.

Список литературы

Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Антифосфолипидный синдром, генетические тромбофилии в патогенезе основных форм акушерской патологии // РМЖ. – 2006. – Специальный выпуск. – с. 2-11.

Глотов А.С., Вашукова Е.С., Полушкина Л.Б., Потулова С.В., Глотов О.С., Иващенко Т.Э., Гра О.А., Наседкина Т.В., Аверьянова Н.С., Березнева Н.А., Пинелис В.Г., Баранов В.С. Диагностика наследственно обусловленных заболеваний у детей с помощью ДНК-микрочиповой технологии // Вопросы диагностики в педиатрии. 2009. Т. 1. №. 1. С. 14-17.

Работа выполнена при поддержке Государственного контракта Федерального агентства по науке и инновациям № 02.512.11.2275.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ КАРДИОЛОГИЯ

СОЧЕТАННОЕ ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ТРАДИЦИОННЫХ ФАКТОРОВ РИСКА НА РАЗВИТИЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

*Андреевко Е.Ю.,¹ Балацкий А.В.,¹ Макаревич П.И.,²
Самоходская Л.М.,² Бойцов С.А.¹*

¹ Российский кардиологический научно-производственный комплекс
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи
121552 Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а
E-mail: info@cardioweb.ru.

² Факультет фундаментальной медицины Московского государственного
университета имени М.В.Ломоносова,
119192 Москва, Ломоносовский пр., д. 31, к. 5
E-mail: info@fbm.msu.ru

Актуальность: Важный вклад в раннее развитие ИБС вносят генетически обусловленные вариации активности белков, вовлеченных в процесс атеросклероза и его осложнений. Согласно последним данным, ключевую роль в развитии ИБС играет комбинация наследственной предрасположенности и факторов риска, не связанных с генетическим профилем больного.

Цель исследования: Определить клиническую значимость носительства аллельных вариантов генов факторов свертывания крови (полиморфизм С807Т гликопротеина Ia, PLA1/PLA2 гликопротеина IIIa, 4G/5G ингибитора активатора плазминогена 1 типа, V34L гена фактора XIII и R353Q гена фактора VII свертывания крови) и факторов, влияющих на функцию эндотелия сосудов (полиморфизм С677Т метилентетрогидрофолатредуктазы, G894Т эндотелиальной NO- синтазы, С242Т р22 рhox субъединицы NADH-оксидазы, G-174С интерлейкина-6 и С1019Т коннексина 37), и их сочетание с негенетическими факторами риска в раннем развитии ИБС, в том числе инфаркта миокарда (ИМ).

Материалы и методы: Исследованы 977 мужчин в возрасте от 20 до 55 лет, из них: 375 больных ИБС, в том числе: 186 - без ИМ, 189 - с ИМ в анамнезе и 602 человека без сердечно-сосудистых заболеваний. Для идентификации полиморфизмов использовали метод ПЦР.

Результаты: С повышенным риском формирования ИБС ассоциировались генотип ТТ гена GPIa (OR=10,2) и генотип ТТ гена NO-синтазы (OR=5,5). С повышенным риском развития ИМ ассоциировались ТТ генотип MTHFR (OR=2,1) и ТТ генотип коннексина 37 (OR=5,3), независимо от традиционных факторов риска. С уменьшением риска развития ИБС ассоциировались генотип LL FXIII (OR=0,48) и генотип QQ FVII свертывания крови (OR=0,12), а сочетание L-аллеля гена FXIII с Q аллелем FVII ассоциировалось с уменьшением риска развития ИМ как осложнения ИБС (OR=0,33). С повышенным риском развития ИМ у больных ИБС ассоциировались сочетания PLA2/PLA2 генотипа GPIIb с гиперхолестеринемией (OR=6,0), ТТ генотипа MTHFR с артериальной гипертонией (OR=2,8) и курением (OR=2,7) и CC генотипа IL6 с гиперхолестеринемией и курением (OR=8,0).

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА КОННЕКСИНА-37 В РАЗВИТИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Балацкий А.В., Андреев Е.Ю., Самоходская Л.М., Бойцов С.А.

Государственное учебно-научное учреждение Факультет фундаментальной
медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова
Москва, Ломоносовский проспект, д.31, корп.5
Тел.: (495) 932-9904. E-mail: balatsky@fbm.msu.ru

Одним из широко обсуждаемых факторов риска ишемической болезни сердца (ИБС) является полиморфизм гена коннексина-37 – белка, участвующего в образовании щелевых контактов и опосредующего взаимодействия между эндотелием и гладкомышечными клетками. Замена С на Т в положении гена 1019 приводит к замене пролина на серин в кодоне 319 аминокислотной последовательности. Это ведёт к уменьшению взаимодействий между эндотелиальными и гладкомышечными клетками, способствуя пролиферации гладкомышечных клеток сосудов.

Цель исследования: Поиск ассоциации полиморфизма гена коннексина-37 с ранним развитием ИБС в российской популяции.

Материалы и методы: Обследованы 375 больных ИБС, из которых 189 человек имели в анамнезе инфаркт миокарда (ИМ), и 483 донора крови (контрольная группа). Для определения полиморфизма использовали ПЦР.

Результаты: у больных ИБС чаще, чем в контрольной группе, обнаруживался генотип ТТ (23,7 и 13,7%, соответственно; $p=0,004$, OR=2) и аллель Т (44,4 и 36,1%, соответственно; $p=0,006$, OR=1,4). В группе больных ИБС, перенесших ИМ, было больше носителей генотипа ТТ, чем у больных ИБС без ИМ (36,14 и 9,6%,

соответственно; $p=0,0001$, $OR=5,3$) и аллели Т (55,4 и 31,8% , соответственно; $p=0,0001$, $OR=2,7$). При сравнении больных ИБС без ИМ с контрольной группой отличий не выявлено. В группе больных, у которых ИМ развился без предшествующей ИБС (80,5% случаев), чаще, по сравнению с пациентами, имевшими ИБС до развития ИМ, обнаруживались аллель Т (59,8% против 35,9%, $p=0,0009$) и генотип ТТ (42,4% против 9,4%, $p=0,001$). У 94,9% носителей генотипа ТТ ИМ являлся дебютом ИБС.

Заключение: мутация гена коннексина-37 повышает риск развития ИМ, не являясь фактором риска развития хронической ИБС.

ГАПЛОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА *CCL2* У

БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

***Белоногова В.А., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Карамова И.М. *,
Мустафина О.Е.***

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН
450054, Уфа, ул.пр.Октября,71
E-mail: valery259@mail.ru

* ГУЗ Республиканский кардиологический диспансер
450106 Уфа, ул. Ст. Кувыкина, 96

С целью изучения молекулярно-генетических основ эссенциальной гипертензии (ЭГ) проведён сравнительный анализ распределений частот гаплотипов гена мониторного хемоаттрактантного белка-1 (*CCL2*, 17q11.2-q21.1) в группе больных и контрольной группе по полиморфным маркерам -5796A>T (rs1860190), -2581C>T (rs1024611), 704(14)I/D (rs3917887) и 5357A>G (rs991804).

Выборка больных ЭГ включала 162 пациента с дебютом заболевания в возрасте от 23 до 56 лет, а контрольная группа – 170 человек без клинических признаков сердечно-сосудистых заболеваний, в возрасте от 25 до 58 лет. Все участники исследования были мужского пола, татары по этнической принадлежности. Больные были обследованы на базе республиканского кардиологического диспансера. ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции из цельной венозной крови. Генотипирование осуществляли методом полимеразной цепной реакции. Статистический анализ проводили с использованием программы Haploview 4.2. Частоты гаплотипов определяли с помощью EM алгоритма. В результате исследования выявлено 12 гаплотипов из 16 возможных, при этом частота встречаемости трех из них составила более 10%: ТААС (48.3%), АГДТ (17.1%) и АААС (10.0%); частоты гаплотипов ААДТ и ТГДТ составили 6.3% и 3.2%, соответственно, и остальных - менее 3%. Обнаружено,

что в выборке больных ЭГ повышена частота гаплотипа AGDT (20.4% против 13.9% в контрольной группе, $\chi^2=4.973$, $P=0.026$, $OR=1.57$, $CI_{1.04-2.36}$). Таким образом, гаплотип AGDT гена CCL2 может рассматриваться в качестве маркера риска ЭГ.

Исследование поддержано грантом Российского гуманитарного научного фонда № 06-07-00309а.

**ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО
ПОЛИМОРФИЗМА У БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМИ ФЕНОТИПАМИ
МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА**

*Войтович А.Н.¹, Богданова М.А.¹, Смирнов Б.И.², Быстрова А.А.³, Глебовская Т.Д.⁴, Красильникова Е.И.², Бадмаева М.И.³, Беркович О.А.³, Шляхто Е.И.³,
Ларионова В.И.¹*

¹ Санкт-Петербургская государственная Педиатрическая Медицинская Академия 194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Факс: (812) 295-1067, e-mail: anna_voitovich@yahoo.com

² Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет

³ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. Павлова

⁴ ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова»

Метаболический синдром (МС) формируется вследствие комплекса взаимосвязанных нарушений липидного и углеводного обмена. Среди компонентов МС ожирение и атерогенная дислипидемия являются одними из основных метаболических нарушений, определяющих высокий риск развития сахарного диабета тип 2 (СД2) и атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний.

Целью нашей работы стало изучение полиморфизма генов *APOA1* (G-75A и C+83T), *APOC3* (Sst1), *APOE*, *APOA5* (T-1131C и S19W), *ADRB3* (W64R) и *ACE I/D* у 501 больных с признаками МС (176 мужчин и 325 женщин, средний возраст 61,7±1,0), из которых 382 человека имели СД2, и 199 здоровых лиц без СД2 (115 мужчин, средний возраст 40,0±0,5, и 84 женщины, средний возраст 85,9±0,5). У всех пациентов была проведена оценка показателей: возраст, рост и вес для определения индекса массы тела (ИМТ), наличие артериальной гипертензии (АГ), показатели липидного спектра крови (уровень общего ХС, ХС ЛПВП, ТГ). Генотипирование пациентов проводилось с помощью метода ПДРФ. Для статистической обработки данных использовали метод относительного риска (ОР) для доверительного интервала (ДИ) 95%.

Результаты 450 больных МС имели избыточную массу тела или ожирение, у 458 больных была АГ. Атерогенные изменения липидного спектра крови обнаружены у 202

больных с использованием 90%-отрезной точки распределения уровней общего ХС и ТГ и 10%-отрезной точки распределения уровня ХС ЛПВП с учетом пола и возраста [Климов А.Н.и др., 1989]. Анализ распределения генотипов по исследованным генам в зависимости от типа метаболического нарушения выявил гендерные различия. Количество носителей аллеля 19W по гену *APOA5* было значимо выше в группе мужчин с МС по сравнению с группой здоровых мужчин (ОР=4,77, 95% ДИ 1,40-16,24). А в группах женщин такое различие отсутствовало. В то же время в группе женщин с МС носителей аллеля D по гену *ACE* было меньше по сравнению с группой здоровых женщин (ОР=0,85, 95% ДИ 0,75-0,97). Среди мужчин, больных МС, имеющих ожирение (ИМТ>30), носителей аллеля -75A гена *APOA1* было значимо больше, чем среди здоровых мужчин с нормальной массой тела (ОР=2,01, 95% ДИ 1,12-3,61). Среди больных мужчин, не имеющих АГ, носителей аллеля E2 гена *APOE* было больше, чем среди здоровых мужчин (ОР=3,16, 95% ДИ 1,36-7,35). Также, носители аллеля E2 гена *APOE* встречались чаще среди больных мужчин с уровнями ТГ выше 90% отрезной точки (ОР=2,22, 95% ДИ 1,10-4,48) и среди больных мужчин с уровнями общего ХС ниже 10% отрезной точки (ОР=2,47, 95% ДИ 1,04-5,85), чем среди здоровых лиц с нормолипидемией. В группах женщин отсутствовали различия в распределениях генотипов и аллелей исследованных генов во всех проанализированных группах.

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

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

ГОУВПО «МГУ им. Н.П.Огарева»,
Саранск, ул. Большевистская, 68
Тел.: (8342) 47-49-90, e-mail: glnsm@mail.ru
*ФГУ РКНПК

Москва, ул. 3-я Черепковская, д 15а
Тел.: (495) 414-60-98, e-mail: anton-5@mail.ru

Изучение молекулярно – генетических основ наследственной предрасположенности к артериальной гипертензии (АГ) и ее осложнений в плане развития тромбозов является одним из перспективных направлений современной кардиологии. В связи с этим целью данной работы явилось изучение полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента (АСЕ) и генов системы гемостаза (гена, кодирующего фактор V свертывания крови, гена ингибитора активатора плазминогена

1 типа, гена протромбина, гена рецептора тромбоцитов – гликопротеин Пб/Ша и гена МТНFR) у больных АГ Республики Мордовия в зависимости от пола и национальной принадлежности (эрзя, мокша и русские). Были обследованы 319 больных с установленным диагнозом АГ II-III степени по классификации ВОЗ (2004) и 117 добровольцев с нормальным уровнем АД.

При изучении распространенности вариантов генотипов гена ACE было выявлено преобладание «неблагоприятного» по отношению к развитию АГ генотипа DD гена ACE у мужчин АГ мокшанской национальности. Выявлено преобладание сочетаний неблагоприятных генотипов гена PAI-1 у мужчин мокшанской и эрзянской национальностей и преобладание неблагоприятного носительства генотипа CC гена МТНFR в позиции A1298C у мужчин мокшанской национальности, а в позиции C667T генотипа СТ у больных мокшанской и эрзянской национальностей.

Также выявлено более частое сочетание «неблагоприятных» генотипов генов системы гемостаза и гена ангиотензин-превращающего фермента у больных АГ мокшанской и эрзянской национальностей по сравнению с русскими больными АГ.

Таким образом, при изучении генов ангиотензин-превращающего фермента и генов системы тромболизиса в Республике Мордовия выявлено носительство неблагоприятных генотипов у больных АГ мордовской национальности по сравнению с больными АГ русской национальности.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА Q192R ГЕНА ПАРАОКСОНАЗЫ PON1 С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЛИПИДОГРАММЫ

Колбасин Л.Н., Урванцева И.А., Гильнич Н.А.

Учреждение Ханты-Мансийского автономного округа «Окружной кардиологический диспансер «Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии»
Сургут, ул. Губкина, 1
Тел/факс: (3462) 35- 30- 82, e-mail: salamatina@okd.ru

Цель: Изучение ассоциации полиморфизма Q192R гена параоксоназы *PON1* с показателями липидограммы у больных артериальной гипертензией (АГ) и сахарным диабетом (СД) 2 типа.

Материал и методы: В исследовании участвовали 82 пациента с диагнозом АГ I-II степени, средний возраст – 51,9±6,7 лет. В 62,2% АГ сочеталась с СД 2 типа, длительность АГ – 11,3±2,7 лет. Определяли: общий холестерин, триглицериды, холестерин липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), холестерин липопротеидов

низкой плотности (ЛПНП). Для экстракции ДНК использовали набор реагентов «ДНК-сорб-Б». Полиморфизм Q192R гена *PON1* исследован методом полимеразной цепной реакции на амплификаторе «Rotor Gene 3000».

Результат: У больных АГ частота генотипа QQ составила 32,2%, RR – 16,2%, QR – 51,6%, у больных АГ и СД – 45,1%, 29,4% и 25,5%, соответственно. Выявлена ассоциация средних значений липидограммы с генотипами исследуемого гена у пациентов с АГ и СД 2 типа: среди лиц с генотипом RR уровень общего холестерина был в 1,2 раза выше, чем у лиц с генотипом QQ и QR ($6,2 \pm 0,8$ ммоль/л против $5,2 \pm 0,7$ ммоль/л и $5,1 \pm 0,7$ ммоль/л, $p < 0,05$). ЛПНП у больных с генотипом RR в 1,2 раза превышали аналогичный показатель у лиц с QQ генотипом и были равнозначны показателю у больных с QR генотипом ($3,4 \pm 0,5$ ммоль/л против $2,9 \pm 0,1$ ммоль/л и $3,3 \pm 0,4$ ммоль/л соответственно, $p < 0,05$). Холестерин ЛПВП у обследованных больных с генотипом RR составил $1,0 \pm 0,08$ ммоль/л против $1,1 \pm 0,1$ ммоль/л у больных с QQ генотипом ($p < 0,05$) и не отличался от данного показателя у гетерозигот ($1,0 \pm 0,4$ ммоль/л).

Заключение: У пациентов с АГ в сочетании с СД 2 типа генотип RR полиморфизма Q192R гена *PON1* можно рассматривать как неблагоприятный в отношении развития атеросклероза.

***ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АНГИОТЕНЗИНОГЕНА M235T И КЛИНИЧЕСКИЕ,
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ИШЕМИЧЕСКОГО
ГЕНЕЗА***

О.А.Краснова¹, М.Ю.Ситникова¹, С.Г.Иванов¹, В.И.Ларионова²

¹ ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А.Алмазова» ²

Санкт-Петербургская Медицинская Педиатрическая Академия

Цель исследования: Выявить возможную ассоциацию полиморфизма гена ангиотензиногена (AGT) M235T с клиническими, структурно-функциональными показателями сердца у больных хронической сердечной недостаточностью.

Материалы и методы: обследованы 105 мужчин в возрасте 59-78 лет с ХСН II-III ФК ишемической этиологии давностью в среднем 3,5 года, фракцией выброса левого желудочка (ФВлж, Simpson) < 45%. Исходно всем лицам проводился подробный сбор клинико-лабораторных данных, показателей ЭХОКГ и суточного мониторирования ЭКГ. Анализ полиморфизма исследуемого гена осуществлялась методом ПДРФ.

Статистический анализ результатов проводился с использованием критерия Манна-Уитни, при этом различия считались статистически достоверными на уровне значимости $p < 0,05$. *Результаты:* Пациенты, имеющие генотип 235ММ по гену AGT, составили 23% (25 человек), имеющие гетерозиготный генотип – 57% (60 человек), и генотип 235ТТ – 20% (20 человек). У обследованной группы больных связь генотипа 235ТТ по гену AGT с наличием факторов риска ХСН (артериальной гипертензией (АГ), более высоким индексом массы тела (ИМТ), гиперхолестеринемией, гиперурикемией) не выявлена. Пациенты, имеющие генотип 235ТТ или 235МТ, перенесли инфаркт миокарда (ИМ) в более раннем возрасте, чем больные носители генотипа 235ММ (возраст 1 инфаркта миокарда: $51,9 \pm 9,8$ лет, $51,7 \pm 4,6$ лет и $58,0 \pm 7,4$ лет соответственно; $p < 0,05$). Больные, имеющие генотип 235ММ, имели более высокий класс желудочковых нарушений ритма, чем больные, имеющие аллель 235Т как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии (желудочковая экстрасистолия (Lowp) $4,0 \pm 0,5$ класс и $3,0 \pm 0,5$ класс соответственно; $p = 0,04$). Больные, имеющие генотип 235ММ или 235МТ, отличались большими конечно-систолическим и конечно-диастолическим размерами левого желудочка (КСД/КДД- $59,1 \pm 10/61,4 \pm 10$ мм и $54,7 \pm 10/55,7 \pm 10$ мм соответственно, $p = 0,03/p < 0,05$) и достоверно большим средним давлением в легочной артерии (СДЛА- $41,6 \pm 18$ и $28,3 \pm 11$ мм рт.ст. соответственно, $p = 0,02$), чем пациенты с генотипом 235ТТ. По другим структурно-функциональным показателям сердца значимые различия не были выявлены.

Выводы: Установлена ассоциация генотипа 235ТТ по гену AGT с более ранним дебютом инфаркта миокарда у больных ХСН. В то же время у больных, имеющих аллель 235М, зарегистрированы большие размеры левого желудочка, желудочковые нарушения ритма высоких градаций по сравнению с больными, имеющими аллель 235Т как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии, несмотря на равную давность и тяжесть ХСН.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИКИ СЕМЕЙНОЙ

ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ И В ПЕТРОЗАВОДСКЕ

**Мандельштам М.Ю.¹, Головина А.С.¹, Комарова Т.Ю.¹,
Липовецкий Б.М.², Константинов В.О.³, Корнева В.А.⁴, Денисенко
А.Д.¹, Васильев В.Б.¹**

¹Институт экспериментальной медицины СЗО РАМН
Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, д.12
Тел. (812) 234-56-06, e-mail: michail@MM13666.spb.edu

²Институт мозга РАН, Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им.
И.И. Мечникова

⁴ Петрозаводский государственный университет

Исследования молекулярной природы семейной гиперхолестеринемии (СГ) в России выявили чрезвычайно высокий уровень гетерогенности заболевания, при котором почти в каждой семье обнаруживается своя собственная мутация гена рецептора липопротеинов низкой плотности. К сожалению, до последнего времени исследования молекулярной природы СГ были ограничены лишь тремя мегаполисами Санкт-Петербурга, Москвы и Новосибирска. В Санкт-Петербурге охарактеризованы 34 мутации гена рецептора липопротеинов низкой плотности. Предполагается, что начатое исследование семейной гиперхолестеринемии в популяции Петрозаводска и Карелии в целом позволит выявить новые этнически-специфичные для русского населения мутации. Первые результаты изучения СГ у жителей Петрозаводска показали, что в этой популяции, как и в Санкт-Петербурге, не обнаруживается мутация R3500Q в гене *APOB*. Также у больных СГ из Петрозаводска в гене рецептора липопротеинов низкой плотности не была выявлена финская мутация FN-North Karelia, найденная в одной из 43 семей с СГ Санкт-Петербурга, что говорит о преобладании славянского, а не собственно финно-карельского населения в Карелии. У двух из 20 пациентов с СГ из числа жителей Петрозаводска идентифицирована методом анализа конформационного полиморфизма одонитевых фрагментов ДНК однотипная мутация в третьем экзоне, которая в настоящее время секвенируется.

Финансирование исследований, составивших предмет настоящей обзорной статьи, осуществлялось частично из средств Российского Фонда фундаментальных исследований (РФФИ) (проект N 10-04-00563а).

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СЕМЕЙНЫХ ФОРМАХ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Пинелис В.Г., Березнева Н.А., Громыко О.Е., Асанов А.Ю.

Научный центр здоровья детей РАМН (Москва)

Гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) в настоящее время рассматриваются как гены-модификаторы, влияющие на выраженность гипертрофии миокарда у больных с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП).

Цель работы: Изучить полиморфизмы генов ангиотензиногена M235T, гена рецепторов ангиотензина II 1 типа у детей с семейной формой ГКМП, а также гена

ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) у детей с ГКМП и их больных родственников.

Методы: Клинический, электрокардиографический, эхокардиографический, исследование полиморфизмов генов РААС с использованием биочипов.

Результаты: Семейная форма ГКМП выявлена у 23 больных детей (55% от всех больных с ГКМП). В 39% семей заболевание у детей протекало более тяжело, чем у их родственников. Полиморфизм DD гена АПФ выявлен у 23% больных детей (у всех диагностирована обструктивная форма заболевания), ID - у 54%. Частота выявления D-аллеля у обследованных детей была выше, чем у их родственников с менее тяжелым течением заболевания. Полиморфизм M235T гена ангиотензиногена исследован у 9 детей, 6 оказались гомозиготными по аллелю T, 1 - гетерозиготным. При исследовании гена рецепторов ангиотензина II 1 типа, ни один из обследованных нами детей с ГКМП не был гомозиготным по аллелю T, 3 оказались гетерозиготными.

Исследование полиморфизмов генов РААС у детей с ГКМП важно для уточнения риска и прогноза заболевания.

***СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
ВАРИАНТОВ eCNOS 4A/4B, PON1 Q191R, EDN1 LYS198ASN, ABCA1 C69T У
ЖЕНЩИН С КАРДИАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ X И С АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИМ
ПОРАЖЕНИЕМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ***

***Феоктисова В.С., Колесниченко М.Г., Леонова И.А.,
Болдуева С.А., Сироткина О.В.***

СПБГМА им. И.И. Мечникова
Санкт-Петербург, Пискаревский пр. 47
E-mail: lerissima@yande.ru

Клиническая симптоматика ИБС у женщин не всегда определяется наличием и степенью выраженности атеросклероза коронарных артерий, как в случае «кардиального синдрома X». Однако независимо от формы ИБС, ведущее место в патофизиологии заболевания отводится эндотелиальной дисфункции. В этом процессе C69T могут быть задействованы варианты генов eCNOS 4a/4b, PON1 Q191R, EDN1 Lys198Asn, ABCA1.

Цель исследования: Анализ распределения частот аллелей и генотипов генов eCNOS 4a/4b, PON1 Q191R, EDN1 Lys198Asn, ABCA1 C69T у женщин с «кардиальным

синдромом X», у женщин со значимым атеросклерозом коронарных артерий и у женщин соответствующей возрастной группы без клинических проявлений ИБС.

Материалы и методы: Исследование генетических вариантов eсNOS 4a/4b, PON1 Q191R, EDN1 Lys198Asn, ABCA1 C69T выполнено методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом у 135 женщин, из них 12 - с диагнозом кардиальный синдром X (53±1 лет), 72 женщины (53±1 лет) со значимым атеросклерозом коронарных артерий, верифицированным коронарографией, и 51 женщина (50±1 лет) без клинических проявлений ИБС.

Результаты: У женщин со значимым атеросклерозом коронарных артерий выявлено следующее распределение eсNOS – 52%, 44% и 4%, в группе с «кардиальным синдромом X» - 92%, 8% и 0%, в контроле - 66%, 32% и 2% для 4b4b, 4a4b и 4a4a генотипов, соответственно. При этом отмечалась тенденция к накоплению мутантного аллеля 4a гена eсNOS у женщин с атеросклеротическим поражением коронарных артерий по сравнению с «кардиальным синдромом X» ($p=0,08$) и контролем ($p=0,08$). Кроме того, обнаружено статистически значимое увеличение частоты аллеля 4a у женщин с атеросклеротическим поражением коронарных артерий и сохраненной менструальной функцией – 36% и 64% для 4b4b и 4a4b+4a4a генотипов eсNOS в сравнении с контрольной группой – 66% и 34% для 4b4b, 4a4b и 4a4a, соответственно ($p=0,02$). В исследуемых группах для Q191R гена PON1 и C69T гена ABCA1 достоверные различия не найдены. При анализе EDN1 выявлено следующее распределение генотипов: в группе со значимым атеросклерозом коронарных артерий - 70%, 25% и 5%, с «кардиальным синдромом X» - 8%, 75% и 17%, в контроле - 51%, 47% и 2% для генотипов LysLys, LysAsn и AsnAsn, соответственно. Было обнаружено статистически значимое увеличение частоты мутантного аллеля Asn гена EDN1 (в гетеро- и гомозиготном состоянии) у женщин с «кардиальным синдромом X» в сравнении с группой женщин со значимым атеросклерозом коронарных артерий ($p=0,001$) и с контролем ($p=0,007$).

Выводы: Полиморфный маркер 4a/4b eсNOS может быть задействован в процессе развития атеросклероза коронарных артерий у женщин на фоне сохраненной менструальной функции. Также из проведенного исследования следует, что полиморфный маркер Lys198Asn EDN1 ассоциирован с развитием у женщин мультифакториального по своей природе заболевания - «кардиального синдрома X».

**АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ НЕКОТОРЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
РИСКА ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЛИПИДНОГО
ОБМЕНА И АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ**

Хавинсон В. Х., Стрекалов Д. Л., Лыщев А. А., Горбунова В. Н., Шварц Е. И.

Санкт-Петербургская Государственная педиатрическая медицинская академия
194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Тел/факс: +7 (812) 295-0448, e-mail: vngor@mail.ru

Целью исследования явилось сопоставление показателей АД, липидного и углеводного обменов с аллельным состоянием генов АРОСIII, LPA, АРОЕ, PON1, ACE, AGT, F5, F7, F2, PAI1, MTHFR и GSTM1, а также изучение некоторых межгенных корреляций по результатам клинико-инструментального (скринингового) обследования 436 пациентов. Первые 11 генов являются известными генами-кандидатами кардиоваскулярного риска. Клинические исследования комплекса этих генетических маркеров были выполнены по рекомендациям профессора Е. И. Шварца. Ген глутатион-S-трансферазы μ -1 (GSTM1) участвует в контроле II фазы детоксикации ксенобиотиков. Исследование липидов и липопротеидов, а также концентрации глюкозы в крови осуществляли с помощью биохимического анализатора Reflotron. Исследование полиморфных аллелей генов проводили методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом.

Результаты исследования: Для большинства генов достоверные корреляции не выявлены. Исключение составляют три гена - PAI1, AGT и GSTM1. Присутствие гомозиготного повтора 4G в промоторной области гена PAI1, связанного с повышением синтеза ингибитора активатора плазминогена 1 типа, достоверно коррелирует с систолической АГ, а также с гипергликемией. Вместе с тем, обнаружено достоверное уменьшение частоты генотипов 4G5G и 5G5G у лиц с концентрацией общего холестерина в крови выше оптимального уровня - 200 мг/дл ($p < 0,02$).

Выявлены значимые корреляции между распределением полиморфных аллелей в гене ангиотензиногена (AGT) и диастолической АГ, а также повышенной концентрацией триглицеридов в сыворотке крови. У обладателей гетерозигот с присутствием аллеля А чаще выявлялись диастолическая АГ и повышение содержания триглицеридов в крови по сравнению с гомозиготами ($p < 0,01-0,05$). Обнаружено неслучайное распределение гомозигот по делеции в гене GSTM1 среди пациентов, различающихся по уровням триглицеридов и ХС ЛПВП в крови. Частота гомозигот по делеции данного гена прогрессивно снижается при увеличении концентрации

триглицеридов в крови, а также при снижении - ХС ЛПВП, что свидетельствует о наличии возможной антиатерогенной роли делеционного полиморфизма гена глутатион-S-трансферазы μ -1. Исследование межгенных корреляций выявило двукратное снижение частоты сочетания I/I генотипа гена ангиотензин-конвертирующего фермента (АСЕ), ассоциированного с инсулинорезистентностью, с мутацией в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), связанной с повышенной концентрацией гомоцистеина в крови. Вместе с тем, оказались достоверно повышены частоты генотипов, при которых гомозиготы по делеции в гене GSTM1 сочетаются с мутацией в гене MTHFR и с гомозиготами 4G4G гена PAI1.

Заключение: Результаты исследования свидетельствуют о том, что экспрессия генотипов генов PAI1 и ATG, вовлеченных в строго определенные патологические циклы, по всей вероятности, оказывает влияние на снижение целого ряда иных адаптивных эффектов (гемодинамических, метаболических), повышающих риск развития ИБС. Есть все основания полагать, что 4G4G-генотип гена PAI1, ассоциированный с замедлением фибринолиза, систолической АГ, риском развития острого коронарного синдрома, увеличением концентрации глюкозы и холестерина в крови, можно отнести к генетическим факторам риска метаболического сердечно-сосудистого синдрома. Результаты исследования свидетельствуют также о наличии возможной антиатерогенной роли делеционного полиморфизма гена GSTM1. Клиническая интерпретация генетических факторов риска ИБС должна проводиться с учетом возможных межгенных взаимодействий.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ НЕВРОЛОГИЯ

ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ПРОКСИМАЛЬНОЙ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИЕЙ (СМА) ПРЕПАРАТАМИ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ

Вахарловский В.Г., Железнякова Г.Ю., Киселёв А.В.,¹ Команцев В.Н., Егорова А.А.,² Сезнева Т.Н.,² Юрьева Р.Г.,³ Вахарловская М.В., Баранов А.Н., Баранов В.С.

НИИ акушерства и гинекологии им.Д.О.Отта СЗО РАМН
199034 Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3
Тел/факс: +7 812 328-9809, e-mail:

baranov@VB2475.spb.edu ¹НИИ детских инфекций МЗ
РФ

²Городской центр восстановительного лечения детей с психоневрологическими нарушениями ³НИИ пульмонологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова

СМА – аутосомно-рецессивное заболевание с частотой 1 на 6000 новорожденных и гетерозиготным носительством 1 на 40. Причиной заболевания являются мутации в гене SMN1 (ген выживания моторных нейронов). Непосредственно к гену SMN1 прилежит его мутантная копия (ген SMN2), с которой считывается около 10% функциональной мРНК и синтезируется небольшое количество нормального белка. Число генов SMN2 варьирует в зависимости от формы СМА. Недавно было показано, что вальпроевая кислота (ВК), применяемая для лечения эпилепсии, может усиливать экспрессию гена SMN2. Действие ВК вызвано ее способностью ингибировать деацетилазу гистонов и вызывать гиперэкспрессию фактора Htra2-beta1, что восстанавливает сплайсинг гена SMN2, и синтез полноценного белка SMN. С 2003 года мы проводим исследования по лечению СМА препаратом ВК – конвулексом в сочетании с карнитин содержащим элькарсом. В докладе суммированы результаты длительного (2-6 лет) наблюдения за 38 больными СМА: из них 4 - I-го типа, 28 - II-го, и 6 - III-го. У всех больных выявлена делеция 7-8 экзонов гена SMN1 в гомозиготном состоянии. Диагноз СМА подтверждали электромиографически и повторяли в динамике. Проводили мониторинг функционального состояния печени. Методом ПЦР в реальном времени установлено, что число копий гена при СМА I типа равнялось 2, а при СМА II-III варьировало от 3 до 4. Двое больных с I-м типом СМА погибли до года. У одной больной 39 лет (СМА III) лечение было прекращено в связи с аллергической непереносимостью ВК. У остальных 33 больных не отмечалось прогрессирования заболевания, а у 3 из них появилась двигательная активность в ногах, вплоть до восстановления способности к ходьбе. Эффективность лечения СМА зависела не столько от числа копий гена SMN2, сколько от состояния больного на момент начала лечения. Выраженный лечебный эффект отмечен у больных, которые начинали принимать ВК в возрасте до 2-3 лет. Полученные результаты позволяют перевести СМА в группу корригируемых заболеваний. Эффективность лечения СМА ВК определяется тяжестью процесса, числом копий гена SMN2, чувствительностью к ВК и временем начала её применения.

***ОПУХОЛИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В СТРУКТУРЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ***

В. Н. Горбунова

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия
194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Тел/факс: +7 911 747 37 02, e-mail: vngor@mail.ru

Наследственные мутации в генах супрессорах опухолей часто приводят к развитию моногенных болезней, в структуру синдромального поражения которых входят опухоли головного мозга. Среди них ведущее место занимают факоматозы, при которых наблюдаются сочетанные поражения нервной системы, кожных покровов и внутренних органов. Наследуются факоматозы преимущественно по аутосомно-доминантному типу с неполной пенетрантностью, достигающей во многих случаях 75-90%. Факоматозы подразделяют на две большие группы: бластоматозы (нейрофиброматоз, туберозный склероз) и ангиоматозы (цереброретинальный ангиоматоз, атаксия-телеангиэктазия, энцефалотригеминальный ангиоматоз и др.). Наиболее распространенным является нейрофиброматоз I типа, характеризующийся наличием на коже туловища и конечностей разнокалиберных “кофейных” пятен, доброкачественными опухолями кожи и подкожной клетчатки – нейрофибромами, состоящими из смеси клеток Шванна и фибробластов, опухолями нервных стволов и окончаний, значительно варьирующими по форме, величине и количеству. При нейрофиброматозе II типа резко увеличена частота возникновения акустических шванном и менингиом. У больных туберозным склерозом повышена частота возникновения эпендимом и астроцитом. Ангиоматоз сетчатки и внутричерепная гемангиобластома являются ведущими клиническими проявлениями синдрома Гиппеля-Линдау. У больных синдромом Горлина резко повышена чувствительность к ионизирующей радиации, и облучение даже в терапевтических дозах может индуцировать развитие большого числа опухолей базальных клеток. У 5% таких больных развиваются медуллобластомы, а в более позднем возрасте – астроцитомы. В настоящее время известны первичные биохимические дефекты и патологические метаболические цепи при всех формах факоматозов, а также идентифицированы все гены, ответственные за развитие этих заболеваний. Все они относятся к классу супрессоров опухолей. Многие онкогены и антионкогены являются ключевыми регуляторами общих сигнальных путей, однако их связь с канцерогенезом обнаруживается только в специфических тканях. Идентификация ключевых молекул, изменение экспрессии которых определяет неопластический фенотип опухолевых клеток, имеет важнейшее значение для разработки новых стратегических программ терапии опухолей головного мозга.

***ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА UGT1A6
У ДЕТЕЙ С ЭПИЛЕПСИЕЙ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ***

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

НПЦ медицинской помощи детям ДЗ г. Москвы

Ферменты системы UGT (уридиндифосфатглюкуронозилтрансферазы) играют ключевую роль в метаболизме вальпроатов – препаратов, широко используемых при лечении эпилепсии.

Целью настоящей работы является изучение частоты полиморфизмов A541G и A552C UGT1A6 у детей с эпилепсиями в российской популяции. Указанные полиморфизмы обладают высоким уровнем сцепления (Bock KW, Köhle, 2005; S.Krishnaswamy et al, 2005).

Были обследованы 122 пациента с различными формами эпилепсии, которые наблюдались в НПЦ Медпомощи детям. Возраст больных колебался от 3 до 22 лет, длительность болезни - от 3 месяцев до 14 лет. Из них 56 больных (45,9%) были чувствительны к терапии антиконвульсантами и 66 (54,1%) – фармакорезистентны.

ДНК выделяли из клеток крови методом фенол/хлороформной экстракции и этанольной преципитации. ПЦР проводили на амплификаторе Applied Biosystems с использованием следующих праймеров: прямой — 5'-TGTGGGGTGATCCTGGCTGAG-3' и обратный AACAAAGGAAGTTGGCCACTCG-3'. Разделение конформеров проводили посредством SSCP-электрофореза в 12% полиакриламидном геле. Результаты подтверждали секвенированием продукта амплификации на 3130xl Genetic Analyzer(Applied Biosystems).

В общей группе пациентов определялись следующие частоты генотипов: a541a и a552a – 42 (34,4%), a541g и a552c – 69 (56,6%), g541g и c552c – 11 (9%). Полученные данные отличаются от распределения по генотипу A541G и A552C UGT1A6 в других популяциях (Mayumi Saeki, Yoshiro Saito, Hideto Jinno et al., 2005; Sun YP, Tan L, Wang Y, Song JH., 2007).

В группе больных, чувствительных к фармакотерапии, получены следующие данные: a541a и a552a – 20 (35,8%), a541g и a552c – 32 (57,1%), g541g и c552c – 4 (7,1%), для фармакорезистентных - a541a и a552a – 22 (33,3%), a541g и a552c – 37 (56,1%), g541g и c552c – 7 (10,6%).

Анализ частоты полиморфизмов A541G и A552C UGT1A6 при разных формах эпилепсии не выявил достоверных различий между ними.

О РИСКЕ РЕЦИДИВОВ ИДИОПАТИЧЕСКИХ ФОРМ ЭПИЛЕПСИИ У ДЕТЕЙ

Гузева В.В., Гузева О.В.

Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая Медицинская Академия
194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Тел/факс: 963 67 03, e-mail: viktoryka@mail.ru

Эпилепсией в мире страдают от 20 до 40 млн человек. У 75% пациентов первый приступ эпилепсии развивается в возрасте до 18 лет. В 12-20% случаев эпилепсия носит семейный характер. В связи с этим в ее изучении важное место занимают генетические исследования, в том числе молекулярно-генетические

С момента открытия в 1995 году первой генной мутации, лежащей в основе идиопатической эпилепсии, в идиопатических эпилепсиях человека уже идентифицировано 13 генов. В группе идиопатических эпилепсий присутствуют редкие моногенные формы, среди которых преобладают аутосомно-доминантные с полной и неполной пенетрантностью гена. Все известные на данный момент гены, нарушения в которых приводят к развитию эпилепсии, кодируют разные субъединицы ионных каналов, поэтому их относят к каналопатиям. Наиболее распространенными, однако, являются сложно наследуемые эпилепсии.

Самой распространенной в детском и юношеском возрасте является ювенильная миоклоническая эпилепсия (форма Янца), составляющая 10-13% среди других форм эпилепсии. Исследования этой формы показали ее генетическую гетерогенность. При изучении локусов сцепления при этой форме эпилепсии с областями 15q14, 6p11, 6q24, 8q24 получены данные как о их наличии, так и об отсутствии. В клинике СПбГПМА диагностировано 175 случаев этой формы эпилепсии. Рецидив приступов после отмены противоэпилептической терапии по нашим данным составил 45%, катамнез 3-7лет.

Детская абсансная эпилепсия является достаточно частой формой генерализованной идиопатической эпилепсии. Показано, что в патогенез этой формы включено более одного гена. Определены следующие локусы сцепления: 20q13, 6q24, 15q11, 8q. Кроме выявленных локусов сцепления, при детской абсансной эпилепсии идентифицированы мутации в разных генах. В клинике СПбГПМА наблюдалось 211 детей с абсансной эпилепсией. Рецидив приступов составил согласно полученным данным до 14% после отмены противоэпилептической терапии, катамнез 2-7лет.

Таким образом, несмотря на доброкачественный характер идиопатических генерализованных форм эпилепсии, сохраняется высокий процент рецидива, особенно при юношеской миоклонической эпилепсии (форма Янца).

**ДЕФИЦИТ СИНАПТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В МОЗГЕ ТРАНСГЕННЫХ
DROSOPHILA MELANOGASTER С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА APP
ЧЕЛОВЕКА**

Кислик Г. А., Родин Д.И., Большакова О.И., Саранцева С. В.

Петербургский институт ядерной физики РАН
Ленинградская область, Гатчина, Орлова роща Тел.:
8137146737, e-mail: kislikgalina@hotmail.com

Болезнь Альцгеймера (БА) - прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, патоморфологическим признаком которого является дегенерация синапсов в коре и гиппокампе, которое предшествует амилоидозу и нейродегенерации и коррелирует с нарушением памяти в ранней клинической фазе заболевания. Мутации в гене предшественника амилоида (*APP*) вызывают семейную форму БА и приводят к усилению секреции амилоид-бета-протеина (Аβ). Остается, однако, неясным каким образом Аβ вовлечен в нарушение синапсов в отсутствии видимых амилоидных структур. Для понимания роли *APP* и Аβ в патогенезе БА мы экспрессировали *APP* дикого типа, его укороченные формы, а также мутантную форму *APP* - *APP-Swedish*, вызывающую семейную форму БА, в нервных клетках *Drosophila melanogaster*. Экспрессия *APP* или *APP-Swedish* вызывала уменьшение содержания пресинаптических маркеров синаптотагмина (*synaptotagmin1*) и синаптобревина (*n-synaptobrevin*) в мозге *Drosophila*, прогрессирующую с возрастом нейродегенерацию и снижение способности к обучению и памяти. Эти нарушения наблюдались как при экспрессии *APP* или *APP-Swedish*, так и в двойных трансгенах при совместной экспрессии *APP* (*APP-Swedish*) и бета-секретазы человека, приводящей к секреции Аβ. Полученные результаты указывают, что нарушение синаптогенеза, когнитивных функций и нейродегенерация, могут происходить в мозге *Drosophila* в отсутствии Аβ. Мы предполагаем, что нарушение клеточных функций *APP* и секреция Аβ вносят независимый вклад в патогенез БА.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00647.

**ТРУДНОСТИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ
ГИПЕРКИНЕТИЧЕСКОГО СИНДРОМА**

Ключева Е.Г., Голдобин В.В.

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им.
И.И.Мечникова 195067 Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47
Тел.: (812) 543-01-26, e-mail: neurology-spsma@mail.ru

Дифференциальный диагноз гиперкинетического синдрома (ГС) сложен. Полиморфизм клинической картины, анамнестические данные, результаты нейровизуализационных, электрофизиологических и лабораторных исследований не всегда позволяют определить нозологическую принадлежность гиперкинеза.

Под нашим наблюдением находился больной К., 14 лет, который поступил в клинику с жалобами на насильственные движения в конечностях. Из анамнеза было известно, что пациент болен в течение 5 лет, за 2-3 недели начала заболевания предшествовал укус клеща в шею. Первыми признаками болезни были неловкость движений правой рукой, а затем насильственные движения в правой руке. Пациент неоднократно проходил стационарное обследование в инфекционном отделении. Данных за клещевой энцефалит и иные нейроинфекции после повторных серологических исследований крови и церебро-спинальной жидкости не обнаружено. Неоднократно выполнялись МРТ головного мозга, ЭНМГ и ЭЭГ исследования, не выявившие патологических изменений. Через 4 года от начала заболевания гиперкинез распространился на конечности левой стороны.

Поводом для госпитализации в неврологическое отделение послужили изменения показателей обмена меди: субнормальные цифры церулоплазмينا и повышение уровня «прямой» фракции меди в сыворотке крови. Это позволило заподозрить дрожательную форму болезни Вильсона-Коновалова. Проведенная радиоизотопная сцинтиграфия печени показала незначительное увеличение размеров печени, диффузные изменения паренхимы.

При повторном исследовании показателей обмена меди патологических изменений выявлено не было. Также не было выявлено клинических признаков гепато-церебральной дистрофии. Обращала внимание полиморфность гиперкинеза: наличие дистонических, миоклонических, атетонических движений. В момент поступления в клинику гиперкинезы разной степени выраженности наблюдались и в верхних, и в нижних конечностях с двух сторон.

Учитывая длительность заболевания, прогрессирующее течение, стереотипичность гиперкинезов, обсуждался диагноз торсионной дистонии. Было выполнено молекулярно-генетическое исследование гена DYT1. В результате исследования в экзоне 5 гена DYT1 обнаружена наиболее частая мутация del302/303, обуславливающая развитие торсионной дистонии.

Вывод: Наличие у пациента гиперкинетического синдрома требует раннего проведения молекулярно-генетического исследования для исключения или подтверждения диагноза торсионной дистонии.

***КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ ПРИ
МИОДИСТРОФИИ ДЮШЕННА/БЕККЕРА***

Ледашчева Т.А.

ГУЗ Диагностический центр (медико-генетический)
194044 Санкт-Петербург, ул. Тобольская, 5
E-mail: ledashcheva@mail.ru

В 95 семьях, имевших больных с миодистрофией Дюшенна/Беккера (МДД/Б), проведен анализ ДНК с применением мультиплексной цепной реакции с одновременной амплификацией 18 экзонов и промоторной области DMD-гена. Делеции были выявлены в 51% случаев (46 больных). В указанной группе больных проведено сопоставление особенностей клинического течения заболевания с характером делеции. Оценка тяжести МДД/Б проводилась по критериям: дебют и длительность заболевания, темп прогрессирования, степень сохранности двигательных функций, в том числе способность к самостоятельному передвижению после 12-13 лет, состояние мышечной системы, сохранность рефлексов, уровень интеллектуального развития, выраженность изменений органов и систем, возраст инвалидизации от начала болезни, эффективность проводимой терапии. Полученные данные свидетельствовали о благоприятном клиническом течении МДД/Б у 9 больных (19,6% случаев), имевших делеции в области 42-43, 42-44, 44 и 45-47 экзонов. В данной группе пациентов наблюдался выраженный положительный эффект от корригирующей терапии с длительным периодом ремиссии. При локализации делеции в промоторной части гена, 3-19, 47-50, 48-50, 48-52, 50, 50-52, 51, 51-53 и 52 экзонах отмечалось тяжелое течение заболевания с быстрым прогрессированием и утратой способности к самостоятельному передвижению в возрасте 8-9 лет.

Мы наблюдали семью с различными фенотипическими проявлениями МДД/Б у двоюродных сибсов и их матерей, являвшихся гетерозиготными носительницами, и разным молекулярным дефектом. Данный факт объясняется гипотезой нестабильности DMD-гена, вызванного присутствием транспозоноподобного элемента, что объясняет различия в молекулярном дефекте у больных, принадлежащих к одной родословной, т.е. имеющих мутацию общего происхождения (Miciak A et al., 1992).

Таким образом, настоящим исследованием было установлено, что имеется связь между тяжестью течения МДД/Б и мутациями в определенных экзонах DMD-гена.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФОРМЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА.

**Пчелина С.Н.^{1,2}, Якимовский А.Ф.², Емельянов А.К.^{1,2}, Иванова О.Н.²,
Усенко Т.С.¹, Дроздова А.С.¹, Шабалина И.Г.², Шварцман А.Л.¹**

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова РАН
188350 Санкт-Петербург; Гатчина, Орлова роща

²Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.
Павлова

197089 Санкт-Петербург, Л.Толстого, 6/8

Тел.: (812) 347-55-46, email: sopchelina@hotmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) – второе по частоте нейродегенеративное заболевание человека после болезни Альцгеймера. Частота выявления БП у лиц старше 60 лет составляет 1-2%. Симптомокомплекс заболевания (тремор, ригидность, брадикинезия и нарушения позы) коррелирует с гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции мозга человека. Механизм нейродегенерации при БП остается неизвестным. В силу этого не существуют нейропротекторные препараты, способные остановить или замедлить процесс нейродегенерации, равно как диагностические тесты, позволяющие проводить дифференциальную диагностику БП и выявлять заболевание на преклинической стадии. Одним из перспективных подходов к выяснению молекулярных механизмов нейродегенерации при БП является изучение моногенных форм заболевания. В настоящее время описаны пять генов, мутации в которых приводят к развитию моногенных форм БП. Первые мутации описаны в гене альфа-синуклеина (SNCA). Наиболее распространенной причиной развития семейной БП, являются мутации в гене обогащенной лейциновыми повторами киназы 2 (LRRK2). Мутации в гене паркина (PARK2) обнаруживаются при раннем начале заболевания. Нами проведен поиск молекулярной этиологии заболевания (поиск мутаций в генах SNCA, PARK2, LRRK2) у 119 пациентов с семейной формой БП. Мутации (точечные замены, мультипликации) в гене SNCA не выявлены. Мутации в гене PARK2 (точечные мутации, делеции экзонов в гетерозиготном состоянии) выявлены у двух пациентов с началом заболевания до 50 лет. Наиболее распространенной причиной развития БП явились мутации в гене LRRK2. Частота мутации G2019S LRRK2 при семейных формах БП составила 5% (6/119). В одной семье выявлена новая мутация V1613A. Группа с LRRK2-ассоциированной БП (11 человек) была использована как однородная по этиологии заболевания для поиска возможных молекулярных маркеров развития БП,

таких как экспрессия альфа-синуклеина, и проапоптозных генов в лимфоцитах периферической крови. Выявленное изменение в уровне альфа-синуклеина и экспрессии гена *FAS* может отражать нарушения обменных и клеточных процессов при данной форме заболевания.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
И КЛИНИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ МИОПАТИЙ**

Сайкова Л.А., Пустозеров В.Г.

Медицинская академия последипломного образования
193015 Санкт-Петербург, Кировная ул., д. 41
Телефон: (812) 940-24-66, e-mail: vasilenko_anna@list.ru

В настоящее время наиболее точным и достоверным методом диагностики при митохондриальной патологии является молекулярно-генетический анализ ДНК митохондрий (мтДНК), в которой образуются мутации, ведущие к формированию отдельных нозологических вариантов заболеваний. К митохондриальным болезням относят энцефалокардиомиопатию Kearns-Sayre, синдромы Pearson, MERRF, MELAS, некоторые формы офтальмопатической миопатии. Все эти формы объединены в той или иной степени наличием миопатического синдрома.

За период с 1985 года по настоящее время в клинике нервных болезней Санкт-Петербургской МАПО мы наблюдали 17 больных с различными вариантами с предполагаемой митохондриальной патологией, проходящими лечение в клинике неврологии СПб МАПО. С целью получения новых данных о патогенезе, улучшения диагностики и разработки новых методов лечения в 2001-2010 г.г. обследованы несколько семей больных нервно-мышечными синдромами с энцефалопатией, кардиомиопатией, лактатацидозом и другими нарушениями предположительно обусловленными структурными, биохимическими дефектами митохондрий и нарушением тканевого дыхания. Среди них были 6 мужчин и 11 женщин в возрасте от 28 до 58 лет. Для уточнения диагноза и обнаружения возможных мутаций в ДНК митохондрий у части больных предпринято молекулярно-генетическое исследование мтДНК (совместно с сотрудниками отдела молекулярной генетики НИИ экспериментальной медицины РАМН – Васильев В.Б., Соколова В.А.).

У 8 больных предполагалась энцефалокардиомиопатия Kearns-Sayre. Они характеризовались: дебютом заболевания в возрасте 6 – 19 лет; прогрессирующей наружной офтальмоплегией (100 %); пигментным ретинитом (75 %), дегенерацией

сетчатки (62,5 %); атаксией, интенционным тремором (50 %), кардиомиопатией, атриовентрикулярной блокадой сердца (87,5 %), “рванными” красными волокнами в биоптатах мышечной ткани (75 %), которые идентифицировались по активности миофибриллярной АТФ синтетазы как волокна I типа. Также для этой группы больных была характерна низкорослость (87,5 %) и скелетные аномалии (50 %).

Предпринято молекулярно-генетическое исследование мтДНК у 5 больных с предполагаемой митохондриальной патологией. У одного больного обнаружена гигантская делеция, составляющая около 5400 нуклеотидных пар. У 3 больных также обнаружена делеция, характерная для синдрома Kearns-Sayre, у одной больной – точечная мутация, характерная для синдрома MELAS. Проведены клинико-молекулярно-генетические параллели.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Чухловина М.Л.

Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая Медицинская Академия
194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Тел/факс: +7 812 534-7270, e-mail: alexei.chukh@mail.ru

В последние годы в нашей стране сохраняется высокая частота сосудистых заболеваний головного мозга, отмечается «омоложение» инсульта. В связи с этим важное значение приобретает изучение генетических аспектов цереброваскулярных заболеваний, особенно ишемического инсульта (ИИ), поскольку он обнаруживается в 4 раза чаще, чем геморрагический. Цель работы: анализ генетических аспектов ИИ для совершенствования первичной и вторичной профилактики. Обследованы 148 пациентов в возрасте от 18 до 45 лет, перенесших ИИ, включая 3 пациентов с наследственными заболеваниями: 2 – с атаксией Фридрейха, 1 – с синдромом Кирнса-Сейра. Ведущими факторами риска ИИ были следующие: неблагоприятные для церебральной гемодинамики варианты строения сосудов, артериальная гипертензия, кардиальная патология, васкулиты, невоспалительные артериопатии, диссекция цервикальных артерий, генетические факторы, использование психотропных препаратов: эфедрин, амфетамины. Показано, что полиморфизм генов ангиотензина II, рецептора ангиотензина II, ангиотензинпревращающего фермента, синтазы оксида азота (эндотелиальной и индуцибельной), аполипопротеина E, липопротеинлипазы, ассоциированы с повышенным риском развития ИИ. У пациентов, перенесших ИИ, проводилось исследование липидного спектра крови, антител к фосфолипидам, С-

реактивного белка, ревматоидного фактора, коагулограммы, внутрисосудистой активации тромбоцитов, исследование аллельного распределения протромботических генов, кодирующих V фактор свертывания крови (FV), протромбин (FII), бета-фибриноген, рецептор агрегации тромбоцитов Пб/Ша (GpIIIa), ингибитор активатора плазминогена 1 типа (PAI -1) и метилентетрагидрофолат редуктазу (MTHFR). У большинства молодых лиц с ИИ отмечено усиление внутрисосудистой активации тромбоцитов, у части больных – гиперлипидемия, повышенный уровень гомоцистеина в крови, являющийся независимым фактором риска инсульта. Ранее в совместной работе с А.В.Меркуловой и О.В. Сироткиной было показано, что у пациентов с ИИ молодого возраста увеличена частота мутантных аллелей генов GpIIIa, MTHFR, бета-фибриногена, выявлена прямая положительная корреляционная связь между наличием А-аллеля бета-фибриногена и уровнем фибриногена в крови пациентов. Следовательно, профилактика ИИ должна включать контроль артериального давления, липидного спектра, антиагреганты (тромбоАСС), витамины группы В и фолиевую кислоту для утилизации повышенного уровня гомоцистеина.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНА SCN1A ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКИХ ЭПИЛЕПСИЯХ

***Шахтарин В.В., Дрозд О.В., Рогожина Е.М., Айвазян С.О.,
Бачманова М.С., Притыко А.Г.***

НПЦ медицинской помощи детям ДЗ, Москва

По данным литературы, мутации в гене *SCN1A* при синдроме Драве (тяжелая миоклоническая эпилепсия новорожденных) выявляются в 70 - 80 % случаев, при генерализованной эпилепсии с фебрильными судорогами плюс (GEFS+) - в 10-20% случаях, а также наблюдаются при синдроме Дузе и других типах идиопатических и криптогенных эпилепсиях.

Исследование гена *SCN1A* проведено у 27 пациентов: по 2 пациента с GEFS+, детской абсансной эпилепсией и синдромом псевдо-Леннокса; по 3 - с синдромами Драве и Дузе и 15 пациентов с криптогенной фокальной эпилепсией.

Ген *SCN1A* состоит из 26 экзонов. Для исследования выбраны 20 экзонов, в которых сосредоточены до 80 % от всех выявленных мутаций при синдроме Драве. Дизайн праймеров 5-го экзона гена *SCN1A* осуществлен таким образом, чтобы захватить далеко расположенный интронный полиморфизм rs3812718, для которого показана ассоциация с резистентностью к терапии карбамазепином. Протяженность 26-го экзона составляет 1178 нуклеотидов, и чтобы прочесть его полную

последовательность, он был разбит на 2 перекрывающиеся части. Определенную трудность в дизайн праймеров внесла высокая гомология экзонов гена *SCN1A* с другими генами натриевых каналов, поэтому праймеры на выбранные экзоны выбирались с условием несовпадения как минимум 2 нуклеотидов с 3'-конца для каждого праймера. Двусторонний сиквенс каждого экзона выполнен на анализаторе Applied Biosystems ABI Prism 3130xl.

Методом прямого секвенирования 20 экзонов гена *SCN1A* обнаружены мутации A1891G, 552delT и G4262A у пациентов с криптогенной фокальной эпилепсией, синдромом Дузе и синдромом Драве соответственно; выявлен полиморфизм rs3812718, ассоциированный с резистентностью к терапии карбамазепином у 7 пациентов.

Результаты работы свидетельствуют о достаточно высокой информативности разработанной методики исследования гена *SCN1A* для диагностики синдромом Дузе и Драве, а также изучения причин фармакорезистентности.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

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

Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им.
акад. И.П.Павлова 197089 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6/8
Тел.: (812) 232-8120, факс (812) 232-4649, e-mail: bmt-registry@spmu.rssi.ru
Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой

Введение: Для пациентов, нуждающихся в аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и не имеющих совместимого по генам системы главного комплекса гистосовместимости (HLA) родственного донора пациентов, проводится поиск и активация неродственного донора ГСК в международной базе данных, однако для 25-30% пациентов в Международной базе данных (BMDW) потенциальные доноры не были выявлены, что послужило основанием для проведения данного исследования.

Материалы и методы: Проведён анализ распределения и относительной частоты гаплотипов и отдельных генов HLA I и II класса в локусах HLA –A*, -B*, -DRB1* в группе реципиентов, потенциальных доноров Международного регистра (BMDW) и потенциальных доноров локальной базы потенциальных доноров СПбГМУ. HLA-

типирование пациентов проводилось в лаборатории тканевого типирования ИДГиТ им. Р.М.Горбачёвой СПбГМУ методом SSP с использованием реактивов Protrans.

Результаты: При определении частоты отдельных генов и гаплотипов в анализируемых группах было выявлено, что российские доноры и реципиенты совпадают по частоте отдельных гаплотипов (A26-B44;A03-B41;A30-B51;A02-B49;A33-B18;A11-B18;A26-B27;A24-B22;A23-B15;A03-B55;A03-B37;A31-B27;A26-B07). Этой тенденции не наблюдалось при сравнении с донорами, зарегистрированными в BMDW.

Выводы: Получены данные по распространенности вариантов высокополиморфных генов главного комплекса гистосовместимости на территории Российской Федерации.

АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.

Афанасьев Б.В., Зубаровская Л.С., Станчева Н.В., Семенова Е.В.

Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им.
акад. И.П.Павлова

197089 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6/8 Тел.: (812) 233-4473, факс (812) 232-4649, e-mail: bmt@spmu.rssi.ru Институт
детской гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – один из эффективных методов лечения врожденных и наследственных заболеваний у детей, протекающих с поражением кроветворной и иммунной систем, при этом более чем у 60% пациентов удается достичь полного излечения. В ИДГиТ им. Р.М. Горбачевой с 05.2005 г. по 10.2009 г. неродственная алло-ТГСК выполнена у 9 пациентов со следующими заболеваниями: болезни накопления (БН)–3, остеопетроз–1, анемии Фанкони (аФ)–1, Блекфана–Даймонда (аБД)–1, синдром Вискотта–Олдрича (СВО)–1, синдром Костмана (сК)–2; средний возраст–3,6 лет (1–14 лет). Перед алло-ТГСК с целью верификации мутации для диагностики заболевания применяли молекулярно-биологические методы исследования для аФ генов FANC, аденолейкодистрофии–мутации ABCD, болезни Краббе–мутации GALC, метахроматической лейкодистрофии (МЛД)–мутации ARSA, СВО–мутации WASP, остеопетроза–мутации TCIRG1, CLCN7, OSTM1 TNFRSF11A, сК–мутации ELA, HAX1, CSF3R, аБД–мутации RPS. В качестве подготовки использовали миелоаблативный режим кондиционирования (МАК)–2, немиелоаблативный (неМАК)–7 пациентов. Профилактика острой реакции «трансплантат-против-хозяина» (oPTПХ)–циклоsporин

А с Д-1, метотрексат 10 мг/м² Д+1, +3, +6. Периферические стволовые клетки крови использованы у 7, костный мозг у 2 пациентов.

Результаты: 3-летняя общая выживаемость (ОВ) составила 72%, из них 6 пациентов живы без признаков заболевания, в том числе с регрессом остеомиелосклероза у ребенка с остеопетрозом, срок наблюдения 36-59 месяцев. Причины смерти – оРТПХ, IV ст. –1, прогрессия заболевания при МЛД–1 пациент.

Выводы: алло ТГСК – эффективный метод лечения генетических заболеваний у детей. Для ранней постановки диагноза и своевременного проведения алло-ТГСК необходимо внедрение генетических методов исследования, в том числе с пренатальной диагностикой у семей, имеющих высокий риск рождения ребенка с наследственным или врожденным заболеванием.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *CYP1A1*, *CYP1B1* И *CYP19A1* ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Бабенко А.С., Синелёв В.А., Свирид А.В., Денчук Л.Н., Боровицкий Д.И.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси
Республика Беларусь 220141, Минск, ул. Купревича, 5 к. 2
Тел.: +375 017 2637188, моб.: +375 029 3565795 (Velcom), e-mail:
babenko@iboch.bas-net.by

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) является клональным миелопролиферативным расстройством, характеризующимся повышенным уровнем пролиферации и увеличенной продолжительностью жизни кроветворных стволовых клеток, снижением апоптоза и изменением свойств адгезии клеток [1]. Большинство случаев развития ХМЛ связывают с транслокацией, приводящей к образованию химерного белка BCR/ABL. Известно, что полиморфизм гена *CYP1A1* может свидетельствовать о повышенном риске развития этого заболевания [2]. Гены *CYP3A4* и *CYP2D6* влияют на метаболизм ингибиторов тирозин киназы BCR/ABL [3].

Целью работы явилось изучение уровня экспрессии генов *CYP1A1*, *CYP1B1*, *CYP19A1*, принимающих участие в развитии ХМЛ, в 100 образцах кДНК, полученных из пунктата костного мозга больных ХМЛ. Для оценки уровня экспрессии был использован метод ПЦР в реальном времени. Референсные образцы – кДНК из клеточных линий ХМЛ (k562).

Установлена корреляция между уровнем экспрессии генов *CYP1B1* и *CYP1A1* ($R^2 = 0.561$, $P < 0.01$), *CYP19A1* и *CYP1B1* ($R^2 = 0.438$, $P < 0.01$), *CYP19A1* и *CYP1A1* ($R^2 =$

0.671, $P < 0.01$). В 20% случаев уровни экспрессии CYP1B1, CYP1A1 и CYP19A1 превышают таковые в референсных образцах в 2 и более раза.

Список литературы

1. Samassekou O. et al. // Neoplasia. – 2009. – Vol. 11. – P. 1146–1154.
2. Taspinar M. et al. // Swiss Med Wkly. – 2008. – Vol. 138. – P. 12–17.
3. Deremer D.L. et al. // Clin Ther. – 2008. – Vol. 30, №11. – P. 1956-75.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ПАРАМЕТРОВ
ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У РЕЦИПИЕНТОВ
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

Вавилов В.Н., Акимова А.В., Бархатов И.М., Ширяев С.Н., Афанасьев Б.В.

Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им.
акад. И.П.Павлова
197089 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6/8

Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой

Среди патогенов, вызывающих инфекционные осложнения у пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), одно из важнейших мест в структуре посттрансплантационной заболеваемости и смертности занимают осложнения, обусловленные цитомегаловирусом. В то же время, в силу широкого спектра побочных действий противовирусных препаратов, является актуальным подбор адекватной стратегии терапии как в зависимости от вирусной нагрузки, так и от серологического статуса донора и реципиента, что может быть достигнуто на основе мониторинга цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) методом ПЦР.

Целью нашего исследования явилось определение клинически значимых параметров ЦМВИ с помощью измерения уровней и динамики вирусной нагрузки (ВН) методом количественной ПЦР в реальном времени для выбора оптимальных схем противовирусного лечения и профилактики.

В ходе работы были проанализированы образцы крови и костного мозга 96 пациентов, перенесших аллогенную ТГСК. Результаты исследований позволили сформулировать следующие выводы:

1. Анализ плазмы менее чувствителен, чем анализ лейкоцитов периферической крови или костного мозга, однако необходим при мониторинге инфекции в период цитопении.
2. Поздняя реактивация ЦМВИ происходит значительно реже, чем ранняя.

3. Мониторинг развития инфекции позволяет оптимально подбирать схемы противовирусного лечения.

4. Высокий уровень ВН чаще всего отмечается после неродственно трансплантации ГСК, миелоаблативного режима кондиционирования, при комбинации серологического статуса реципиент / донор +/-.

5. Высокий уровень ВН увеличивает частоту и тяжесть инфекционных проявлений и реакции

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ГЕМОБЛАСТОЗОВ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Джумагазиева Д.С., Бородулин В.Б., Царёва О.Е.

ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава»

Тел. моб.: 89033283793, e-mail: Jana7@bk.ru

Проведен анализ лабораторных данных 64 пациентов с диагнозом ХМЛ и 17 детей с ОЛЛ, находившихся на лечении в клинике профпатологии и гематологии СГМУ с 2007 по 2010 гг. Проанализированы кариотипы костного мозга у 97 пациентов с ХМЛ, у всех пациентов была выявлена Ph-хромосома, из них у 5 (7,8%) пациентов наблюдались дополнительные aberrации хромосом. У 4-х пациентов с отсутствием митозов при стандартном цитогенетическом обследовании проводили флуоресцентную *in situ* гибридизацию хромосом (FISH) с ДНК зондом к слитному гену BCR-ABL. У 22 пациентов (34,4%) цитогенетическое обследование проводилось в динамике. На фоне проводимой терапии полная цитогенетическая ремиссия была достигнута у 9 (14,1%) пациентов, частичная ремиссия у 5 (7,8%), минимальный ответ у 7 (10,9%) и отсутствие ответа наблюдалось у 1 (1,6%) пациента. Пациентам с полным цитогенетическим ответом проводилось исследование клеток периферической крови с помощью количественной ПЦР на транскрипт BCR-ABL, полный молекулярный ответ был получен у 5 пациентов. Проведение молекулярно-генетического мониторинга уровня экспрессии гена *BCR-ABL* целесообразно у пациентов с ХМЛ с полным цитогенетическим ответом. При исследовании кариотипов 11 детей с ОЛЛ в 4-х случаях (36,4%) обнаружены числовые аномалии хромосом, в 4-х случаях (36,4%) выявлены структурные перестройки кариотипа, и в 3-х случаях (27,2%) кариотип был нормальным. При обследовании пациентов с помощью биологических микрочипов «ЛК Биочип» анализировались t(12;21)TEL/AML1, t(9;22)p190BCR/ABL, t(1;19)E2A/PBX, t(8;21)AML1/ETO, t(15;17)PML/RARA, inv(16)CBFB/MYH11, t(4;11)MLL/AF4,

t(9;11)MLL/AF9, t(11;19) MLL/ENL, t(11;19)MLL/ELL, t(6;11)MLL/AF6, t(10;11)MLL/AF10, t(9;22)p210BCR/ABL. Было выявлено отсутствие данных перестроек у 1 пациента, при цитогенетическом обследовании были выявлены численные изменения в кариотипе. У 1 пациента выявлена транслокация (12;21), которая не была идентифицирована при цитогенетическом анализе, возможно в связи с минимальным клеточным клоном данной перестройки, так как чувствительность цитогенетического метода 1:100, а чувствительность анализа, проводимого с помощью биочипов, 1:10000. У 1 пациента была выявлена t(8;21), что полностью совпало с традиционным цитогенетическим анализом. Наиболее оправдано использовать в диагностике ОЛЛ стандартный цитогенетический метод и молекулярно генетические исследования в комплексе.

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

***Загрина М.В.^{1,2}, Badbaran A.², Fehse B.², Kröger N.², Zander A.R.², Бархатов
И. М.¹, Дарская Е.¹, Афанасьев Б.В.¹***

¹Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой
ГОУ ВПО СПбГМУ им. академика И.П. Павлова

²Центр трансплантации костного мозга Университетской клиники Эппендорф, г.
Гамбург (Германия)

197089 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6/8
Тел.: (812) 233-4473, факс (812) 232-4649, e-mail: bmt@spmu.rssi.ru

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) при терапии множественной миеломы (ММ) сопровождается снижением опухолевой массы. В связи с этим представляется актуальной разработка чувствительных и специфичных методов мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ), основанных на детекции клональной перестройки гена IgH. В связи с реконституцией донорского гемопоэза в ряде случаев результаты исследования могут оказаться неспецифичными из-за появления последовательности IgH, сходной с IgH миеломного клона. Нами разработан алгоритм индивидуального подбора специфичных тест-систем, минимизирующий трудоемкость анализа. Алгоритм предусматривает:

- сравнение нуклеотидной последовательности клональной перестройки IgH как с герминальными V, D и J последовательностями, так и с рекомбинированными генами IgH;

- индивидуальные отличия и мутации на 3` конце праймеров; - индивидуальная температура отжига праймеров выше теоретической;
- тестирование праймеров на специфичность не менее чем с 10-20 контрольными ДНК;
- выполнение мониторинга МОБ после завершения активной регенерации.

Подобраны опухоле-специфичные тест-системы: для качественного ПЦР (13 пациентов); для количественного ПЦР (4 пациента).

Подтверждена высокая специфичность и чувствительность разработанного метода исследования, результаты оценки МОБ сопоставимы с данными многоцветного FACS-анализа.

**ИССЛЕДОВАНИЕ СОЧЕТАННОЙ ЭКСПРЕССИИ ОНКОПРОТЕИНОВ С-МУС
И p53 ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ НЕХОДЖКИНСКИХ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЛИМФОМ**

***Ковынев И.Б., Поспелова Т.И., Скворцова Н.В., Лямкина А.С., Воропаева Е.Н.,
Березина О.В., Тарновский Р.В.***

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального
образования «Новосибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения и социального развития РФ
Новосибирск

Современный этап развития онкогематологии тесно связан с поиском ключевых белков туморогенеза и разработкой противоопухолевых препаратов, использующих эти протеины в качестве мишеней. Канцерогенез неходжкинских злокачественных лимфом (НХЗЛ) связан с протеинами, контролирующими пролиферацию и апоптоз лимфоидных клеток. К их числу относится белок p-53 и онкопротеин с-мус.

Цель работы: Изучение частоты гиперэкспрессии протеина с-мус и мутантной формы p-53 при НХЗЛ и определение взаимных корреляций этой экспрессии для обоих протеинов.

Исследованы 896 больных НХЗЛ. Использован метод иммуноцитохимии с моноклональными антителами против антигена p-53 (DO7) и против с-мус (9E1, ДАКО). Всего изучены более 1 200 мазков-отпечатков биопсированных лимфоузлов и пунктатов костного мозга.

Результаты: При агрессивных НХЗЛ выявлен высокий уровень позитивных клеток, экспрессирующих p53 и онкопротеин с-мус (38,7±3,8% и 40,4±5,4% соответственно). Индолентные лимфомы демонстрировали умеренную экспрессию (p53 - 14,6±2,8%, с-мус - 5,4±1,7%). При высоко-агрессивных НХЗЛ экспрессия

маркеров была максимальной ($67,8 \pm 2,6\%$ и $68,8 \pm 3,5\%$ соответственно). Индекс корреляции Пирсона между *tp-53* и *c-myc* оказался высоким и составил (+) 0,86.

Таким образом, выявлена высокая частота коэкспрессии мутантной формы *p53* и *c-myc*. Данные исследования позволяют выделить эти маркеры в качестве возможных молекулярно-биологических мишеней для разработки новых препаратов для таргетной противоопухолевой терапии неходжкинских лимфом.

**ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МУТАЦИЙ ГЕНОВ *FLT3* И *NPM1*
У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ,
МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И СМЕШАННЫМИ
МИЕЛОИДНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

**Мартынкевич И.С., Грицаев С.В., Москаленко М.В., Аксенова В.Ю.,
Иванова М.П., Мартыненко Л.С., Цыбакова Н.Ю., Абдулкадыров К.М.**

ФГУ Российский НИИ Гематологии и Трансфузиологии
193024 Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, дом 16
Тел./факс: +7(812)717-4466, e-mail: genetics.spb@mail.ru

В формировании биологического фенотипа лейкозных клеток помимо хромосомных aberrаций и эпигенетических нарушений непосредственное участие принимают и повреждения генов. Именно этим обоснованы попытки использовать мутации и нарушения экспрессии генов в качестве критериев для выделения в рамках общепринятых морфологических и/или цитогенетических вариантов более однородных по прогнозу и ответу на лечение групп больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) и миелодиспластическим синдромом (МДС). Целью данной работы было изучить характер и особенности встречаемости мутаций ITD и TKD в гене *FLT3* и мутации в гене *NPM1* среди больных ОМЛ и МДС.

Для осуществления поставленной цели исследованы клетки костного мозга 43 больных ОМЛ в период с 2005 по 2009 гг. У 40 больных (93,0%) верифицирован *de novo* ОМЛ и у 3 (7,0%) – вторичный, вследствие ранее проведенной цитостатической терапии по поводу онкологических заболеваний разной локализации. Мутации обнаружены у 16 из 43 обследованных больных (37,2%). Всего выявлено 19 мутаций: 8 *FLT3*-ITD, 5 *FLT3*-TKD и 6 в гене *NPM1*. У 13 больных (30,2%) мутации генов были одиночными: у 6 больных - *FLT3*-ITD (13,9%), у 4 - *FLT3*-TKD (9,3%) и у 3 - *NPM1* (7,0%). А у трёх больных (7,0%) выявлены сочетанные мутации (две мутации одновременно): у двоих пациентов в гене *NPM1* и *FLT3*-ITD (4,7%) и у одного - в гене

NPM1 и *FLT3*-TKD (2,3%). Мутации ITD и TKD в гене *FLT3* и мутации в гене *NPM1* отсутствовали у больных ОМЛ с кариотипом низкого риска. Наибольшее число мутаций выявлено в группе больных с кариотипом промежуточного риска – у 12 из 25 (48,0%). У 10 больных была обнаружена одиночная мутация (5 *FLT3*-ITD, 2 *FLT3*-TKD и 3 в гене *NPM1*) и у 2 – сочетанные мутации *FLT3*-ITD или *FLT3*-TKD и в гене *NPM1*. Среди 15 больных с неблагоприятными цитогенетическими аберрациями мутации выявлены у 4 больных (26,7%), а именно у 3 из 9 с множественными хромосомными поломками (33,3%) и у 1 - с t(8;21);(del)(9q). Одиночная мутация выявлена у 3 больных (1 *FLT3*-ITD, 2 *FLT3*-TKD) и у одного - обнаружены сочетанные мутации - *FLT3*-ITD и в гене *NPM1*. По результатам однофакторного анализа было выявлено негативное влияние мутации *FLT3*-ITD на показатели бессобытийной выживаемости больных с нормальным кариотипом; $p=0,013$. Что касается общей выживаемости, то установлена тенденция к ухудшению выживаемости больных с генотипом $FLT3\text{-ITD}^+/NPM1^-$; $p=0,076$. Полученные результаты в совокупности с данными литературы позволяют выделять больных с генотипом $FLT3\text{-ITD}^+/NPM1^-$ из общего состава ОМЛ с нормальным кариотипом. Эту категорию больных целесообразно относить к группе высокого риска, так же как и больных с множественными цитогенетическими аберрациями и моносомным кариотипом.

Также исследованы 44 больных с МДС. Среди больных было 19 (43,2%) мужчин и 25 (56,8%) женщин, медиана возраста которых составила 67 лет (35-76). В соответствии с критериями классификации ВОЗ выделены следующие варианты МДС: 4 пациентов с рефрактерной анемией (РА; 9,1%), 1 - с рефрактерной анемией с кольцевыми сидеробластами (РАКС; 2,3%), 1 — с 5q- синдромом (2,3%), 9 — с рефрактерной цитопенией с мультилинейной дисплазией (РЦМД; 20,5%), 24 - с рефрактерной анемией с избытком бластов (РАИБ; 54,5%). У 3 больных, ранее получавших цитостатическую терапию в связи с онкологическими заболеваниями разной локализации, верифицирован вторичный МДС. Среди 5 больных МДС/МПЗ (11,4%) у 4 выявлен хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММОЛ) и у 1 – неклассифицируемый вариант.

Для определения мутаций в генах *FLT3*-ITD и *NPM1* использован метод полимеразной цепной реакции тотальной геномной ДНК. У 7 из 44 обследованных пациентов (15,9%) обнаружено 8 мутаций: две *FLT3*-ITD, одна *FLT3*-TKD и пять в гене *NPM1*. Это больные с de novo МДС. Повреждений в генах *FLT3* и *NPM1* у больных вторичным МДС и МДС/МПЗ выявлено не было. У 6 пациентов обнаружена

экспрессия одной из трех изученных мутаций: в гене *NPM1* у 4 больных (9,1%) и *FLT3*-ITD у 2 больных (4,5%). У одного пациента (2,3%) выявлены 2 мутации одновременно (сочетанные мутации): в гене *NPM1* и *FLT3*-TKD. Мутация *FLT3*-ITD обнаружена у 2 больных с бластозом в костном мозге. Количество больных МДС с мутацией *FLT3*-ITD увеличивалось в группах с неблагоприятным морфологическим вариантом: 0% - с РА и РАКС; 2,4% - с РАИБ и 8% - с РАИБ-Т.

Эти данные, в совокупности с обнаружением мутации *FLT3*-ITD у части больных при трансформации в ОМЛ, послужили основанием для предположения о непосредственном участии мутации *FLT3*-ITD в прогрессии МДС. Подтверждением может быть и более частое обнаружение структурных перестроек гена *FLT3* у больных ОМЛ, развившегося из предшествующего МДС. Обнаружение мутаций у 7 из 44 обследованных больных соответствует результатам других исследований и подтверждает факт небольшой частоты структурных перестроек в генах *FLT3* и *NPM1* у больных МДС и МДС/МПЗ.

Следовательно, проведенное нами исследование подтверждает тенденцию к снижению риска прогрессии МДС и ОМЛ у больных с мутацией в гене *NPM1*. Кроме того, уже сейчас очевидно, что выявление мутаций в генах *FLT3* и *NPM1* позволяет не только формировать более однородные по прогнозу группы больных, но и выделять потенциальных кандидатов на проведение целенаправленной терапии.

**МУТАЦИЯ V617F В ГЕНЕ JAK2 У БОЛЬНЫХ
МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ И
ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ**

*Москаленко М.В.¹, Мартынкевич И.С.¹, Аксенова В.Ю.¹, Мартыненко Л.С.¹,
Иванова М.П.¹, Цыбакова Н.Ю.¹, Удальева В.Ю.¹, Усачева Е.И.¹, Карягина Е.В.²,
Шнейдер Т.В.³, Абдулкадыров К.М.¹*

¹ ФГУ Российский НИИ Гематологии и Трансфузиологии, Санкт-Петербург ²
Городская больница №15, Санкт-Петербург

³ Ленинградская областная больница, Санкт-Петербург

Открытие мутации V617F в гене *JAK2* – главное достижение в понимании молекулярных механизмов патогенеза хронических миелопролиферативных заболеваний (ХМПЗ). Согласно сообщениям различных авторов частота данной мутации варьирует и определяется у 65–97% больных истинной полицитемией (ИП), у 32–57% пациентов с эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ) и у 35–57% больных хроническим идиопатическим миелофиброзом (ХИМФ).

Целью настоящего исследования являлось определение частоты данной мутации у больных ХМПЗ Санкт-Петербурга и Ленинградской области. В исследование включены 307 пациентов (178 женщин и 129 мужчин), обследованных с сентября 2007 года по декабрь 2009 года. Из них 67 больных ИП, 56 пациентов – с диагнозом ЭТ, 44 больных – с ХИМФ и 140 обследованных пациентов с целью дифференциальной диагностики ХМПЗ с непролиферативными заболеваниями системы крови. Средний возраст больных составил 52 года (от 38 до 67 лет). До обследования больные не получали специфической терапии. В группе пациентов с ИП мутация V617F в гене JAK2 определялась у 56 больных из 67 обследованных, что составило 83,6%. При ЭТ мутация выявлялась в 46,4% исследованных пациентов (у 26 из 56). Частота мутации JAK2 V617F в группе больных с ХИМФ составила 47,7% и определялась у 21 пациента из 44 обследованных. А в группе первичных пациентов обследуемых с целью дифференциальной диагностики ХМПЗ с непролиферативными заболеваниями системы крови мутация выявлялась у 12 больных из 140, что соответствует 8,6%. У 127 (41,4%) больных из 307 обследованных был выполнен цитогенетический анализ клеток костного мозга. У 121 из 127 (95,3%) пациента определен нормальный кариотип. А у 6 из 127 (4,7%) больных выявлялись клональные хромосомные аберрации: у 2 – комплексный кариотип, а у 4 пациентов изолированные аномалии: del(13)(q22), del(Y)(q12), del(3)(p13), del(20)(q12).

Таким образом, полученные в ходе нашего исследования результаты распространенности мутации V617F в гене JAK2 у больных с различными вариантами ХМПЗ Санкт-Петербурга и Ленинградской области соответствуют литературным данным, а определение этой мутации может служить дополнительным диагностическим маркером у пациентов с хроническими миелопролиферативными заболеваниями.

**ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ЧЕРТЫ РЕДКИХ ФОРМ
ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ**

***Никитин В.Ю., Сухина И.А., Новицкий А.В., Ширина И.В.,
Иванов А.М., Вершинина М.Г.***

Военно-Медицинская академия им. С.М. Кирова
Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6 Тел.:
(812) 292-3296

Острый эритромиелоз (вариант ОМЛ-М6) составляет 3-4% случаев ОМЛ, а частота острого мегакариобластного лейкоза (вариант ОМЛ-М7) составляет менее 1%.

Имунофенотипирование при ОМЛ-М6 проводят в сложных диагностических случаях для уточнения диагноза. Морфологический диагноз варианта ОМЛ-М7 затруднителен. Только иммунофенотипирование позволяет установить мегакариоцитарную дифференцировку бластов и провести дифференциальную диагностику с другими вариантами ОМЛ и острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ).

Цель: Установление диагноза и выявление иммунофенотипических особенностей М6 и М7 вариантов ОМЛ.

Материалы: Проведен иммунофенотипический анализ костного мозга у больных, имеющих предварительный диагноз острый миелоидный лейкоз.

Методы: Иммунофенотипирование клеток выполнено на проточном цитометре «Cytomics FC500» фирмы «Beckman Coulter» США. Использованы следующие комбинации прямых моноклональных антител той же фирмы: CD45/CD14, IgG1/IgG2/CD45, CD5/CD7/CD45, CD10/CD20/CD45, CD34/CD117/CD45, CD13/CD33/CD45, CD16+56/CD45, CD3/CD19/CD45, HLA-DR/CD11b/CD45, HLA-DR/CD11c/CD45, CD65/CD4/CD45, CD36/CD2/CD45, CD61/CD235a, cyTdT, cyMPO.

Результаты: Особенности иммунофенотипа бластных клеток у больных острым эритромиелозом (ОМЛ-М6): на опухолевых клетках, расположенных в бластном окне, наблюдалась высокая степень экспрессии эритроидного антигена CD235a (гликофорин А), что свидетельствовало об их эритробластной природе. На поверхности эритробластов, также были обнаружены антигены CD36, CD13. У некоторых больных лейкозные клетки экспрессировали антиген CD16+56⁺. При преобладании в бластном гейте ранних эритроидных предшественников для эритробластов характерен иммунофенотип CD34⁺HLA-DR⁺CD38⁺CD71⁺. При этом возможна экспрессия CD7. В обследованных нами случаях, маркеры ранней дифференцировки CD34, HLA-DR, CD38, а также CD7 на бластных клетках отсутствовали.

Бластные клетки в случаях ОМЛ-М7 экспрессировали тромбоцитарный антиген CD61 (или CD41a, CD42b). В большинстве случаев лейкозные клетки были позитивны по экспрессии миелоидных антигенов CD13, CD33, CD117. Отмечалась также экспрессия антигенов CD34, HLA-DR, CD38, CD7, CD71, CD11b. При варианте ОМЛ-М7 бластные клетки обычно негативны по экспрессии цитоплазматической МПО (cyMPO), что и наблюдалось в обследованных нами случаях. От ранних вариантов В-ОЛЛ этот вариант миелоидного острого лейкоза можно отличить на основании отсутствия экспрессии антигенов CD19 и CD10. Наличие гомогенной экспрессии

тромбоцитарного антигена CD61 позволяет подтвердить окончательный диагноз варианта ОМЛ-М7.

**ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ В ДИАГНОСТИКЕ
ХРОНИЧЕСКИХ В-ЛИМФОЦИТАРНЫХ ЛЕЙКОЗОВ/НЕХОДЖКИНСКИХ
ЛИМФОМ**

Новицкий А.В., Сухина И.А., Никитин В.Ю., Иванов А.М., Елисеева М.И.

Военно-Медицинская академия им. С.М. Кирова
Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6 Тел.:
(812) 292-3296

Проточная цитометрия является одним из самых важных и перспективных методов в диагностике лимфопролиферативных заболеваний (ЛПЗ). В настоящее время ещё не получено достаточно материала для принятия единых иммунофенотипических критериев в диагностике внутри данной группы заболеваний.

Цель: Выявить иммунофенотипические особенности различных В-клеточных лимфоидных опухолей и провести дифференциальную диагностику внутри данной группы заболеваний.

Материалы и методы: Обследован костный мозг 48 пациентов, имеющих предварительный диагноз хронический лейкоз/лимфома в фазе лейкемизации. Иммунофенотипирование клеток костного мозга выполнено на проточном цитометре «Cytomics FC500» фирмы «Beckman Coulter» США с применением следующих комбинаций моноклональных антител той же фирмы: CD3/CD19/CD45, SmIgκ/SmIgλ/CD19, CD5/CD23/CD19, CD103/CD11c/CD19, FMC7/CD24/CD19, CD22/CD79b/CD19, CD25/CD38/CD19, CD10/CD20/CD19, cyTdT/CD19.

Результаты: При иммунофенотипическом исследовании клеток костного мозга во всех случаях обнаружена высокая экспрессия CD19. У 37 пациентов наблюдалась выраженная экспрессия антигенов CD5 и CD23 на CD19 лимфоцитах, низкая плотность экспрессии легких κ/λ-цепей Ig на поверхности В-клеток, позитивность по CD24, CD25, слабая экспрессия CD20, CD22, CD79b и отсутствие экспрессии с маркерами CD103, FMC7 и CD11c, на основании чего был поставлен диагноз В-ХЛЛ. При В-ХЛЛ наличие экспрессии антигена CD38, более чем на 20% CD19⁺CD5⁺ клеток, ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом течения заболевания. Тогда как у других хронических лимфоидных опухолей такой ассоциации не наблюдалось. У 1 пациента при наличии высокой плотности поверхностной легкой κ-цепи Ig и экспрессии CD5, CD20, CD22,

CD24, окрашивание по антигенам FMC7 и CD11c также было позитивным, что позволило поставить иммунофенотипический диагноз – В-ПЛЛ. В 4 случаях клетки костного мозга экспрессировали поверхностные легкие κ/λ -цепи Ig, CD20, CD22, CD25, CD103, CD11c, но не экспрессировали CD5, CD23 и CD24. Этим больным был поставлен диагноз ВКЛ. У 5 больных иммунофенотип характеризовался сильной или нормальной плотностью экспрессии легкой κ/λ -цепи Ig, был позитивен по CD20, CD22, CD24, FMC7 и негативен по CD5 и CD23, на основании чего был поставлен диагноз ЛСВЛ. У больной с ЛБ лимфоциты костного мозга, в отличие от других типов В-клеточных ЛПЗ, были высокопозитивны по CD10, а по сравнению с вариантами В-ОЛЛ были негативны по cyTdT . Опухолевые клетки ЛБ также экспрессировали поверхностную легкую κ -цепь Ig и CD20. В результате исследования для большинства случаев были установлены характерные иммунофенотипические черты изученных форм ЛПЗ.

В-ХЛЛ: $\text{SmIg}_{\kappa/\lambda}^{\text{dim}+} / \text{CD19}^+ / \text{CD5}^+ / \text{CD23}^+ / \text{CD20}^{\text{dim}+} / \text{CD22}^{\text{dim}+} / \text{CD79b}^{\text{dim}+} / \text{CD24}^+ / \text{CD25}^+ / \text{CD38}^{\pm} / \text{FMC7}^- / \text{CD103}^- / \text{CD11c}^-$;

В-ПЛЛ: $\text{SmIg}_{\kappa}^{\text{bright}+} / \text{CD19}^+ / \text{CD5}^+ / \text{CD23}^- / \text{CD20}^{\text{bright}+} / \text{CD22}^{\text{bright}+} / \text{CD24}^+ / \text{FMC7}^+ / \text{CD103}^- / \text{CD11c}^+$;

ВКЛ: $\text{SmIg}_{\kappa/\lambda}^+ / \text{CD19}^+ / \text{CD5}^- / \text{CD23}^- / \text{CD20}^{\text{bright}+} / \text{CD22}^{\text{bright}+} / \text{CD25}^+ / \text{CD24}^- / \text{FMC7}^+ / \text{CD103}^+ / \text{CD11c}^+$;

ЛСВЛ: $\text{SmIg}_{\kappa/\lambda}^+ / \text{CD19}^+ / \text{CD5}^- / \text{CD23}^- / \text{CD20}^+ / \text{CD22}^{\text{bright}+} / \text{CD24}^+ / \text{FMC7}^+ / \text{CD103}^- / \text{CD11c}^{\text{dim}+}$;

ЛБ: $\text{SmIg}_{\kappa}^+ / \text{CD19}^+ / \text{CD10}^+ / \text{CD20}^+ / \text{TdT}^-$.

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ И ГРИБКОВЫХ
ИНФЕКЦИЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ
КЛЕТОК**

**Панкратова О.С., Чухловин А.Б., Эйсмонт Ю.А., Ширяев С.Н., Зубаровская Л.С.,
Афанасьев Б.В.**

Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им.
акад. И.П.Павлова 197089 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6/8
Тел.: (812) 233-4473, факс (812) 232-4649, e-mail: alexei.chukh@mail.ru
Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой

Цитостатическая кондиционирующая терапия с последующей трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) сопровождается развитием тяжелого иммунодефицита, что часто приводит к различным инфекционным осложнениями в раннем посттрансплантационном периоде. Наиболее опасным в этом периоде считается

реактивация цитомегаловируса, обладающего миелодепрессивными свойствами. Целью нашего исследования был анализ частоты реактивации различных герпесвирусов и ряда других оппортунистических патогенов в раннем посттрансплантационном периоде. *Материалы и методы.* В НИИДиГ им. Р.М.Горбачевой проходили обследование и лечение 143 больных с различными онкогематологическими заболеваниями, в т.ч. ОЛЛ (n=51), ОМЛ (n=37), ХМЛ (n=15), лимфомами (n=9), МДС (n=6). Пациентам проводилась аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Больным трансплантировали костный мозг (35%) или периферические стволовые клетки (65%). Неродственные ТГСК проводились в 64% случаев. Детекция ДНК цитомегаловируса (ЦМВ), вируса простого герпеса (ВПГ) и вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), а также токсоплазмы и *Candida albicans* проводилась в лейкоцитах периферической крови и костного мозга с помощью стандартного клинического метода геноспецифической ПЦР (диагностические наборы фирмы «Интерлабсервис») еженедельно до 100 сут. после ТГСК. Оценивали выраженность оРТПХ, регистрировали другие осложнения, не связанные с основным злокачественным заболеванием (пневмонии, неврологические нарушения, мукозиты, циститы). *Результаты.* ВПГ, ЦМВ и ЭБВ выявлялись в клетках крови после ТГСК, соответственно, в 51%, 57% и 45% случаев (в 2,3-2,5 раза чаще, чем до пересадки). Эти соотношения не зависели от характера основного заболевания, длительности предшествующего лечения, пола больных и типа трансплантата. В то же время частота выявления ВПГ и ЦМВ зависела от возраста больных, при минимальной частоте выявления в группе 1-4 года и возрастанием к 10-20 годам. Среди больных молодых возрастов (младше 21 года.) была найдена корреляция между неврологическими симптомами и повторным выявлением ВПГ ($P=0,002$). Кроме того, тяжесть мукозита была связана с персистенцией ВПГ или ЦМВ ($P=0,02$ или $0,008$). Обращает на себя внимание выраженная корреляция между индивидуальной встречаемостью ЦМВ и ВПГ, а также ЦМВ и ЭБВ, что предполагает наличие коинфекций. Риск развития кишечной формы острой РТПХ и частота посттрансплантационного геморрагического цистита также коррелировали с активацией ВЭБ ($P=0,01$).

Помимо стандартной панели ПЦР-тестов, нами внедрен метод определения вирусов полиомы (ВК, JC) в клетках мочевых осадков. Экскреция вируса полиомы и его выявление в крови, особенно в целом, коррелирует с клиническими проявлениями геморрагических циститов и других поражений мочевыводящей системы после трансплантации. Наряду с этим, нами разработан набор ДНК-зондов, специфичных в

отношении 4 основных видов патогенных грибов рода *Aspergillus* и выявлена высокая чувствительность родоспецифической диагностики аспергиллеза (анализ ДНК из бронхоальвеолярных смывов, крови и других видов биоматериала от трансплантационных больных). Дальнейшее расширение спектра диагностируемых инфекционных патогенов, в частности, ПЦР-диагностика парвовируса В19, аденовирусов, коронавирусов, грибов рода *Zygomycetes* и др. после ТГСК позволит проводить более специфичную антиинфекционную терапию.

ПЕРЕСТРОЙКИ ГЕНА *MLL* У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ

**Цаур Г.А.^{1,2}, Попов А.М.^{1,2,3}, Наседкина Т.В.⁴, Кустанович А.М.⁵,
Каленник О.В.⁴, Ковалев С.Ю.⁶, Ригер Т.О.^{1,2}, Семенихина Е.Р.^{1,2},
Иванова А.С.^{1,2,3}, Яковлева Ю.А.^{1,2,3}, Друй А.Е.^{1,3}, Шориков Е.В.^{1,2},
Стренева О.В.^{1,2}, Плеханова О.М.¹, Стригалева М.В.¹, Алейникова О.В.⁵,
Meyer C.⁷, Marschalek R.⁷, Савельев Л.И.^{1,2,3}, Л.Г.Фечина^{1,2}**

¹ Областная детская клиническая больница №1
620149 Екатеринбург, С. Дерябиной, 32

² Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург

³ Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург

⁴ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

⁵ Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии, Минск, Беларусь

⁶ Уральский государственный университет, Екатеринбург,

⁷ Diagnostic center of Acute Leukemias (DCAL), Wolfgang Goete University, Frankfurt/Main, Germany

Обследованы 154 пациента в возрасте от 0 до 24 месяцев с острыми лейкозами с использованием методов флуоресцентной гибридизации *in situ*, ПЦР, длинной инвертированной ПЦР и секвенирования. Перестройки гена *MLL* выявлены у 81 пациента (52,6%). Среди выявленных перестроек *MLL-AF4* был обнаружен у 43 чел (53,1%), *MLL-MLLT1* – у 15 (18,5%), *MLL-MLLT10* – у 9 (11,1%), *MLL-MLLT3* – у 5 (6,2%), *MLL-EPS15* – у 5 (6,2%), другие транслокации с участием *MLL* – у 4 (4,9%). Локализация точки разрыва в геномной ДНК определена у 23 пациентов. В гене *MLL* наиболее часто точка разрыва была выявлена в промежутке между 9 и 12 экзонами (20 случаев из 23). Не выявлено связи точки разрыва в гене *MLL* с возрастом, типом острого лейкоза (ОМЛ/ОЛЛ), развитием рецидива заболевания. Также проведена оценка скорости достижения молекулярной ремиссии у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом и перестройками гена *MLL*, получавших терапию по протоколу MLL-Baby. Определение химерного транскрипта проводили на 15-й, 36-й, 43-й дни терапии (точки наблюдения 1, 2, 3 (ТН1-ТН3)), а также во время

консолидации/интенсификации (ТН4-ТН9). Ретроспективно все пациенты были разделены на 2 группы. В первую группу — с быстрым достижением молекулярной ремиссии — вошли 14 пациентов, которые достигли молекулярной ремиссии к ТН4. В данной группе произошли 2 рецидива. Во вторую группу были отнесены 4 пациента, не достигших молекулярной ремиссии к ТН4. У пациентов второй группы были зафиксированы 3 рецидива (отношение шансов 18,00 95% ДИ: 1,19-271,47, $p=0,044$). 6-летняя бессобытийная выживаемость в первой группе составила $0,84\pm 0,10$, во второй — $0,25\pm 0,21$ ($p=0,023$). Кумулятивная вероятность развития рецидива в первой группе была $0,15\pm 0,01$, во второй — $0,75\pm 0,08$ ($p=0,022$). Время достижения молекулярной ремиссии не было связано с инициальными факторами риска ОЛЛ, а также ответом на терапию на 8, 15, 36 дни. Таким образом, особую ценность выявление перестроек гена *MLL* приобретает в свете того, что они представляют собой удобную мишень для мониторинга минимальной остаточной болезни методом ПЦР.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ АЛЛЕРГОЛОГИЯ, ПУЛЬМОНОЛОГИЯ

К ВОПРОСУ ОБ АССОЦИИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА NOS-1 В ФОРМИРОВАНИИ АТОПИИ У ДЕТЕЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

М.В. Вахарловская¹, М.А. Петрова¹, Т.Э. Иващенко²

¹ Лаборатория бронхиальной астмы НИИ пульмонологии СПбГМУ им.
акад. И.П.Павлова

² Лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных
заболеваний ИАГ им. Д.О.Отта РАМН

Тел.: 8-921-976-82-86, e-mail: vakharlovskaya@gmail.com

Бронхиальная астма (БА) – хроническое аллергическое воспаление дыхательных путей, сопровождающееся гиперреактивностью бронхов. В последние годы появляется все больше данных о способности оксида азота (NO) оказывать влияние на иммунную систему и воспалительный ответ. По данным генетических исследований выявлено, что ген *NOS 1* вовлечен в формирование бронхиальной гиперчувствительности при астме.

Наиболее изученный полиморфизм гена *NOS1*, представляющий собой наличие разного числа тринуклеотидных ААТ повторов в 20 интроне гена.

Известно, что полиморфизм гена *NOS1* <12 ассоциирован с повышенным образованием оксида азота в выдыхаемом воздухе, что может быть ассоциировано с развитием БА, и в частности гиперреактивности бронхов.

Задачей данной работы явилось исследование особенностей частот аллельного полиморфизма гена *NOS 1* у детей, рожденных от матерей, страдающих БА.

Под нашим наблюдением находились 88 детей с заведомо отягощенным по аллергии анамнезом. Матери этих детей страдают БА преимущественно аллергического генеза. Всем детям проводили молекулярно-генетический анализ полиморфизма гена *NOS 1*.

По данным молекулярно-генетического анализа были выявлены 2 группы детей, Первая группа, состоящая из 73-х детей, имела генотип по гену *NOS1* <12/- и вторая группа, состоящая из 15 детей, имела генотип >12/>12, что составило 83% и 17% соответственно.

Проявления атопических заболеваний к 5 годам наблюдались у 55 детей 1-ой группы (75%), а во второй группе у 9 детей (60%). БА к 5 годам сформировалась в 1-ой группе у 7 детей (27%), а во второй - всего у 2-х детей (13,3%).

Таким образом, у детей при носительстве аллеля <12 гена *NOS1* проявления атопических заболеваний встречаются несколько чаще, чем у детей с благоприятным генотипом (>12/>12). У детей с генотипом по гену *NOS1* <12/- БА отмечается в 2 раза чаще, чем в группе детей с >12/>12 генотипом. Принимая во внимание полученные данные, полагаем, что исследование полиморфизма гена *NOS1* может явиться генетическим маркером выделения детей в группу риска по формированию БА.

Список литературы:

Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». Второе издание. – М.: Издательский дом «Русский врач», 2006. – 100с.

Петровский Ф.И., Петровская Ю. А., Огородова Л.М., Серебров В.Ю. Цитокины и оксид азота при бронхиальной астме // Бюл. Сиб. мед. – 2002. – Т.1, №1. – С.70 – 74.

Косянкова Т.В., Пузырев К.В. Полиморфизм генов синтаз азота: исследование в сибирских популяциях и у больных с сердечно-сосудистой патологией // Бюл. СО РАМН. – 2003. - №1 (107). – С. 6 – 11.

Marsden P. A., Heng H. H. Q., Scherer S. W. at al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene // *J. Biol. Chem.* 1993. – Vol. 268. – P.17478 – 17488.

**АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ С3435Т ГЕНА МНОЖЕСТВЕННОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ (MDR1), R130Q ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 13
(IL13), 590 С/Т IL4 - МАРКЕРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ**

Миронова Ж.А.¹, Трофимов В.И.¹, Дубина М.В.², Янчина Е.Д.², Симакова М.А.¹, Белаш В.А.¹

¹Кафедра госпитальной терапии им.акад. М.В.Черноруцкого

²Отдел молекулярно- генетических технологий Санкт-Петербургского Государственного медицинского университета имени акад. И.П.Павлова Санкт- Петербург, Российская Федерация

Цель исследования: Оценить частоту вариантов С3435Т гена MDR1, R130Q гена IL13, 590С/Т гена IL4 у больных бронхиальной астмой (БА).

Метод: Обследованы 105 астматиков: 57 пациентов с тяжелой БА и 48 больных средней степенью тяжести БА. Группу контроля составили 103 человека. Для генотипирования использовался метод ПЦР и рестрикционный анализ.

Результаты: Аллель 3435С гена MDR1 чаще обнаруживался в группе больных тяжелой БА $\chi^2=21,34$ ($p=0,0001$) и средней степенью тяжести БА $\chi^2=8,68$ ($p=0,003$) по сравнению с группой контроля. Частота генотипа СС гена MDR1 была выше у больных БА средней и тяжелой степени тяжести по сравнению с группой контроля: $\chi^2=11,99$, ($p=0,005$) и $\chi^2=10,58$, ($p=0,001$). Генотип RR гена IL13 обнаружен у 42,86% больных тяжелой БА по сравнению с 65,69% в группе контроля, $\chi^2=7,71$, $p=0,005$. Благоприятное сочетание генотипов ТТ гена MDR1 + СС гена IL4 + RR гена IL13 реже обнаруживалось у больных БА (1,92%), по сравнению с группой контроля (14,56%), $\chi^2=10,97$, $p=0,001$.

Выводы: Нами впервые показана ассоциация вариантов С3435Т гена MDR1 с бронхиальной астмой. У больных БА благоприятное сочетание генотипов ТТ гена MDR1 + СС гена IL4+ RR гена IL13 выявлялось реже по сравнению с группой контроля.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

КАРТИНА АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА У ЖЕНЩИН С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

*Журавский С.Г.^{1,2}, Мазикина Д.А.⁵, Золотова Н.Б.¹, Пискунова Н.В.¹,
Тараскина А.Е.^{1,4}, Пчелина С.Н.^{1,4}, Котова С.М.³*

¹ Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова ³

Государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова

⁴ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН

⁵ Городская поликлиника № 117, Санкт – Петербург

Сахарный диабет 2 типа (СДт2) – метаболическое заболевание, характеризующееся хронической гипергликемией, которая является результатом нарушения секреции инсулина или механизмов его взаимодействия с клетками тканей. В настоящее время широко обсуждается вклад генетических факторов в риск развития СДт2, затрагивающих системы неспецифического метаболизма организма человека.

Цель: Оценить вклад аллельных вариантов генов неспецифических метаболических систем в риск развития СДт2 у женщин.

Материал и методы: В исследование были включены 158 пациентов женского пола в возрасте от 56 до 67 лет с установленным диагнозом СДт2 по МКБ-10. Методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом и гель-электрофорезом в ПААГ охарактеризовано распределение аллельных вариантов генов, продукты которых участвуют в системах неспецифического метаболизма: *MTHFR*(C677T), *NOS3*(Glu298Asp), *GSTM1*(0/0), *GSTT1*(0/0), *MPP9*(C1562T), *PON1*(Q191R). В качестве контрольной группы для сравнения использовались данные литературы для популяций Северо-Западного региона России и/или Европейских территорий (Franco et al., 1998; Шейдина, 2000; Garte, 2001; Joos et al., 2002; Попова и др., 2002; Стделева, 2002; Пчелина, 2002; Vasilakov et al., 2008; Venturelli et al., 2009).

Результаты: В исследованной группе больных не выявлены достоверные различия в распределении изученных аллельных вариантов генов по сравнению с популяционными данными. Частота аллеля Т гена *MTHFR* составила 29%, генотипов Glu/Asp и Asp/Asp гена *NOS3* – 39,9% и 5% соответственно, носительство нулевого

генотипа для *GSTM1* – 37,3%, для *GSTT1* – 19,6%, частота аллеля T гена *MPP9* – 15%, гомозиготное носительство QQ генотипа *PONI* – 6,3%.

Мы предполагаем, что расширение выборки больных позволит выявить ассоциации изучаемых аллельных вариантов с патогенезом развития поздних осложнений СДт2, что в дальнейшем станет основой для разработки стратегии персонализации их ранней профилактики.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PRDX5 В ПОПУЛЯЦИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

*Василишина А.А.¹, Войтович А.Н.², Кононова О.А.², Семенова
О.Н.³, Шавловский М.М.¹, Ларионова В.И.²*

¹ Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования 191015 Санкт-Петербург, Кирочная ул., 41

² Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия ³
Лечебно-диагностический, реабилитационный и научный центр для жителей
блокадного Ленинграда

Пероксиредоксин 5 (PRDX5) - это внутриклеточный антиоксидантный фермент, преимущественно локализующийся в митохондриях. Он нейтрализует перекись водорода и другие пероксиды. Согласно свободно-радикальной теории старения, накопление окислительных повреждений, вызванных активными формами кислорода (АФК), и главным образом перекисью водорода, которая постоянно образуется как побочный продукт в электрон-транспортной цепи митохондрий, является причиной старения. Таким образом, PRDX5 может играть роль в процессе старения.

Целью данной работы является изучение связи полиморфизма гена PRDX5 со старением и продолжительностью жизни.

Ген PRDX5 содержит около 30 известных однонуклеотидных полиморфных сайтов (SNPs). Проведено генотипирование 2 групп неродственных жителей Санкт-Петербурга: детей (4-17 лет, n=103) и пожилых людей (80-106 лет, n=102) по двум полиморфным сайтам (-540A>C, 1955C>T) методом ПЦР-ПДРФ-анализа.

Различия между группами в частотах аллелей и генотипов по каждому локусу в отдельности не выявлены. Однако обнаружено сцепление изучаемых полиморфных маркеров ($\chi^2=82$, $df=8$, $p<1\cdot 10^{-6}$) с частотами гаплотипов в популяции Санкт-Петербурга: 540A/1955C – 0,3; -540A/1955T – 0,35; -540C/1955C – 0,36. Гаплотип - 540C/1955T, вероятно, отсутствует в этой популяции. Распределение частот генотипов, учитывающих оба маркера, полностью соответствует распределению Харди-Вайнберга. Различия между группами детей и стариков в частотах гаплотипов и генотипов также не выявлены.

Отсутствие аллеля -540С/1955Т в популяции можно объяснить тем, что филогенетически более древним является аллель -540А/1955С, следовательно, для образования аллелей -540А/1955Т и -540С/1955С потребовалось по 1 мутации, а для образования -540С/1955Т необходимо, чтобы произошли сразу 2 случайные мутации, что маловероятно. Также маловероятно, что -540С/1955Т образуется в результате кроссинговера, поскольку маркеры расположены очень близко друг к другу.

Чтобы экспериментально подтвердить отсутствие аллеля -540С/1955Т, планируется провести молекулярно-генетический анализ гаплотипов (метод «гнездной» ПЦР с применением 2 пар аллель-специфических праймеров) у группы дигетерозигот -540АС/1955СТ (50 чел.), поскольку они теоретически могут иметь данный аллель.

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

Журавский С.Г.^{1,2}, Гринчик О.В.⁴, Пчелина С.Н.^{1,3}

¹ Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова ²

Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова

³ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова РАН

⁴ Областная клиническая больница, Калининград

Интранатальная гипоксия является одним из известных этиологических условий развития неврологической патологии новорожденных с широким диапазоном клиники от синдрома ДЦП разной степени тяжести до повреждения только какой-либо одной сенсорной системы (зрения, слуха) и легкой малозаметной очаговой симптоматики.

В патогенезе интранатальной травмы ЦНС, помимо центральной роли интенсивности острого нарушения кровоснабжения головного мозга, нами предполагается участие эндогенного неспецифического фактора – индивидуальной (генетически-детерминированной) повышенной чувствительности нервной ткани к гипоксии.

Цель: Исследовать ассоциацию генетически детерминированной низкой активности антиоксидантной системы с последствиями гипоксической травмы плода в родах.

Материал и методы: Обследованы 77 пациентов в возрасте от 2 до 14 лет с глубокой сенсоневральной тугоухостью-глухотой, ассоциированной с гипоксическим повреждением ЦНС в родовом периоде (показатели Апгар при рождении менее 5/6 баллов). Методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом проведен скрининг аллельных вариантов генов *NOS3(Glu298Asp)*, *GSTM1(0/0)*, *GSTT1(0/0)*, *SOD2(Val(-*

9)Ala) Для сравнения с распространенностью исследованных генетических детерминант у здоровых взяты показатели из исследований, проведенных ранее в Москве и С.Петербурге [Попова С.Н. и соавт., 2002; Терещенко С.Н. с соавт., 2009; Chistyakov DA et al, 2001].

Результаты: В изученной группе генетических полиморфизмов от данных сравнения достоверно отличалась только частота аллельного варианта гена *SOD2Val(-9)*, приводящего к изменению структуры лидерного пептида, и нарушающего транспорт *SOD2* к митохондриям. В нашей клинической группе генотип Val/Val встречался в 10 раз чаще, чем в здоровой популяции Московской области (24.7% vs. 2.4%, $p < 0.001$).

Очевидно, что носительство аллельного варианта *SOD2 Val(-9)* в гомозиготном состоянии является одним из конституциональных условий, предрасполагающих к формированию интранатального гипоксического повреждения ЦНС. Выявленная особенность должна приниматься во внимание при разработке программы профилактики гипоксических повреждений ЦНС, а также совершенствования тактики реанимационного пособия в периоде адаптации.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА В2-
АДРЕНОРЕЦЕПТОРА И ГЕНА В3 СУБЪЕДИНИЦЫ G-БЕЛКА У ДЕТЕЙ С
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И У ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ**

***Е.А. Исупова, М.А. Виноградова, М.В. Жданова, О.А. Кононова, Г.А. Новик,
В.И. Ларионова***

ГОУ ВПО Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая Медицинская
Академия

194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

Тел/факс: +7 (812) 295-1067, e-mail: vlarionova1@yandex.ru

β 2-адренорецепторы (ADRB2), связанные с G-белком, находятся в центре внимания исследователей как гены-кандидаты для развития аллергических заболеваний и могут оказывать значительное влияние на эффективность действия противоастматических препаратов.

Цель исследования: Оценить частоту полиморфных аллелей гена ADRB2 Arg16Gly (R→G) и Gln27Glu (Q→E) и гена GNB3 в 825 кодоне 10 экзона (C→T), кодирующего β 3-субъединицу G-белка и их комбинаций в группе мальчиков и девочек с бронхиальной астмой (БА) и в группе здоровых детей.

Пациенты и методы: Обследованы 273 ребенка с установленным диагнозом БА: 227 мальчиков (82,6%) и 46 девочек (17,4%) в возрасте от 4 до 17 лет. Легкое течение

БА отмечалась у 6% детей, среднетяжелое - у 52%, тяжелое - у 42%. Группу контроля составили 148 детей: 77 мальчиков и 71 девочка в возрасте от 4 до 17 лет. Молекулярно-генетический анализ генов проводили методом ПДРФ. Статистическую значимость различий в распределениях генотипов между группами определяли с помощью теста Хи-квадрат и метода относительного риска (ОР) для доверительного интервала (ДИ) 95%.

Результаты: В группе детей с БА преобладает генотип 16RR/27QQ/825CT (7,7%) по сравнению со здоровыми детьми (1,4%) ($p=0,006$; $OR=5,36$ 95%CI 1,28 – 22,55). А в группе здоровых детей преобладает комбинация 16GG/27QE/825CT (14,0%) по сравнению с детьми, страдающими от БА (5,5%) ($p=0,006$; $OR=0,38$ 95%CI 0,20 – 0,73). При оценке распределения аллелей и генотипов C825T по гену GNB3 не обнаружены достоверные различия между группой детей с БА и группой здоровых детей ($p=0,100$). Однако при сравнении результатов, в группе детей с БА в зависимости от степени тяжести выявлено преобладание генотипа 825TT у детей, страдающих тяжелой формой БА (8,4%) по сравнению с детьми, у которых была диагностирована БА средней степени тяжести (1,6%) ($p<0.050$).

Заключение: Впервые у детей Санкт-Петербурга определена частота аллелей и генотипов по генам ADRB2 и GNB3. По результатам нашего исследования выявлены различия в распределении генотипов R16G/Q27E по гену ADRB2 у детей с БА и здоровых детей, а также генотипов C825T по гену GNB3 у детей с БА разной степени тяжести. Таким образом, наличие генотипа 16RR/27QQ гена ADRB2 может быть ассоциировано с развитием БА, а носительство аллеля 825T гена GNB3 – с более тяжелым течением заболевания.

***АССОЦИАЦИЯ ГЕНОТИПОВ COLL1A1 С РАЗВИТИЕМ ФИБРОЗА
В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ
ГАСТРОДУОДЕНИТЕ И СОПУТСТВУЮЩИМ КАРИЕСОМ У ДЕТЕЙ***

***Кузьмина Д.А., Москаленко М.В., Костик М.М., Азанчевская С.В.,
Сидоркин А.О., Мороз Б.Т., Новикова В.П., Ларионова В.И.***

Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая
Медицинская Академия 194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Тел/факс: +7 (812) 295-1067, e-mail: vlarionova1@yandex.ru

Коллаген 1-го типа входит в состав желудочно-кишечного тракта. Доказана связь между заболеваниями желудочно-кишечного тракта и коллагенопатиями.

Цель исследования: Изучить +12545GT полиморфизм *CollA1* у детей с патологией ЖКТ и сопутствующим кариесом.

Материалы и методы: Обследованы 70 детей в возрасте 12-17 лет с хроническим гастродуоденитом, верифицированным морфологически. Из них 26 - с умеренным, 27 - с выраженным фиброзом стромы слизистой оболочки желудка и 16 - без фиброза. Исследование +12545GT полиморфизма *CollA1* проводилось методом ПЦР с рестрикционным анализом. У всех детей выявлена разная степень интенсивности кариеса.

Результаты: У обследованных детей с выраженным фиброзом стромы слизистой оболочки желудка, по сравнению с пациентами без фиброза, наиболее редко регистрируются генотипы SS (33,3% против 72%) и чаще - генотипы Ss (42,6% против 28%) и ss (24% против 0%), $\chi^2=20,11$, $p=0,0004$, $C=0,58$. Различия в частотах генотипов гена *CollA1* при умеренном фиброзе, по сравнению с пациентами без фиброза, не выявлены. Анализ результатов исследования показал, что ss генотип +12545GT полиморфизма *CollA1* обнаружен у 5 пациентов (7,5%) при декомпенсированной форме. Доля детей с генотипом Ss при декомпенсированной форме кариеса составила 53,7% против 28,3% при компенсированной форме ($p<0,05$) и 11,9% - у интактных ($p<0,05$). Доля детей - носителей SS генотипа снижается пропорционально тяжести кариозного процесса ($p<0,05$).

Вывод: У носителей аллеля s, как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии, имеются более выраженные изменения слизистой оболочки желудка в виде фиброза (24% и 42,6%), а также чаще обнаруживается декомпенсированная форма кариеса (7,5% и 53,7%).

ЭНТЕРОВИРУС, ИНФАРКТ МИОКАРДА И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ

***Плоткин В.Я., Тимошина М.А., Азанчевская С.В., Иващенко Т.Э.,
Хромов-Борисов Н.Н.***

Санкт-Петербургский государственный университет
199106 Санкт- Петербург, Васильевский остров, 21 линия,
д. 8А Тел.: 8 9030935031, e-mail: plotkin38@gmail.com

Показано, что энтеровирусная инфекция принимает участие в патогенезе инфаркта миокарда (ИМ), способствует дисфункции эндотелия, развитию кардиогенного шока и разрыва миокарда. Наряду с этим энтеровирусная инфекция стимулирует образование

фактора некроза опухоли альфа (TNFA), который вместе с энтеровирусами активирует синтез матриксных металлопротеиназ (MMP3 и MMP1). Однако мало известно о роли полиморфизма генов *TNFA*, *MMP3*, *MMP1* в развитии ИМ и его осложнений на фоне энтеровирусной инфекции.

Цель работы: Определить роль полиморфизма генов *TNFA*, *MMP1*, *MMP3* в остром периоде инфаркта миокарда (ИМ) и его осложнений на фоне энтеровирусной инфекции.

Методы: Относительное количество антигенов энтеровирусов (ОКАЭВ) *Коксаки В1-В6*, *ЕСНО 1-32*, *Энтеро 68-71* определялись в крови с помощью модифицированной реакции связывания комплемента у 208 пациентов неосложненным и осложненным ИМ, в ткани миокарда (94 пациентов) и коронарных артерий (24 пациентов) пациентов ИМ, умерших от кардиогенного шока и/или разрыва миокарда. Методом ПЦР-ПДРФ анализа исследованы полиморфизмы: -238G>A, -308G>A гена *TNFA* (174 пациента ИМ), 1G>2G гена *MMP1* (97 пациентов ИМ), 5G>6G гена *MMP3* (89 пациентов ИМ) *MMP3* в зависимости от наличия и отсутствия энтеровирусной инфекции и ИМ. Контрольная группа состояла из 211 человек.

Результаты: При сравнении частот полиморфизмов генов *TNFA*, *MMP1*, *MMP3* в зависимости от наличия и отсутствия энтеровирусной инфекции или ИМ оказалось, что заболеваемость ИМ практически не зависела от природного генетического полиморфизма в трех изученных генах-маркерах 1G>2G (*MMP1*), 5A>6A (*MMP3*) и -238G>A, за исключением -308G>A (*TNFA*). Численности генотипов G>G, G>A и A>A полиморфизма -308G>A (*TNFA*) у больных ИМ составляла соответственно 193, 14, и 4, а в контроле – 133, 38 и 3. Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга (РХВ) было статистически незначимым в группе пациентов ИМ и высоко значимым в контроле ($P=0,51$ и $9 \cdot 10^{-4}$, соответственно). Распределения генотипов в этих группах были статистически высоко значимо неоднородны ($P=3,5 \cdot 10^{-5}$). Сила связи («ассоциации») *OR* составляла 3,3 с границей точных 99%-х доверительных интервалов от 1,5 до 7,8. Вероятность того, что у носителя аллели «риска» возникнет ИМ, равнялась 0,008, с границей точных 99%-х доверительных интервалов от 0,002 до 0,021. Возможно, однако, что наблюдаемая статистически значимая связь между ИМ и наличием в генотипе пациента аллели A в гене *TNFA* может быть следствием высоко значимого отклонения от РХВ в контрольной группе (вследствие избытка гомозигот G/G).

Выводы: Частоты полиморфных генов фактора некроза опухоли *TNFA*, матриксных протеиназ *MMP1* и *MMP3* не связаны с наличием или отсутствием ИМ, энтеровирусной инфекции, наличием осложнений ИМ и прогнозом заболевания.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *DRD2* С ПОВЕДЕНЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ В ФОРМЕ АЛКОГОЛИЗМА И СОЗАВИСИМОСТИ

Рожнова Т.М., Асанов А.Ю., Аксёнова М.Г.

В последние десятилетия наблюдается увеличение количества различных видов расстройств зависимого характера. При этом психические и поведенческие нарушения, характеризующиеся доминантой зависимости, составляют наименее разработанную в теоретическом плане и резистентную к терапии группу. Расстройство поведения, именуемое созависимостью и рассматриваемое преимущественно в контексте алкоголизма, в настоящее время представляет собой один из наименее изученных видов патологии и не имеет единой и точной дефиниции. Использование молекулярно-генетических методов исследования позволит более глубоко изучить этиопатогенетические механизмы этого вида патологии.

Цель: Изучение ассоциации полиморфизма гена *DRD2* с алкоголизмом и созависимостью.

Результаты: Методом ПЦР были обследованы 270 человек из 3 групп изученных семей. Первую группу составили 30 мужчин, больных алкоголизмом и 30 женщин, страдающих созависимостью и являющихся их жёнами; вторую группу - супруги из 30 семей нормативной выборки, здоровых в отношении изучаемых патологий; в третью вошли 75 супружеских пар из популяции.

Анализ частот генотипов в каждой из групп и сравнение их друг с другом выявил наличие значимых различий между выборкой из семей супругов больных алкоголизмом мужчин и нормативной группой. Частота генотипа A1/A2 у больных алкоголизмом (0.37) и их созависимых жён (0.43) достоверно выше, чем у супругов (по 0.10) нормативной группы: ($p=0.015$ для мужчин и $p=0.004$ для женщин).

Результаты оценки распределения частот генотипов гена *DRD2* указывают на наличие связи между генотипом A1/A2 локуса TaqI A гена дофаминового рецептора (*DRD2*) и расстройствами аддиктивного характера в форме алкогольной зависимости и созависимости. Полученные в результате статистического анализа данные об отсутствии неслучайных различий ($p=0.59$) в полиморфизме гена *DRD2* у больных

алкоголизмом и страдающих созависимостью, могут свидетельствовать о наличии единых этиопатогенитических механизмов изученных расстройств поведения, что имеет диагностическое и прогностическое значение.

**АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ
РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D И COL1A1 У МУЖЧИН С
МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ОСТЕОПАТИЯМИ**

Слозина Н.М., Неронова Е.Г., Трофимова И.В., Саблин О.А.

ФГУЗ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины
им. А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-
Петербург, ул. Академика Лебедева 4/2 Тед.: (812)
607-59-39, e-mail: cytogen@arcerm.spb.ru

Известно влияние факторов генетической предрасположенности на развитие остеопороза у женщин в менопаузальном периоде. Данные относительно вклада генетической компоненты в развитие остеопороза у мужчин не столь многочисленны и иногда противоречивы.

Целью настоящего исследования явилось выявление возможной связи генов коллагена COL1A1 и гена рецептора витамина D DVR3 с остеопорозом у мужчин в возрасте от 50 до 75 лет (ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС).

Обследованы 80 ликвидаторов мужского пола. Из них 52 человека (65%) имели метаболические остеопатии: 38 (47,5%) страдали остеопеническим синдромом с потерей минеральной плотности кости от 10 до 20%, и у 14 человек (17,5%) имелся остеопороз с потерей минеральной плотности кости от 20 до 46%. У 28 обследованных ликвидаторов (35%) метаболические остеопатии не выявлены.

В этих подгруппах изучены полиморфизмы гена COL1A1 (G-T 1546) и гена рецептора витамина D VDR-3 (Taq I и F/f). Сопоставление результатов генотипирования с данными клинического обследования не обнаружило какого-либо влияния полиморфизмов гена COL1A1 на формирование метаболических остеопатий. Вместе с тем, даже на относительно небольшой выборке больных показана тенденция связи полиморфизма F/f гена рецептора витамина D с развитием остеопороза: среди больных остеопорозом преобладал генотип ff (21,0% по сравнению с 3,7% у лиц без метаболических остеопатий), тогда как среди ликвидаторов, не страдающих остеопатиями, преобладал генотип FF (51,8%).

Результаты проведенной работы свидетельствуют о целесообразности дальнейших исследований в области изучения влияния полиморфизма гена рецептора витамина D

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЙ ПОЛИМОФИЗМА А38G ГЕНА
СС16 У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ**

Тихонова В.С., Войтович А.Н., Коростовцев Д.С., Ларионова В.И.

Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая
Медицинская Академия 194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Тел/факс: +7 (812) 295-1067, e-mail: vlarionova1@yandex.ru

Актуальность: Ген Clara cells 16 (СС16) ответственен за синтез противовоспалительного белка, который продуцируется клетками Clara, расположенными в дистальных отделах легких. В предыдущих исследованиях было обнаружено, что у людей, страдающих бронхиальной астмой (БА), концентрация белка СС16 была существенно ниже, чем у здоровых людей. По данным литературы, полиморфизм А38G гена СС16 связан с риском возникновения БА.

Цель исследования: Сравнительный анализ распределения генотипов и аллелей полиморфизма А38G гена СС16 у детей с БА различной степени тяжести и у практически здоровых детей.

Пациенты и методы: Группа наблюдения состояла из 136 детей с легкой БА (мальчики - 70, девочки - 10) и тяжелой неконтролируемой БА (мальчики - 41, девочки - 15) в возрасте 2-17 лет (средний возраст – 12,7 лет). Группа контроля состояла из 127 практически здоровых детей (мальчики - 67 и девочки - 47) в возрасте 4-17 лет (средний возраст - 12,5 лет). Анализ полиморфизма А38G гена СС16 проводили методом ПЦР-ПДРФ [Laing et al., 1998]. Статистическую значимость различий в распределениях генотипов между группами определяли с помощью теста Хи-квадрат, различия принимали за достоверные при $p < 0,05$.

Результаты: Распределение генотипов и аллелей полиморфизма А38G в группе наблюдения не отличалось от их распределения в группе контроля. При сравнении распределения генотипов и аллелей между группами: легкая БА – тяжелая неконтролируемая БА; легкая БА – контроль; тяжелая неконтролируемая БА – контроль, достоверные различия не выявлены. Тем не менее, частота гетерозигот AG у девочек с БА отличалась от таковой у здоровых девочек (72% и 43%, $\chi^2=7.528$, $p=0.023$, OR=1.5 95% CI=1.17 –1.95). Кроме того, при сравнении девочки с БА - мальчики с БА обнаружено, что частота гетерозигот AG достоверно выше у девочек (72% и 44%, $\chi^2=8.414$, $p=0.015$, OR=1.5 95% CI=1.23 – 1.89).

Выводы: анализ полученных результатов показывает необходимость дальнейшего изучения значимости полиморфизма A38G гена CC16 в развитии БА у детей.

**ЧАСТОТА РЕДКИХ АЛЛЕЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ У ДЕТЕЙ И
ПОДРОСТКОВ С ОТЯГОЩЕННЫМ СЕМЕЙНЫМ АНАМНЕЗОМ ПО РАННЕМУ
РАЗВИТИЮ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ**

*Хмырова А.П.¹, Войтович А.Н.¹, Богданова М.А.¹, Кононова О.А.¹,
Любашева Л.О.¹, Разоренова Т.С.², Ларионова В.И.¹*

¹ Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия
194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Факс: (812) 295-1067, e-mail: annahm@mail.ru

² Военно-медицинский музей при Военно-медицинской академии

Изучена частота полиморфных вариантов генов 4a4b *eNOS*, I/D *ACE*, W64R *ADRB3*, Q/E27 и G/R16 *ADRB2*, G-75A и C+83T *ApoA1*, Sst *ApoC3*, S19W и T-1131C *ApoA5*, ε2/ε3/ε4 *ApoE* у детей и подростков из семей, имеющих родственников I – II степеней родства, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), такими как артериальная гипертензия (АГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), инфаркты миокарда, мозговые инсульты.

Обследованы 100 человек в возрасте от 5 до 17 лет, - 68 мальчиков и 32 девочки - имеющих один или несколько конституциональных факторов риска раннего развития атеросклероза, (ожирение, дислипидемия, АГ). Популяционную выборку для изучения распределения полиморфных вариантов изученных генов составили 145 человек детей и подростков, 73 мальчика и 72 девочки сопоставимого возраста.

Методы: Молекулярно-генетическое тестирование гена 4a4b *eNOS*, гена I/D *ACE* проводилось методом PCR. Полиморфизм G-75A, C+83T гена *ApoA1*, SstI гена *ApoC3*, S19W, T –1131C гена *ApoA5*, ε2/ε3/ε4 гена *ApoE*, W64R гена *ADRB3*, Q/E27, G/R16 гена *ADRB2* определили с помощью PCR-RFLP метода.

Результаты: Анализ распределения аллелей исследованных генов в основной группе и популяционной выборке выявил достоверные различия лишь по аллелю Q/E27 гена *ADRB2*. Носители аллеля Q27 обнаружены чаще в основной группе – 57% против 44%, соответственно (p=0.02).

Распределение сочетаний реже встречающихся аллелей: 4a *eNOS*, I *ACE*, R64 *ADRB3*, Q27 и R16 *ADRB2*, A-75 и T83 *ApoA1*, S2 *ApoC3*, W19 и C-1131 *ApoA5*, ε2 и ε4 *ApoE* в двух группах оказалось следующим. Носительство одного «редкого» аллеля обнаружено у 2% из основной группы против 18 % популяционной выборки (p<0.001).

Сочетание двух «редких» аллелей выявлено у 17% основной группы против 22% популяционной выборки ($p=0.417$). Носителями трех «редких» аллелей были 29% и 25% ($p=0.647$), четырех – 26% и 15% ($p=0.053$), пяти – 13% и 6% ($p=0.109$), шести – 12% и 4% ($p=0.039$), семи – 1% и 0%, восьми – 0% и 1% детей и подростков из основной группы и популяционной выборки соответственно. Сочетание более восьми редких аллелей не обнаружено. У 9% человек из популяционной выборки в генотипе не было обнаружено ни одного редкого аллеля исследованных нами генов.

Анализ частоты в зависимости от количества «редких» аллелей в генотипе выявил достоверные различия между обследованными группами. Комбинации, имеющие один - два «редких» аллеля, достоверно чаще выявлены в популяционной выборке, тогда как комбинации из трех – шести «редких» аллелей достоверно чаще встречались в основной группе ($p<0.001$).

Выводы: Частота аллелей исследованных генов в основной группе и популяционной выборке достоверно различалась лишь по аллелю Q/E27 гена *ADRB2*. Комбинацию из трех - шести «редких» аллелей изученных нами генов у детей и подростков можно рассматривать в качестве дополнительного критерия риска раннего развития атеросклероза.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАССЕЯННОМУ СКЛЕРОЗУ

***Хусаинова А.Н., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Заплахова О.В. *,
Бахтиярова К.З. *, Мустафина О.Е.***

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН
Уфа, пр. Октября, 71
E-mail: alazbuav@mail.ru

* Башкирский государственный медицинский университет
450000, Уфа, ул. Ленина, 3

Рассеянный склероз (РС) является мультифакториальным заболеванием, развитие которого обусловлено взаимодействием факторов внешней среды и наследственной предрасположенности, реализуемой полигенной системой, включающей особенности иммунного ответа и определенного типа метаболизма [6]. В настоящее время многие исследователи признают, что ведущее значение в развитии иммунопатологического процесса при РС имеет нарушение баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [3,4]. Целью исследования было установление

ассоциаций полиморфных маркеров генов цитокинов и их рецепторов с рассеянным склерозом в этнической группе русских республики Башкортостан.

В группу больных РС были отобраны 133 человека, не родственные друг другу, с достоверным диагнозом по критериям McDonald. Группа сравнения была сформирована из 239 человек, не родственников друг другу, без признаков РС и других неврологических заболеваний. Генотипирование выполняли с помощью полимеразной цепной реакции с последующей рестрикцией ампликонов.

Анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов цитокинов и их рецепторов с РС позволил выявить следующее: с повышенным риском развития РС связан и у мужчин и у женщин генотип -572^*G^*G гена *IL6* (OR=19.56 CI 2.58–148.12 и OR=2.14 CI 1.06–4.32), у мужчин - генотип 3653^*T^*T гена *IL1R1* (OR=2.92 CI 1.17–7.3). У мужчин генотип -627^*C^*C гена *IL10* связан с пониженным риском развития РС (OR=0.12 CI 0.02–0.89). Не выявлена связь РС со следующими полиморфными маркерами: $-511C/T$ и $3953C/T$ гена *IL1B*, $1159A/C$ гена *IL12*, $252A/G$ гена *LTA*. Таким образом, обнаружена ассоциация определенных генотипов исследованных генов с развитием РС.

Список литературы

1. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы. С.-Пб: Гиппократ. 1992. 256 с.
2. Одинак М.М., Бисага Г.Н., Калинина Н.М. // Журн. неврол. и психиатр. 2001. Т. 101. № 9. С. 39-44.
3. Рассеянный склероз. //Под ред. И.Д. Столярова, Б.А. Осетровой. СПб.: «ЭЛБИ-СПб». 2002. 176с.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

СИНДРОМ НИЙМЕГЕН В УКРАИНЕ

Акопян Г. Р., Макух Г. В., Костюченко Л. В., Маркевич Н. В.

ГУ «Институт наследственной патологии АМН Украины»
79000 Украина, Львов, МСП-169, ул. М. Лысенко 31а
Тел.: +380-50-54-23-150, e-mail: akopjan@mail.lviv.ua

Синдром хромосомной ломкости Ниймеген, или NBS (Nijmegen Breakage Syndrome, OMIM 251260), – это аутосомно-рецессивное заболевание из когорты наследственных синдромов хромосомной нестабильности. Развитие NBS связано с мутантными изменениями в гене *NBN (NBS1)*, причем 95% всех пациентов имеют славянское происхождение и являются носителями мутации 657del5. Случаи NBS зарегистрированы в чешской, польской, украинской, российской популяциях и практически не встречаются среди представителей «неславянских» народов. На конец 2009 г. в Украине диагностированы 34 случая NBS в 30 семьях (32 ребенка, 2 плода) из 12 областей (27 – из западной Украины, 15 – во Львовской области). Определены типичные клинико-генетические характеристики синдрома Ниймеген у украинских пациентов, которые позволяют эффективно проводить его селективный скрининг в контингентах пациентов с микроцефалией, задержкой физического развития и отсутствием неврологических нарушений. Частота NBS во Львовской популяции за 10 лет регулярной регистрации составила 1 на 13640–27648, гетерозигот – 1 на 58–83 новорожденных. Эти частоты существенно превышают полученные в результате генетического тестирования здоровых новорожденных в работе Varon et al [2000] (1 на 133000 и 1 на 182, соответственно) и согласуются с результатами исследования отдельных польских субпопуляций (1 на 76–77 [[Ziółkowska et al., 2006](#)]) и, в частности, местности Новый Сонч, территориально приближенной ко Львовщине (1 на 90 [Varon et al., 2000]). Полученные нами результаты выдвигают синдром Ниймеген на позиции распространенной наследственной патологии во львовской популяции и позволяют предположить вероятный эффект гетерозиготного носительства мутации гена *NBN* в структуре причин онкологической заболеваемости в регионе.

Андрюхина Е.Н., Рославцева Е.А.

Научный центр здоровья детей РАМН
Тел.: (499) 645-1472, e-mail: roslikea@gmail.com

Целиакия является генетически детерминированным заболеванием. В основную группу риска развития целиакии входят родственники первой линии родства, частота заболеваемости у которых составляет от 2 до 12%. У однояйцевых близнецов частота достигает 70%. В последнее время генетическим маркерам заболевания уделяется большое внимание. Установлена связь целиакии с генами II класса главного комплекса гистосовместимости, а именно с гетеродимерами HLA-DQ2 (DQB1*201, DQA1*501) и HLA-DQ8 (DQB1*302, DQA1*301). Реализация генетической предрасположенности происходит под влиянием различных внешних факторов, к которым относятся продолжительность грудного вскармливания, сроки введения глютен-содержащих продуктов, количество употребляемого глютена, вирусные инфекции и др. Типичные гетеродимеры встречаются у 98,9% больных целиакией в Северной Европе, что указывает на роль генетического исследования в диагностике заболевания. Однако по результатам HLA типирования в различных странах мира, частота DQ2/DQ8 у больных целиакией не однородна. Так, в скандинавских странах аллель DQ2 определяется в 90-95% случаев, в Израиле - в 80%, в Казахстане - лишь в 62%. В России проводились единичные генетические исследования по диагностике целиакии. По данным исследования, проведенного в Томске, HLA-маркеры целиакии выявлены у 80% больных. Наиболее часто регистрировались аллели DQA1 501 (45%) и комбинация HLA-DQA1*501 B1*201 (29,7%), которая, наряду с HLA-DQA1 301, преобладала при типичной форме целиакии. Согласно первоначальным результатам исследования генетических маркеров целиакии, в Москве аллели HLA-DQ2 (DQB1*02) и DQB1*03 выявлялись с одинаковой частотой (75%). Данное несоответствие полученных результатов европейским данным может быть обусловлено национальными особенностями, что обуславливает необходимость продолжения исследований генетических маркеров целиакии на территории Российской Федерации.

НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОГЕНЕЗА

МУКОВИСЦИДОЗА Пухальский А.Л., Шмарина Г.В., Капранов

Н.И., Алешкин В.А. *

Медико-генетический научный центр РАМН
115478 Москва, ул. Москворечье, 1
Тел.: +7 499 612 8124, e-mail: osugariver@yahoo.com

*Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.
Габричевского Роспотребнадзора

Хотя муковисцидоз (МВ) является моногенным аутосомно-рецессивным заболеванием, обусловленным мутациями в гене *CFTR*, попытки связать тяжесть его течения с отдельными типами мутаций не дали удовлетворительных результатов. По-видимому, существуют другие, в том числе и генетические, механизмы, определяющие индивидуальные особенности течения МВ. В связи с этим можно выделить несколько уровней, на которых целесообразно проводить изучение патогенеза МВ. *Клеточный уровень*. Известно, что синтез дефектного CFTR ведет к накоплению его в клетке и, как следствие, к стрессу эндоплазматического ретикулума, торможению белковых синтезов и апоптозу. С этой точки зрения МВ можно рассматривать как частный случай болезней накопления. *На уровне адаптационных систем организма человека*, к которым в первую очередь относятся иммунная и нейро-эндокринная системы, наилучшим образом изучена связь аллельного полиморфизма генов семейства *TNF* с такими осложнениями МВ как атопии, включая бронхиальную астму, остеопороз и раннее истощение гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Можно думать, что частые эпизоды стресса, которым подвергаются больные МВ, могут приводить к изменению модели метилирования глюкокортикоидных рецепторов. Таким образом, на течение МВ могут также влиять *эпигенетические факторы*, связанные с особенностями жизни больного. Еще одним уровнем исследования может быть изучение взаимоотношений макроорганизма и патогенной флоры, заселяющей дыхательные пути больного МВ. Известно, что некоторые штаммы синегнойных бактерий образуют алгинатную пленку. Это создает ситуацию, напоминающую динамическое равновесие между слизистой оболочкой и микробиотой в толстом кишечнике. Изучение механизмов такого равновесия и условий его нарушения может дать ключ к пониманию причин внезапной декомпенсации и смерти некоторых, на первый взгляд благополучных больных.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПРИ МУТАЦИИ ГЕНА

WT 1, ЛОКАЛИЗОВАННОГО НА 11p13 Стрелкова Т.Н.,

Карнова А.П., Рогова М.В., Зиновьева С.Л.

ГУЗ «РДКБ МЗ УР», Ижевск
Тел.: 8(3412)430248, e-mail: dethir@igma.udm.ru

Frasier-синдром характеризуется ранним дебютом нефротического синдрома и фокально-сегментарным гломерулосклерозом у детей с мужским псевдогермафродитизмом и мутацией в гене WT 1 (ген опухоли Вильмса), расположенного на 11p13.

Больная Яна С., 4 г., поступила в нефрологию РДКБ 10.07.2007 г. с отеками. Выявлена гипертрофия клитора (1см), мочеиспускательный канал открывался на конце клитора, есть вход во влагалище, большие половые губы гипертрофированы, малых нет. Протеинурия более 10 г/л, выявленная в 6 месяцев, гипо- и диспротеинемия, гиперхолестеринемия. Получала преднизолон 2 мг/кг/сутки 5 недель - без эффекта (СПБ 2-8 г). По результатам кариологического анализа (46,XY) диагностирован мужской ложный гермафродитизм; 17 ОН прогестерон - 1,18 нмоль/л, кортизол - 467,8 нмоль/л, тестостерон - 1,41 нмоль/л.

С диагнозом синдрома Frasier ребенок был направлен в ФГУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии Росмедтехнологии», где в 10.2007 г. проведена биопсия и выявлен фокально-сегментарный гломерулосклероз с тотальным гиалинозом единичных гломерул, выраженный тубулоинтерстициальный компонент в виде склероза интерстиция, дистрофии тубулярного эпителия, а также признаки дизэмбриогенеза почечной ткани. Проведено молекулярно-генетическое исследование гена WT1 и выявлена мутация сайта-сплайсинга в 9 интроне с заменой гуанина на аденин, характерная для синдрома Фрайзера. 03.10.2008 г. произведена лапароскопия с двусторонней гонадэктомией, пластика внутренних паховых колец, рассечение УГС, погружение клитора, пластика половых губ. Сейчас получает энап с целью нефропротекции.

***ВЫЯВЛЕНИЕ МУТАЦИИ R408W У БОЛЬНЫХ С ФЕНИЛКЕТОНУРИЕЙ В
ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ***

***Хальчицкий С.Е., Мхеидзе М.О., Никифорова И.Ф., Иванов И.А., Стадник Н.П.,
Шабанова Е.С.***

Областная детская клиническая больница
Санкт-Петербург, ул. Комсомола 6
Тел.: 812 2945171 , e-mail: s_khalchitski@mail.ru

Фенилкетонурия (ФКУ) - наследственная аминокислотопатия, ферментопатия, характеризующаяся генетической гетерогенностью и полиморфизмом. Классическая ФКУ (MIM261600), наиболее частый вариант заболевания, обусловлена мутациями в

гене *PAH* (12q24.1), детерминирующем синтез фенилаланин-4-гидроксилазы (ФАГ, КФ1.14.16.1). ФАГ контролирует скорость-лимитирующую реакцию гидроксилирования Фен с образованием Тир в присутствии кофактора тетрагидробиоптерина. Структура *PAH* гена включает 90000 пн и 13 экзонов. Мутация R408W является мажорной как для населения многих европейских государств, так и для населения Москвы и Санкт-Петербурга. Благодаря неонатальному скринингу силами Медико-генетического центра СПб и Лаборатории цитогенетических и молекулярно-генетических исследований ОДКБ, сформирована группа пробандов с ФКУ в Ленинградской области. Для выявления мутации R408W ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови и пятен крови на фильтрах, полученных от больных ФКУ и членов их семей, используя набор реагентов фирмы «ДНК-Технология» (Россия) по протоколу фирмы - производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на программируемом термоциклере Mastercycler фирмы «Eppendorf» (Германия) с использованием ДНК-полимеразы *Termus aquaticus* фирмы «Сибэнзим» (Россия). Обследованы 27 пробандов (возраст от года до 23 лет, 12 пробандов мужского пола, 15 женского пола), в том числе в двух семьях две пары разнополых сибсов. Выявлены 9 человек, гомозиготных по мутации R408W, 15 человек с компаундами со вторым неидентифицированным аллелем, у трех пробандов аллель R408W отсутствовал. Таким образом, в обследованной группе больных ФКУ частота аллеля R408W равна 61,1%. При медико-генетическом консультировании двух семей осуществлено определение носительства мутации R408W у фенотипически здоровых сибсов и родителей пробандов: 1) у пробанда (генотип R408W/R408W) генотип родной сестры не содержал данную мутацию; 2) у пробанда (генотип R408W/?) в генотипе родного брата выявлен данный аллель, в генотипе сводного брата данная мутация не обнаружена.

**ГИПЕРФЕНИЛАЛАНИНЕМИИ: ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ
ДЕФЕКТОВ Шапошников А.М.¹, Хальчицкий С.Е.², Булычева И.А.³**

¹ Многопрофильная фирма «КМ-Альянс»

² ЛОГУЗ «Детская клиническая больница»

³ Межрайонный наркологический
диспансер Санкт-Петербург

В 2009 году исполняется 75 лет с того времени, когда А. Fölling в 1934 году открыл и впервые описал заболевание, сопровождающееся гиперфенилаланинемией (ГФА), получившим впоследствии название фенилкетонурия (ФКУ). В 1965 г. А.М. Шапошников впервые указал на

то, что клиническая неоднородность течения ФКУ у детей как до, так и в процессе диетотерапии обусловлена генетической гетерогенностью молекулярных дефектов ФАГ-системы печени. Для доказательства этого нами были обследованы 17 детей больных ФКУ, в биоптатах печени которых определяли активность фенилаланингидроксилазы (ФАГ) без и с добавлением кофактора ФАГ – тетрагидробиоптерина (ВН₄). У 3-х больных активность ФАГ отсутствовала как без, так и с добавлением ВН₄. У 9-ти больных активность ФАГ составляла от 3% до 12% по сравнению с контролем, у 4-х – составляла 15-17% как без, так и в присутствии ВН₄, а у одной больной активность ФАГ в присутствии ВН₄ возрастала на 43%. Нагрузка фенилаланином (ФА) 29-ти родителей и сибсов больных ФКУ детей показала, что они являются гетерозиготными носителями (ГЗ), т.к. скорость гидроксирования ФА у них была в 1,5 – 2,3 раза ниже по сравнению с контрольной группой здоровых людей.

При изучении свойств ФАГ здоровых и больных ФКУ установлено, что фермент в печени больных имеется, но удельная активность (в присутствии ВН₄) в 30 раз ниже по сравнению с ФАГ здоровых людей. Лизофосфатидилсерин резко увеличивал активность ФАГ здоровых (320%), но незначительно (26-40%) активировал ФАГ больных ФКУ. Это показывает, что при мутациях R408W, R158Q, R261Q и R252W активность ФАГ или резко снижена или отсутствует полностью. Для доказательства этого мы провели комплементацию ФАГ *in vitro*, которая позволила установить наличие мутаций в различных доменах молекулы ФАГ. Синтез различных мутантных форм ФАГ прямо свидетельствует о молекулярной гетерогенности гена ФАГ, а двойной нагрузочный тест ФА+ВН₄ позволяет установить наличие мутаций в генах дигидроптеридинредуктазы, ГТФ-циклогидролазы I, 6-пирувоил-тетрагидроптерин-синтазы и птерин-4 α -карбиноламиндегидратазы, то есть ферментов, обеспечивающих синтез и восстановление ВН₄. Нарушение метаболизма ВН₄ ведет к появлению гетерогенных ГФА (в том числе и ФКУ), что требует точной постановки молекулярного диагноза, т.к. кроме классической ФКУ лечение специальной диетой у других детей с различными ГФА малоэффективно и обуславливает экономически необоснованные затраты.

МУКОВИСЦИДОЗ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА TNF

Шмарина Г.В., Пухальский А.Л., Алешкин В.А.*

Медико-генетический научный центр РАМН

115478 Москва, ул. Москворечье, 1

Тел.: +7 499 612 8124, e-mail: sakmarariver@yahoo.com

*Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского
Роспотребнадзора

Гены семейства фактора некроза опухолей *TNF*, *LTA* и *LTB* расположены тандемом в области III класса главного комплекса гистосовместимости на коротком плече шестой хромосомы. У млекопитающих эта высококонсервативная область не претерпела изменений за последние 180 миллионов лет. Тандем *TNF* и *LTA* является еще более древним (не менее 450 миллионов лет) и обнаруживается у всех челюстных позвоночных, начиная с костистых рыб.

Нами было исследовано влияние аллельного полиморфизма генов *TNF* (транзиция G – A в промоторной области в позиции -308) и *LTA* (транзиция A – G в в первом интроне в положении 252) на воспалительную реакцию и течение муковисцидоза у 198 больных, состоявших на учете в Научно-клиническом отделе муковисцидоза МГНЦ РАМН. Полученные результаты показывают, что среди больных с генотипом высокой продукции TNF α (носители хотя бы одного из аллелей -308A или 252G) чаще встречались пациенты со среднетяжелым течением муковисцидоза ($p < 0.01$). В то же время больные с генотипом низкой продукции TNF α (-308G/G, 252A/A) реже страдали atopическими заболеваниями, в том числе бронхиальной астмой и лекарственной аллергией ($p < 0.05$). Больным этой группы реже назначали алтернирующий курс преднизолона. У большинства больных (77 %) с генотипом высокой продукции TNF α был выявлен остеопороз, в то время как только у трети пациентов – низких продуцентов TNF α обнаружено снижение минеральной плотности костной ткани. В соответствии с клиническими данными, больные-носители аллелей, обуславливающих высокую продукцию TNF α , демонстрировали повышенный уровень ИЛ-5 и низкий АКТГ.

Таким образом, больные с генотипом высокой продукции TNF α характеризуются агрессивной воспалительной реакцией, сопровождающейся ранним и быстрым истощением гипатоламо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Недостаточность гормонов стресса существенно повышает вероятность развития таких тяжелых осложнений муковисцидоза, как астма и остеопороз.

***ВОПРОСЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ ЛИЗОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ
НАКОПЛЕНИЯ НА ТЕРИТОРИИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ***

¹Шорина А.Р., ²Федорук Н.П., ¹Масленников А.Б.

¹ГБУЗ «Государственный Новосибирский областной клинический
диагностический центр»
²МУЗ НМДКБ СП №3.

Лизосомные болезни накопления (ЛБН)- относятся к числу редких наследственных заболеваний. На территории Новосибирской области выявлен 23 пациента с ЛБН.

Диагнозы были подтверждены в лаборатории наследственных болезней обмена Медико-генетического научного центра РАМН г.Москва. Достижения последних лет привели к созданию эффективных методов метаболической коррекции ЛБН, и прежде всего это ферментная заместительная терапия (ФЗТ).

В связи с выявлением на территории НСО пациентов с такими заболеваниями, как болезнь Хантера (6 пациентов), болезнь Фабри (8 пациентов), болезнь Марото-Лами (2 пациента), болезнь Гоше (6 пациентов), Нимана-Пика (1 пациент), встал вопрос о возможности организации лечения таких больных.

В настоящее время лечение по поводу МПС 2 типа получают 4 ребенка.

Еженедельные инфузии препаратом «Элапраза» улучшили качество жизни пациентов, привели к возрастанию показателя ФЖЕЛ, сокращению линейных размеров печени и селезенки, уменьшению экскреции гликозаминогликанов. Шесть пациентов с болезнью Гоше получают лечение препаратом «Церезим». При лечении отмечается положительная динамика в виде стабилизации гематологических показателей, снижения уровня хитотриазидазы, уменьшения гепатоспленомегалии. ФЗТ хорошо переносится, не вызывает выраженных побочных эффектов.

Опыт организации лечения пациентов с данными нозологиями открывает возможности для лечения пациентов и с другими ЛБН, выявленными на территории области, для которых разработана специфическая ФЗТ.

ОБРАЗОВАНИЕ И ИНТЕГРАЦИЯ

MEDICAL GENETICS EDUCATION: ORGANIZATION MODELS AND EXAMPLES FROM UNDERGRADUATE MEDICAL STUDENTS LEVEL TO CONTINUING MEDICAL EDUCATION (CME)

Coviello Domenico

Laboratory of Human Genetics, Galliera Hospital
Genoa, Italy

Education is a pre-condition of achievements of individual and communities, therefore serious reflection in the third millennium, especially upon medical education, has a larger impact than ever before on society. European construction which began with the Rome Treaty (1957) was based on the realistic premise that a functional European community would only be reached if an economic community could set in place. However it was already clear in the final part of the last century that education for a united Europe begins with an understanding of European culture. Geography and history are indispensable conditions for a European identity, but the European unification is mainly an institutional and cultural process.

Medical education in Europe has to take into account not only socio-cultural differences but also different health national systems in place in the different member states.

Organization models for education has gone through a long process of evolution in Europe. Magna Charta Universitatum (1988) proclaims the autonomy of universities as a condition of the university's efficient involvement in society. The Bologna Declaration (1999) established the path towards the creation of a coherent higher education area. At the Lisbon European Council (2000) it was stated that in the age of globalization and of the knowledge society Europe should become "the most competitive and dynamic knowledge-based economy in the world capable of sustainable economic growth with more and better jobs and greater social cohesion". Although this changes have been quite evident in the general area of science and technology, in medical genetics education a much more slow evolution has been observed. The need for genetic tests has increased dramatically along with the evolution of diagnostic technology. The updating of curricula at undergraduate level has been very slow and the recognition of medical/clinical genetics as medical specialty has been difficult. In the last five years ESHG and EuroGentest has worked in the direction of providing a common framework of "core competence in genetics" that could help the different member state to update genetic curricula in medical education at the different levels, general practitioner,

specialist non geneticist, specialist in genetics, nurses, midwife and/or other health professionals.

MEDICAL GENETICS EDUCATION AND TRAINING FOR MEDICAL STUDENTS, GENETIC COUNSELING STUDENTS, AND CLINICAL GENETICS

RESIDENTS

Virginia C. Thurston

Indiana University School of Medicine
Indianapolis, IN, USA

Although genetics is becoming more integrated into all areas of medicine, the number of physicians choosing to practice the specialty of medical genetics is declining. There are fewer than 3,300 genetics professionals in the United States who are certified by the American Board of Medical Genetics and/or the American Board of Genetic Counseling¹, and they are unable to meet even the current demand for genetic services. Therefore, primary care providers will be increasingly relied on for genetic counseling and risk assessment. All of this serves to underscore the growing relevance of medical genetics in primary care, and yet the limited genetics knowledge of most primary care providers is well documented.² This lack of proficiency is attributable both to a rapid advancement in genetics knowledge and to limitations in genetics education in medical school curricula³. Three areas of health care should be targeted for expanded training in medical genetics and recruitment into the field of medical genetics: medical student education, clinical genetics residency, and genetic counseling. All future physicians should be exposed to the skills, knowledge, and attitudes necessary to competently address situations involving medical genetics that arise in their practice regardless of their area of expertise. Medical students and residents should be actively recruited to clinical genetics residency programs. College biology and psychology students should be introduced to the field of genetic counseling and encouraged to explore all of the opportunities available therein. This discussion will review current training requirements and suggestions for expansion of medical genetics in medical school, clinical genetics residency programs, and genetic counseling programs. Medical genetics will continue to exert a growing influence on the practice of medicine and future health care providers will need better training if they are to provide optimal health care for their patients.

References

¹Korf BR, Feldman G, Wiesner GL. Report of Banbury Summit meeting on training of physicians in medical genetics, October 20 –22, 2004. *Genet Med.* 2005;7:433–438.

²Emery J, Watson E, Rose P, Andermann A. A systematic review of the literature exploring the role of primary care in genetic services. *Fam Pract.* 1999;16:426–445.

³Childs B. Genetics in medical education. *Am J Hum Genet.* 1993;52:225–227.

METHODS FOR INTEGRATING MEDICAL GENOMICS INTO A MEDICAL SCHOOL CURRICULUM

Virginia C. Thurston

Indiana University School of Medicine
Indianapolis, IN, USA

Genetics is becoming increasingly relevant to primary care physicians as the genetics of common disorders are better understood. Genetic risk assessment and testing are now standard for some forms of cancer and genetic testing is available for a number of neurological and cardiovascular disorders. Pharmacogenetic testing is becoming routine in the treatment of some types of leukemia and will undoubtedly become widely used in routine medical decisions. The availability of such genetic information will have a significant impact on the general public. In the face of these exciting and daunting changes, how can we as medical educators best prepare our medical students for a career in modern medicine? Evolution of curriculum must be accomplished by introducing new material into the context of an already challenging and packed curriculum while not reducing the value of other vital curricular components. The AAMC proposed that basic and clinical science educators incorporate genomics education into their curricula and outlined core competencies for the general physician. This proposal delineates the challenges of modifying various types of curricula to introduce new course content, of creating learning opportunities and assessments, and – of central importance – multidisciplinary involvement in the process. This session will present curricular and extra curricular strategies used in selected US medical schools to educate medical students on the basic science concepts and clinical challenges of using genetic/genomic and epigenetic information. Questions to be considered in integrating medical genomics into a medical school curriculum include the following:

- i. How do we as educators decide what new information to include in our medical school courses, and what to no longer include?

- ii. How can we best prepare medical students to: 1) use and interpret genetic test results correctly, 2) clarify misconceptions among patients and their colleagues, 3) address policy issues concerning genetic/genomic information?
- iii. What themes/disciplines are best for integrating ‘genomics’?
- iv. What strategies are best for illustrating genomics applications in the clerkships?
- v. How do we implement a four year ‘genomics’ curriculum?

**МОДУЛЬНЫЙ ПРИНЦИП ПРЕПОДАВАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ
КАК МЕТОД ОПТИМИЗАЦИИ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА**

Асанов А.Ю., Субботина Т.И.

ГОУ ВПО «Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова» Минздрава
119991 Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр.2
Email: asanov@mmascience.ru

Значительное внимание преподаванию генетики в первую очередь связано с необходимостью осмысления и решения проблем, возникающих в практической деятельности врачей любых специальностей. Однако для полного понимания и восприятия современных концепций генетики человека и медицинской генетики, эффективного использования медико-генетических новаций в диагностике, лечении и профилактике заболеваний в настоящее время требуется оптимизация образовательного процесса (ООП). ООП предполагает как улучшение качества управления образовательным процессом, так и повышение качества образования.

Одним из способов повышения качества высшего медицинского образования является внедрение модульного построения учебных планов и их реализация. Каждый модуль представляет собой унифицированный по структуре фрагмент учебной программы, включающий логически завершенную единицу учебного материала. Модульный принцип представляет собой и программу действий, и методическое руководство по соответствующему фрагменту образовательной программы. Реализация модульного принципа позволяет успешно использовать компетентностный подход в преподавании предмета, который способствует формированию у студента базовых и профессиональных компетенций.

**ОБРАЗОВАНИЕ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ В КУБАНСКОМ
ГОСУДАРСТВЕННОМ МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ**

Голубцов В.И., Зайцева А.Т., Лазарев К.Ю.

Преподавание генетики в медицинских вузах страны, начавшееся в 60-е годы прошлого столетия, определило необходимость подготовки соответствующих педагогических кадров. Эта задача решалась обучением преподавателей при прохождении факультетов повышения квалификации в центральных вузах (Москва, Ленинград, Новосибирск). В течение нескольких лет практически все преподаватели кафедры биологии нашего вуза были теоретически подготовлены для преподавания общей генетики на первом курсе и медицинской генетики на старших курсах. Значительную роль в теоретической подготовке и специализации по медицинской генетике для преподавателей нашего вуза в разные годы оказали ученые ленинградских научных и учебных заведений.

На совершенствование преподавания медицинской генетики оказала влияние научно-исследовательская работа сотрудников кафедры, которая в течение всего периода выполнялась по проблемам медицинской генетики (цитогенетика, популяционная генетика, молекулярная генетика).

В настоящее время медицинская генетика преподается на кафедре биологии с курсом медицинской генетики КГМУ студентам четвертого курса лечебного, педиатрического и медико-профилактического факультетов. Нами разработаны методические указания для выполнения внеаудиторной и аудиторной работы студентов; проводится элективный курс по актуальным вопросам медицинской генетики; изданы методические пособия для студентов и врачей. Дальнейшее генетическое образование продолжается в клинической интернатуре и ординатуре, где врачи обучаются медицинской генетике с учетом специфики своей специальности. На кафедре открыта очная и заочная аспирантура, клиническая ординатура по специальности «Генетика», где идет подготовка специалистов для практического здравоохранения и пополнения резерва преподавательского состава вуза. Защищены 10 кандидатских и три докторских диссертаций.

Внедрение новых технологий в генетику и развитие предиктивной медицины вызвало необходимость введения в учебный процесс для студентов и слушателей постдипломных форм обучения современным методам молекулярно-генетического анализа. Это способствует интеграции знаний врачей разных специальностей в области медицинской генетики и молекулярной медицины.

ОПЫТ ПРЕПОДАВАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ В СПБГПМА**Горбунова В.Н., Имянитов Е. Н.**

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия
194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Тел/факс: +7 921 747 37 02, e-mail: imynit@mail.wplus.net

Кафедра медицинской генетики была организована в Ленинградском педиатрическом институте в 1989 г. в составе научно-учебного комплекса, включающего лабораторию молекулярной генетики человека Института ядерной физики АН. Идея создания такого комплекса, расположенного в стенах клинического учреждения и объединяющего академическую лабораторию и учебную кафедру, принадлежала выдающемуся медицинскому генетику нашей страны, профессору Евгению Иосифовичу Шварцу. Сотрудниками вновь созданной кафедры под руководством и при непосредственном участии Е. И. Шварца была разработана уникальная программа обучения студентов медицинских ВУЗов, включающая практические занятия по общим направлениям медицинской генетики и циклы лекций по частным разделам молекулярной медицины. Основной упор в ней сделан на новейших научных достижениях, используемых в клинической практике. При этом все теоретические положения клинической, популяционной, биохимической, молекулярной генетики и цитогенетики разбираются на примерах хорошо известных наследственных и многофакторных заболеваний. Профессорский курс Е. И. Шварца наряду с общими методическими аспектами, касающимися идентификации мутаций, пренатальной диагностики, генотерапии, включал лекции по молекулярным основам сердечно-сосудистой патологии, канцерогенеза, диабета, иммунодефицитных состояний и многих других заболеваний. Присутствие научной лаборатории в комплексе с кафедрой медицинской генетики позволило многим студентам, ординаторам, аспирантам, преподавателям и врачам Педиатрической академии, а также других медицинских ВУЗов страны пройти курсы практического обучения методам ДНК-диагностики и выполнить научные исследования, получившие мировое признание.

В этот период под руководством Е. И. Шварца были защищены около 30 кандидатских и докторских диссертаций. В дальнейшем с приходом на руководство кафедрой профессора В. Н. Горбуновой, а затем профессора Е. Н. Имянитого значительно расширяется преподавание генетики на клинических базах, в качестве которых наряду с Медико-генетическим центром, используются расположенный в Павловске дом-интернат для детей с отклонениями в умственном развитии и лаборатория

молекулярной диагностики НИИ онкологии. Сотрудниками кафедры подготовлены более 10 учебно-методических изданий и монографий по общим и частным разделам медицинской генетики.

***ОПЫТ СОЗДАНИЯ ЭЛЕКТРОННОГО УЧЕБНОГО ПОСОБИЯ ПО
МОЛЕКУЛЯРНОЙ И ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МЕДИЦИНЕ***

Малиновская Н.А.¹, Салмина А.Б.¹, Михуткина С.В.¹, Болдырев А.А.²

¹ГОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Красноярск, ул. П.Железняка.1

²МБЦ МГУ им. М.В. Ломоносова
Москва, ул. Ленинские горы, МГУ, д.1, стр. 12

Курс «Молекулярная и трансляционная медицина» представляет собой совмещение и обобщение теоретических знаний по множеству теоретических дисциплин с практическими результатами, полученными при применении современных клеточно-биологических методов исследований, новых методов диагностики и лечения. Малое количество часов, выделяемых в учебных планах на представленный курс, и слабая оснащённость ВУЗов электронными и печатными [1] версиями учебников и учебных пособий существенно усложняют подготовку студентов к занятиям по молекулярной и трансляционной медицине.

В 2009 году нами создано электронное html-пособие «Молекулярная и трансляционная медицина» для преподавания одноименного курса на русском и английском языках, включающее теоретические вопросы биологии, биохимии, физиологии, патобиохимии и патофизиологии, новые направления терапии и диагностики, теоретические основы современных высокоинформативных лечебно-диагностических методов (ОФЭТ, ПЭТ и т.д.), результаты исследований по основным направлениям, изучаемым в подразделениях КрасГМУ в рамках регионального компонента, и знания, полученные на масштабных инновационных общероссийских мероприятиях. Пособие снабжено анимационными моделями для объяснения сложных процессов, видеофильмами и flash-анимациями для закрепления у студентов полученных знаний, гиперссылками, вопросами для самоподготовки к теме, тренировочными тестовыми вопросами и ситуационными задачами с возможностью самопроверки, что существенно улучшает восприятие сложной для студентов информации, понимание и запоминание ими основ молекулярной медицины. Кроме коротких циклов, возможно использование данного пособия для преподавания

углубленных курсов по молекулярной и трансляционной медицине на русском и английском языках, спецпрактикума по методам молекулярной лабораторной диагностики и самоподготовки студентов.

Список литературы

1. Введение в молекулярную медицину: под ред. М.А. Пальцева. – М.: Медицина, 2004. – 496с.

ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ – ЕСТЬ

ПРОБЛЕМА?! Мхеидзе М.О.

Медицинская академия последипломного образования
191015 Санкт-Петербург, Кирочная ул., 41
E-mail: nomedeia@yandex.ru

Светлой памяти Светланы Климентьевны Ключевой

Проблема. Возрождение преподавания медицинской генетики (МГ) в ВУЗах России насчитывает 20-25 лет. Оно не было обеспечено квалифицированными *медицинскими* кадрами по известным причинам. Преподаватели с медицинским образованием и большим стажем работы осваивали МГ путем самообразования и были лишены системы обучения. Большой тормоз для преподавания МГ - мизерное число стационарных коек для больных с наследственной патологией. Очевидна увеличивающаяся пропасть между достижениями современной биологической и медицинской науки и доступностью их использования практическими врачами и пациентами. Опыт работы на кафедре МГ МАПО, контакты с врачами различных специальностей, анализ собственного обучения в ЛПМИ приводят к заключению о необходимости модернизации преподавания МГ в ВУЗах.

Возможное решение. Первые 2 курса обучения в ВУЗе: 1) преподавание основ генетики человека на кафедре биологии; 2) преподавание основ цитогенетики, молекулярной генетики, протеомики, ознакомление с современными методами цитогенетического анализа, биохимической и молекулярно-генетической диагностики наследственных болезней и их практическое освоение на кафедрах физики, гистологии, биохимии. Последующие годы обучения: 3) генеалогический метод и семиотика наследственных и врожденных болезней – преподавание на пропедевтических кафедрах; 4) постоянный тренинг в составлении родословной пациента, в описании его фенотипа, ознакомление с наследственными и врожденными заболеваниями - на всех

клинических кафедрах. Погружение в генетику человека на протяжении всех лет обучения сформирует генетическое мышление у врача любой специальности, что станет залогом эффективности работы медико-генетической службы. Преподавание МГ, отвечающее мировым стандартам, требует привлечения специалистов научно-исследовательских институтов и наличия клиник с высоким уровнем обследования пациентов. Новые формы преподавания МГ потребуют, возможно, изменения структуры ВУЗов: объединение в единый комплекс научно-исследовательских, образовательных и клинических подразделений.

ОНКОГЕНЕТИКА

АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Афанасьев Б.В., Зубаровская Л.С., Станчева Н.В., Семенова Е.В.

Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им.
акад. И.П.Павлова. Институт детской гематологии и трансплантологии им.
Р.М.Горбачевой

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – один из эффективных методов лечения врожденных и наследственных заболеваний у детей, протекающих с поражением кроветворной и иммунной систем, при этом более чем у 60% пациентов удается достичь полного излечения. В ИДГиТ им. Р.М. Горбачевой с 05.2005 г. по 10.2009 г. неродственная алло-ТГСК выполнена у 9 пациентов со следующими заболеваниями: болезни накопления (БН)–3, остеопетроз–1, анемии Фанкони (аФ)–1, Блекфана–Даймонда (аБД)–1, синдром Вискотга–Олдрича (СВО)–1, синдром Костмана (сК)–2; средний возраст–3,6 лет (1–14 лет). Перед алло-ТГСК с целью верификации мутации для диагностики заболевания применяли молекулярно-биологические методы исследования для аФ генов FANC, аденолейкодистрофии–мутации ABCD, болезни Краббе–мутации GALC, метахроматической лейкодистрофии (МЛД)–мутации ARSA, СВО–мутации WASP, остеопетроза–мутации TCIRG1, CLCN7, OSTM1 TNFRSF11A, сК–мутации ELA, HAX1, CSF3R, аБД–мутации RPS. В качестве подготовки использовали миелоаблативный режим кондиционирования (МАК)–2, немиелоаблативный (неМАК)–7 пациентов. Профилактика острой реакции «трансплантат-против-хозяина» (oРТПХ)–циклоsporин

А с Д-1, метотрексат 10 мг/м^2 Д+1, +3, +6. Периферические стволовые клетки крови использованы у 7, костный мозг у 2 пациентов.

Результаты: 3-летняя общая выживаемость (ОВ) составила 72%, из них 6 пациентов живы без признаков заболевания, в том числе с регрессом остеомиелосклероза у ребенка с остеопетрозом, срок наблюдения 36-59 месяцев. Причины смерти–oРТПХ, IV ст. –1, прогрессия заболевания при МЛД–1 пациент.

Выводы: алло ТГСК– эффективный метод лечения генетических заболеваний у детей. Для ранней постановки диагноза и своевременного проведения алло-ТГСК необходимо внедрение генетических методов исследования, в том числе с

пренатальной диагностикой у семей, имеющих высокий риск рождения ребенка с наследственным или врожденным заболеванием.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ IN SITU (FISH)

В ДИАГНОСТИКЕ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Васильева З.Ж., Воробцова И.Е., Тимофеев Д.А., Школьник М.И.

ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи»

Санкт-Петербург, п. Песочный, Ленинградская ул., 70

Тел. (812) 596-8779; e-mail: radgenetika@mail.ru

Ежегодно в нашей стране регистрируют до 12,5 тысяч новых случаев заболевания раком мочевого пузыря (РМП), что составляет 2,7% от всех онкологических заболеваний. Традиционно применяемые в диагностике рака мочевого пузыря методы исследования хотя и обладают высокой специфичностью, но не являются достаточно чувствительными на ранней стадии РМП. Одним из новых и чувствительных методов обнаружения цитогенетических отклонений уже на ранней стадии опухолевого преобразования является флуоресцентная гибридизация in situ (FISH), которая проводится на смещенных клетках в собранной моче. Для FISH-диагностики используют зонды к центромерным участкам хромосом 3, 7 и 17 и локусу 9p21, позволяющие выявить хромосомные аномалии, характерные для злокачественных клеток. Неинвазивность, высокая чувствительность и быстрота FISH-метода позволяет улучшить первичную диагностику и увеличить точность контроля рецидивов у пациентов с опухолями мочевого пузыря после проведения соответствующего лечения. Цель нашего исследования заключалась в оценке теста «URO-VYSION» при внедрении в клиническую практику как неинвазивного метода диагностики РМП. Исследование было проведено на образцах мочи от 29 больных урологического отделения РНЦРХТ. Чувствительность FISH-метода составила 90%. Среди обнаруженных генетически измененных ядер 46 %, 20 % и 27 % содержали полисомии по 3, 7 и 17 хромосомам соответственно, а в 7 % присутствовала гомозиготная делеция в хромосоме 9. Исследование при помощи FISH-метода, проведенное на смещенных клетках в собранной моче, имеет высокую чувствительность, что служит основанием для внедрения в клиническую практику для улучшения первичной диагностики РМП и выявления ранних рецидивов.

**ВЛИЯНИЕ БЕЛКА *p73* НА АПОПТОЗ, КАНЦЕРОГЕНЕЗ И УСТОЙЧИВОСТЬ
К ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ**

Виноградская Г.Р., Волницкий А.В., Филатов М.В.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН

188300 Ленинградской обл., г. Гатчина, Орлова роща

Тел.: (812) 297-3141, e-mail: gvinogradskaya@bpc.spbstu.ru

Рост опухоли и ее дальнейшее озлокачествление зависит от способности раковых клеток блокировать задержку клеточного цикла и апоптоз. Оба процесса находятся под контролем генов опухолевых супрессоров, ключевым из которых является ген *p53*. В составе гомотетрамера белок *p53* является транскрипционным фактором, регулирующим экспрессию многих мишенных генов в ответ на разнообразные стрессовые воздействия. Продукты этих генов непосредственно участвуют в задержке клеточного цикла и апоптозе. В опухолях ген *p53* часто мутирован.

В последние годы обнаружены два других гена (*p63* и *p73*), продукты которых входят в семейство *p53*-белков. Исследование роли гомологов белка *p53* и их взаимодействия в развитии опухолей не только открывает новую главу в области канцерогенеза, но и является фундаментом для новых терапевтических подходов.

Обладая большим структурным сходством, эти белки могут активировать те же гены-мишени что и *p53* и супрессировать опухолевый рост. Однако, в отличие от гена *p53*, мутации в гене *p73* в опухолях обнфруживаются редко. Более того, во многих опухолях наблюдается суперэкспрессия белка *p73*, что плохо согласуется с его ролью опухолевого супрессора. Объяснение этого феномена может лежать в сложной структурной организации гена *p73*, позволяющей экспрессию различных изоформ белка *p73*, одни из которых обладают свойствами опухолевого супрессора, другие - свойствами онкогенного белка. Наличие онкогенных изоформ приводит к функциональной инактивации опухолевых супрессоров. Вопрос о влиянии баланса этих изоформ на судьбу клетки широко обсуждается.

Показано, что онкосупрессорная изоформа белка *p73* существенна для поддержания чувствительности опухолевых клеток ко многим химиопрепаратам. Поэтому терапевтические стратегии, направленные на активацию *p73*, могут иметь широкое применение. С другой стороны, повышенная экспрессия онкогенных изоформ может быть маркером плохого прогноза и причиной лекарственной устойчивости опухоли. Это может определить выбор этих изоформ в качестве молекулярных мишеней терапевтического ингибирования, что требует дальнейшей конкретизации

относительно типа опухолей и репертуара изоформ, экспрессируемых различными клетками. Наше исследование, проведенное на первичных культурах глиом человека показало, что ингибирование супрессорной функции белка p73 может быть связано как с полным отсутствием экспрессии гена p73, так и с одновременной экспрессией супрессорных и онкогенных его изоформ.

**ОЦЕНКА ЗНАЧИМОСТИ ЭКСПРЕССИИ BRCA1 И TOP2A В
ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА ЖЕЛУДКА**

Волков Н.М., Проценко С.А., Суспицын Е.Н.

ФГУ «НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова Росмедтехнологий»
Санкт-Петербург

В настоящее время не существует стандартного режима химиотерапии первой линии для диссеминированного рака желудка. Рекомендован к применению ряд комбинаций, обладающих эквивалентной эффективностью и несколько различными профилями токсичности. Выбор оптимального режима химиотерапии на сегодняшний день основывается на предпочтениях клиники, общем статусе и лабораторных показателях пациента. Одним из путей улучшения результатов терапии больных является индивидуализация лечения на основании молекулярных факторов, прогнозирующих эффективность тех или иных цитостатиков. Практически все стандартные режимы химиотерапии включают в себя препараты платины и фторпиримидины. ECF и его модификации (ECX, EOF, EOX) - один из наиболее распространенных в Европе режимов химиотерапии, включающий дополнительно в комбинации антрациклины. На сегодняшний день показана предиктивная значимость некоторых молекулярных маркеров (ERCC1, TS, DPD) для терапии препаратами платины и фторпиримидинами, в том числе при раке желудка, однако значимость этих показателей недостаточна для внедрения в стандарты клинической практики. Необходимо расширение спектра предиктивных маркеров, поиск более достоверных факторов. В исследованиях при раке легкого, молочной железы показана предиктивная значимость экспрессии гена BRCA1, одного из ключевых участников репарации повреждений ДНК. Кроме того, при раке желудка не исследованы маркеры эффективности антрациклинов. Среди предполагаемых молекулярных факторов чувствительности к антрациклинам ген топоизомеразы-2-альфа (TOP2A), являющейся мишенью действия этих препаратов.

Цель работы: Повышение эффективности лекарственного лечения больных диссеминированным раком желудка за счет индивидуализации лечения на основании молекулярных маркеров.

Материалы и методы: В исследование включены данные о 20 больных диссеминированным раком желудка, среди них 12 мужчин и 8 женщин. Средний возраст больных составил 63 года (от 46 до 78 лет). Всем пациентам в качестве первой линии проводилась полихимиотерапия по схеме ECF или ее модификации (ECX, EOF, EOX). Оценка эффективности терапии проводилась по системе RECIST. Для исследования молекулярных маркеров использовались архивные парафиновые блоки. Определение экспрессии мРНК ERCC1, TS, DPD, BRCA1, TOP2A производилось путем ПЦР в реальном времени по протоколу, разработанному в лаборатории молекулярной генетики ФГУ «НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова Росмедтехнологий».

Результаты: Клиническая эффективность терапии составила 65% (13/20) (частичный/полный регресс заболевания у 6 больных (30%), и стабилизация процесса в 7 (35%) случаях). Медиана времени до прогрессирования в исследуемой группе составила 4,7 мес. Уровни экспрессии всех маркеров не зависели от пола, возраста, степени дифференцировки опухоли, локализации опухоли в желудке. Достоверные различия в эффективности терапии и времени до прогрессирования в зависимости от экспрессии мРНК известных маркеров ERCC1, TS, DPD выявлены не были. Уровни экспрессии BRCA1 и TOP2A распределились следующим образом: BRCA1 – высокий у 65%, низкий – у 35% больных, TOP2A – высокий у 35%, низкий – у 65% больных. Клиническая эффективность терапии в группе больных с низкой экспрессией BRCA1 достоверно отличалась от таковой в группе с высокой экспрессией [7/7 (100%) против 6/13 (46,2%) соответственно, $p=0,016$]. Различия в частоте объективных эффектов и медиане времени до прогрессирования при данном объеме выборки не достигли статистической достоверности [4/7 (57,1%) против 2/13 (15,4%), $p=0,052$, и 6,4 мес. против 4,2 мес., $p=0,34$, соответственно]. В группах с высокой и низкой экспрессией TOP2A наблюдалась тенденция к более высокой частоте объективных эффектов в первой из них [3/7 (42,9%) против 3/13 (23,1%), $p=0,352$], которая, однако, не достигла статистической достоверности. Также статистически недостоверными оказались и различия в общей эффективности [4/7 (57,1%) против 9/13 (69,2%), $p=0,589$], медиане времени до прогрессирования [4,7 мес. против 5,7 мес., $p=0,717$] соответственно.

Выводы: Уровни экспрессии мРНК BRCA1 и TOP2A являются перспективными маркерами эффективности химиотерапии у больных раком желудка.

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МНОЖЕСТВЕННЫХ
ОПУХОЛЕЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА
ЧЕЛОВЕКА**

Вострюхина О.А., Штам Т.А., Бутрович Г.М., Ланцов В.А.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН
Санкт-Петербург/Гатчина 188350, Орлова Роща
Тел.: (812) 297-3141, e-mail: oavostr@bpc.spbstu.ru

К настоящему времени для злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) известны два основных пути развития – “супрессорный”, или *TP53*-зависимый и т.н. “мутаторный” путь, сопряженный с повреждениями системы коррекции неспаренных оснований ДНК (КНО) и микросателлитной нестабильностью генома (МНГ). Каждый из этих путей характеризуется разным мутационным профилем.

Множественные злокачественные новообразования ЖКТ у пациентов с высокой вероятностью ассоциированы с мутаторным путем развития карцином. Мутации в генах системы КНО - *MSH2* и *MLH1* выявляются, например, в более чем 80% случаев наследственных неполипозных раков толстой кишки (ННРТК) и приводят к повреждениям генов, содержащих микросателлиты в структуре своих экзонов.

Целью данной работы явился ретроспективный анализ генетических изменений, накапливающихся в клетках двух пациентов - с синдромом ННРТК и мультифокальной аденокарциномой желудка - при неопластической прогрессии. Наш анализ предусматривал: проверку МНГ, выявление наследственной мутации, поиск мутаций в генах-мишенях дефектной работы системы КНО; анализ изменений мутационного профиля опухолей в ходе канцерогенеза; проверка возможного соучастия *TP53*-зависимого пути в развитии заболевания.

Проведенный генетический анализ двух конкретных случаев - ННРТК и мультифокальной аденокарциномы желудка - представляет их как генетические заболевания, развившиеся из-за специфических мутаций в результате снижения уровня коррекции неспаренных оснований в ДНК. Используя уникальный материал – опухоли, последовательно возникавшие в организме пациента в течение многих лет, нам удалось составить генетическую схему поэтапного развития данных конкретных заболеваний.

**ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ АНАЛИЗА ГЕНЕТИЧЕСКИХ
МУТАЦИЙ КОННЕКСИНА-26 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЖЕЛУДКА**

Мозговой Е.Д.

Санкт-Петербургский академический университет – научно-образовательный центр нанотехнологий РАН
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 5
Тел/факс: +7 921 941-1175, e-mail: mozg207@gmail.com

Рак желудка (РЖ) остается одной из ведущих разновидностей злокачественных опухолей в Восточной Европе и Дальневосточном регионе как по заболеваемости, так и в качестве причины смерти. В настоящее время возможности традиционных методов диагностики и лечения рака желудка достигли своего максимума, и радикальный прогресс в этой области может быть связан с разработкой новых подходов к профилактике и ранней диагностике. Одним из наиболее перспективных подходов в настоящее время является ранняя молекулярно-генетическая диагностика предрасположенности к возникновению заболевания и его профилирование.

В нашем исследовании мы поставили перед собой задачу выявить влияние наследственных изменений генетического и эпигенетического строения белка межклеточных щелевых контактов коннексина-26 на возникновение и клиническое течение рака.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что носительство мутированного коннексина-26 является достоверным фактором, предрасполагающим к возникновению рака желудка. В то же время носительство мутации гена коннексина-26 является прогностическим фактором более благоприятного клинического течения заболевания, в том числе сниженной инвазивной способности опухоли.

Полученные данные о диагностическом значении мутаций гена коннексина-26 в возникновении рака желудка могут быть использованы в наборе ранних диагностических методов выявления предрасположенности к данному заболеванию.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ, АССОЦИИРОВАННЫЙ С
РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЖЕЛУДКА КИШЕЧНОГО ТИПА**

Новиков Д.Г.

ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия Росздрава
Омск, ул. Партизанская, 20
Тел.: 913-977-1986, e-mail: acarina@yandex.ru

К настоящему времени описаны ассоциации полиморфизма генов цитокинов с повышенным риском развития рака желудка. Однако они значительно варьируют в разных странах и этнических группах, что требует проведения специальных исследований.

Цель исследования: выявить ассоциацию полиморфных аллелей генов интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-10 (IL-10) и фактора некроза опухоли- α (TNF- α) с риском развития рака желудка кишечного типа у населения юга Западной Сибири.

Материалы и методы: венозная кровь, полученная от 49 больных раком желудка кишечного типа в период с 01.08.2009 по 25.03.2010 г. в Омском областном клиническом онкологическом диспансере. Группу контроля составили 84 донора, безотягощенного онкологического анамнеза. Определялось носительство следующих полиморфных аллелей IL-1 β C+3953T (rs1143634), TNF- α G-308A (rs1800629), IL-10 G-1082A (rs1800896). В исследуемых группах вычислялось отношение шансов (OR) с доверительным интервалом (CI).

Результаты и обсуждение: исследуемая группа соответствовала равновесию Харди-Вайнберга только при оценке распространенности транзиции IL-10 G1082A. Соотношение частот других полиморфных аллелей не соответствовало данному равновесию ввиду отсутствия в исследуемой группе лиц, гомозиготных по полиморфному аллелю. Было обнаружено, что носительство аллеля IL-10 -1082A и гомозиготного по данному аллелю генотипа было ассоциировано с повышенным риском развития рака желудка кишечного типа (OR=1,69; CI=1,02-2,80; p<0,05 и OR=3,52; CI=1,16-10,65; p<0,05 соответственно).

Выводы: носительство аллеля IL-10 -1082A и генотипа -1082A/A ассоциировано с повышенным риском развития рака желудка кишечного типа у населения юга Западной Сибири.

**КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИКА РАКА ЩИТОВИДНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ ПУТЕМ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ В ГЕНЕ BRAF И
ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Понур Б.А., Костенко И.Г., Зубкова Т.В., Сильченко С.А.

Главный военный клинический центр – «ГВКГ», Киев

Ген BRAF (B-type Raf Kinase) локализован в 7-й хромосоме. Мутации в этом гене обнаруживаются при злокачественных меланомах в 66% случаях, немного реже - при заболеваниях раком толстого кишечника и раком яичников. В гене BRAF дифференцированы более 40 мутаций. Наиболее распространена точечная мутация T1799A. Она приводит к замене аминокислоты в белке (тимидин заменяется на аденин в позиции нуклеотида 1799). Данная мутация составляет более 90% от всех мутаций в гене BRAF, к тому же это единственная мутация в этом гене, которая

идентифицируется при раке щитовидной железы. В работах зарубежных авторов показано, что данная мутация обнаруживалась в 30-70% случаях рака щитовидной железы. На сегодняшний день установление диагноза рака щитовидной железы проводится на основании цитогистологического заключения. После введения в практику метода тонкоигольной пункционной биопсии щитовидной железы в нашем госпитале (в 2005 г.) верифицируется характер изменений в щитовидной железе. Спектр выявленной патологии щитовидной железы разнообразный: от тиреодитов, кист и до злокачественных опухолей. За год в пункционном материале от 40 больных в пяти случаях (12,5%) выявлена карцинома, что подтверждено гистологическим методом.

Помимо цитологических исследований, мы использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью ДРО-технологии (новая концепция олиготехнологии).

Нами в работе использовалась тест-система «Seeplex® BRAF V600E ACE Detection». По нашим данным, у больных с клиническим диагнозом рак щитовидной железы в 63% случаев определялся мутантный ген BRAF. Незначительное количество исследований на данный момент не позволяет сделать определенные выводы. В то же время уже имеющиеся данные заставляют нас продолжать эти исследования.

Таким образом, диагностика рака щитовидной железы становится высоко достоверной и менее трудоемкой процедурой.

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Слозина Н.М., Неронова Е.Г., Трофимова И.В., Саблин О.А.

ФГУЗ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины
им. А.М. Никифорова» МЧС России Санкт-
Петербург, ул. Академика Лебедева 4/2 Тел.: (812)
607-5939, e-mail: cytogen@arcerm.spb.ru

Регистрация первичных генетических изменений представляет собой способ ранней диагностики онкологических заболеваний и предраковых состояний. Методами молекулярной цитогенетики патологические клетки могут быть выявлены на столь ранних этапах, когда онкотрансформация еще не проявляется на цитологическом и гистологическом уровнях. Развитие новых молекулярно-генетических технологий открыло возможность анализа хромосомного комплекса клеток практически на любом материале (секционном, биопсийном и т.д.) и в кратчайшие сроки после получения

материала. В настоящее время наибольшее распространение получил метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

В нашем центре метод FISH применяется при обследовании и лечении различных категорий больных. Исследования проводятся в соответствии с международными стандартами качества. Нами производится FISH оценка статуса гена Her-2/neu с целью выбора адекватной терапии (в том числе препаратом Герцептин) при раке молочной железы. Накоплен большой фактический материал по применению метода FISH для первичной диагностики и для выявления рецидивов рака мочевого пузыря (UroVysion тест)[1]. Проведена апробация метода FISH применительно к диагностике онкопатологии желудочно-кишечного тракта (эзофагальный рак и дисплазии Барретта) [2]. Опробована применимость метода FISH для выявления меланомы, онкопатологии легких и бронхов, дифференциальной диагностики заболеваний щитовидной железы.

Мировой опыт, а также результаты нашей работы убедительно свидетельствуют о большом диагностическом потенциале молекулярно-цитогенетических тестов в клинической медицине: их применение способствует ранней диагностике, выбору адекватной терапии и прогнозу течения заболеваний.

Список литературы:

1. Слозина Н.М., Никифоров А.М., Неронова Е.Г., Горелов С.И., Пулин И.Л. Молекулярно-цитогенетическая диагностика рака мочевого пузыря. // Российский биомедицинский журнал Medline.ru 2007- ст. 26. - С. 268-282- <http://medline.ru/public/art/tom8>
2. Слозина Н.М., Неронова Е.Г., Саблин О.А. – Молекулярно-цитогенетический (FISH) анализ - новый диагностический метод в гастроэнтерологии. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. Научно-практический журнал. Материалы 10-го Юбилейного Славяно-балтийского научного форума «Санкт-Петербург- Гастро-2008» N2-3/200. С. МЗ.

***ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ IN SITU
В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ***

Травин М.А., Агеева Т.А., Тоцкая Е.Г.

Региональный центр высоких медицинских технологий
630008 Новосибирск, ул. Кирова, 113 Тел.: (383) 271-
12-036, e-mail: gema@hmt.ru

В настоящее время методы исследования молекулярно-генетических основ канцерогенеза прочно входят в практическую медицину. Первые попытки локализации и визуализации генетических последовательностей и участков генов предпринимались

60-70х годах прошлого века с помощью меченых радиоактивными изотопами нуклеотидных последовательностей. Однако эта методика была очень громоздкой и опасной для здоровья. Но уже к середине 1980-х был разработан принцип маркировки фиксированного (in situ) субстрата с помощью специфических ДНК-зондов, меченных флуоресцентными красителями. Данная цитогенетическая техника сначала использовалась для решения исследовательских задач, а впоследствии прочно вошла в практическую медицину.

Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH-метод) позволила перейти от изучения морфологии хромосом к анализу последовательностей ДНК как на цитологических, так и на гистологических препаратах. При этом длина выявляемых последовательностей может быть чрезвычайно мала - от нескольких десятков килобайт, что позволяет считать данный метод высокочувствительным и высокоспецифичным.

В настоящее время FISH-метод широко используется в практической онкологии для выявления генетических аномалий у широкого спектра опухолей, у которых доказана связь с цитогенетическими нарушениями. На базе лаборатории АНО «РЦ ВМТ» создан диагностический комплекс с использованием FISH-метода, проводятся цитогенетические исследования при таких заболеваниях, как хронический миелолейкоз (транслокация (9;22)(q34;q11), фолликулярная лимфома (транслокация (14;18)(q32;q21)), лимфома Беркитта (транслокация (8;14)(q24;q32), лимфома зоны мантии (транслокация (11;14)(q13;q32)) и ряд других. Также FISH-метод имеет ключевое значение в диагностике солидных опухолей человека, в которых наблюдается амплификация генов, что является «золотым стандартом» для назначения таргетной терапии (амплификация Her2/neu при раке молочной железы), и для прогноза заболевания (амплификация N-тус в нейробластомах).

Таким образом, флуоресцентная гибридизация in situ является современным и востребованным диагностическим методом в практической медицине.

СКРИНИНГ НОВОРОЖДЕННЫХ

MODERN APPROACHES TO NEONATAL SCREENING

Eberhard G. Mönch

Charité, Berlin, Germany

Neonatal screening is a program, which aims at early identification of conditions for which early and timely intervention can prevent or reduce associated mortality and morbidity. The newest screening technology is the tandem mass spectrometry (tandem MS; MS/MS). MS/MS-newborn screening requires confirmatory testing and clinical evaluation before a diagnosis can be made.

Before starting the neonatal screening with this high technology system you have to make sure that long-term follow up monitoring and management is guaranteed by clinical professionals and respective facilities and resources for medical food, medications and supplements required for treatment are available.

Recommended neonatal screening done by “one test, one disorder tests” (like screening for hypothyroidism or biotinidase deficiency) as well as by MS/MS technic is different in the different countries in Europe, USA, Australia and Canada. The German recommendation for newborn screening includes (since 2004):

- Hypothyroidism
- Congenital adrenal hyperplasia (CAH)
- Biotinidase Deficiency
- Galactosaemia (Classic)
- Phenylketonuria (PKU)
- Maple syrup urine disease (MSUD)
- Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (MCAD)-Deficiency
- Long-Chain-3-OH Acyl-CoA-Dehydrogenase (LCHAD)-Deficiency
- (Very-) Long-Chain Acyl-CoA-Dehydrogenase (VLCAD)-Deficiency
- Carnitin-Palmitoyl-CoA-Transferase I (CPT I)-Deficiency
- Carnitin-Palmitoyl-CoA-Transferase II (CPT II)-Deficiency
- Carnitin-Acylcarnitin-Translocase (CACT)-Deficiency
- Glutaric acidaemia type I (GA 1)

All inborn errors – except the 4 listed on top – can be detected by MS/MS-Screening.

All of the nearly 700.00 newborn babies per year in Germany are checked under the same conditions and under strong administrative and quality controls.

The expansion of the neonatal screening panel by MS/MS and other methods is under discussion.

Target disorders are:

- Cystic fibrosis (CF)
- Methyl malonic acidaemia (different types)
- Tyrosinosis type I
- Argininosuccinic aciduria
- Lysosomal storage Disorders (now treatable) like Morbus Pompe, Hunter- and Hurler

Diseases, Morbus Gaucher and Fabry Disease.

Details of the discussion about new screening recommendations were given.

Molecular genetic tests are often used in Germany for the confirmation diagnostics.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

LARGE SCALE CLINICAL APPLICATION OF QF-PCR FOR RAPID PRENATAL DIAGNOSIS OF COMMON CHROMOSOME ANEUPLOIDIES

Cirigliano V.^{1,2}, Voglino G.³, Marongiu A.³, Ordoñez E.^{1,2}, Rueda L.^{1,2}, Plaja A.¹, Fuster C.²

¹General Lab, Barcelona, Spain

²Biologia Celular, Universitat Autònoma de Barcelona Bellaterra, Spain ³ Promea-Day Surgery, Turin, Italy

Rapid prenatal diagnoses of common aneuploidies can be performed using microsatellites amplified by Quantitative Fluorescent PCR (QF-PCR). The assay was introduced as preliminary investigation to remove parental anxiety while waiting for the results of cytogenetic analysis. Main advantages of the molecular assay are its low cost, speed and automation allowing large scale application. We developed a highly informative QF-PCR assay that was applied to systematically screen 43.000 consecutive prenatal samples with results issued within 24 hours. The most common referral indications were raised biochemical risk (32%) and advanced maternal age (30%), 6% of these cases were also associated with increased nuchal translucency; parental anxiety generated 22% of samples and abnormal ultrasound findings were present in 7 % of fetuses. All samples were also tested by conventional cytogenetic analysis and results compared. In most cases a normal chromosome complement was correctly assessed by QF-PCR without false positive results. All 1279 non mosaic aneuploidies involving chromosomes 21, 18 and 13 were identified with 100% sensitivity and specificity. Several cases of partial trisomies and chromosome mosaicisms could also be detected. The assay proved efficient and reliable allowing early termination of affected pregnancies without waiting for cytogenetic analysis. Despite being deliberately targeted to investigate only disorders affecting three autosomes (21, 18 and 13) and the two sex chromosomes, we show that QF-PCR can detect the great majority of chromosome abnormalities in a few hours after sampling. Our results support the possibility of reducing the load of conventional prenatal cytogenetics if all pregnancies are carefully monitored by biochemical and ultrasound tests in the first and second trimester. In countries where large scale cytogenetics is hampered by its cost and lack of technical expertise QF-PCR may be used as the only prenatal diagnostic test.

THE ORIGIN AND DIAGNOSTICS OF COMMON CHROMOSOME DISORDERS

Maj A. Hulten

Warwick Medical School, University of Warwick, Coventry CV4 7AL, UK

e-mail: maj.hulten@warwick.ac.uk

The most common chromosome disorder in the human population is trisomy 21 Down syndrome (T21 DS) occurring with an incidence of around 1 in 200 recognized pregnancies and 1 in 700 newborns. During the last 50 years since the genetic basis for DS was first recognized many large scale investigations and by comparison very large resources have been devoted to the understanding of its cause. It has become generally expected that the main underlying reason is 'vulnerable' patterns of crossing-over and recombination during oogenesis in the mother. Recently, however, an alternative mechanism has been proposed, implying that the most likely predisposition is instead T21 mosaicism in foetal ovaries. Analysis of ovaries from fetuses ascertained following termination of pregnancy for a non-medical reason showed an average of 0.5% of cells having a T21 constitution. Based on these observations it is suggested that most, if not all, normal fetuses are T21 ovarian mosaics, and the well known maternal age effect as regards risk of having a DS child is due to a delay in development of any T21 oocytes with an accumulation from prenatal to advanced biological age of the mother. It seems likely that the other common aneuploidy disorders may also arise by varying degrees of such cryptic germinal aneuploidy mosaicism. Detection of cryptic aneuploidy mosaicism is only possible by fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) on large cellular samples. FISH has also during the last 20 years become an adjunct to ordinary karyotyping in the analysis of numerical and structural chromosome aberrations. More recently other molecular technologies, including in particular quantitative fluorescent PCR and CGH arrays/microarrays have become increasingly introduced into the cytogenetic clinical service, allowing the rapid and reliable diagnosis of aneuploidies and many more subtle chromosome aberrations than previously possible. High throughput DNA technology on DNA in sperm samples and in DNA from parents and offspring has also identified the origin of new types of structural chromosome disorders, collectively termed genomic disease. One of the likely mechanisms behind is skewing of the pairing of homologous chromosomes during parental gametogenesis, resulting in abnormal crossing-over, also termed non-allelic homologous recombination (NAHR).

NEW DEVELOPMENTS IN PRENATAL DIAGNOSIS

Mats Nilsson

Department of Genetics and Pathology, Rudbeck Laboratory, Uppsala
University SE-751 85 Uppsala, Sweden
mats.nilsson@genpat.uu.se

The development of genotyping and sequencing techniques has been dramatic during the recent years. Now it is possible to obtain a full view over an individual's genetic landscape in the form of a million common single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in single and affordable experiments. Similarly, the second generation sequencing technologies now make sequencing of whole genomes possible, but perhaps still not quite affordable for diagnostics. Clinical applications where there exist several genetically distinct populations of cells/DNA present special problems. One important example concerns prenatal diagnosis using maternal blood samples, containing only 3-6% fetal DNA. It is already possible to diagnose fetal abnormalities of known paternal origin this way. However, diagnosis of common fetal chromosome disorders such as trisomy 21 Down syndrome, where there is only a quantitative difference between maternal and fetal DNA still presents a challenge. I will in this talk describe some DNA circularization approaches that have the required capacity to genotype individual fetal DNA molecules in a large pool of maternal DNA. The circularization approach can thus be used for identification of fetal DNA in maternal blood plasma that have differential epigenetic signatures and therefore for the non-invasive prenatal genetic disease, including in particular common chromosome disorders such as trisomy 21 Down syndrome.

References

- Larsson, C., *et al.* (2004). In situ genotyping individual DNA molecules by target-primed rolling-circle amplification of padlock probes. *Nat. Methods* **1**, 227-232.
- Nilsson, M., *et al.* (2006). Analyzing genes using closing and replicating circles. *Trends Biotechnol.* **24**, 83-88.
- Jarvius, J., *et al.* (2006). Digital quantification using amplified single-molecule detection. *Nat. Methods* **3**, 725-727.
- Papageorgiou *et al.* (2009). Sites of differential DNA methylation between placenta and peripheral blood: molecular markers for noninvasive prenatal diagnosis of aneuploidies. *Am J Pathol.* 174:1609-18.

ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Погорелова Т.Н., Орлов В.И., Гунько В.О.

ФГУ «Ростовский НИИ акушерства и педиатрии Росмедтехнологий»

Ростов-на-Дону, ул. Мечникова 43

Тел.: (863) 227-5077, e-mail: rniiap@yandex.ru

Использование протеомных исследований в акушерстве позволяет выяснить ранее неизвестные механизмы развития осложненной гестации и значительно повысить возможности своевременного выявления пренатальных повреждений.

Целью настоящей работы явилось изучение протеомного спектра околоплодных вод (ОВ) во II триместре беременности.

В проспективное исследование включены женщины с физиологической беременностью и осложнившейся задержкой роста плода (ЗРП), верифицированной после рождения ребенка. Идентификацию белков после их разделения и трипсинолиза проводили методом времяпролётной масс-спектрометрии с использованием алгоритмов биоинформатики. Сопоставление протеомного профиля ОВ выявило ряд белков отличия, отсутствующих при ЗРП: связывающий жирные кислоты эпидермальный белок, участвующий в регуляции клеточной дифференцировки, антиоксидантный фермент пероксиредоксин-2 и неферментативный антиоксидант гаптоглобин. Нарушение продукции этих антиоксидантов, очевидно, способствует усилению окислительного стресса, нередко сопровождающего развитие ЗРП. Наряду с отсутствием в ОВ при осложненной гестации вышеуказанных белков, обнаруживается появление дополнительных белков, не выявленных при физиологической беременности: нейрокальцин дельта, CDC37-подобный белок и NKG2D лиганд 2. Продукция при ЗРП этих белков, особенно последнего, усиливающего секрецию эмбриотоксических цитокинов и активирующего апоптоз, по-видимому, имеет важное значение в механизмах развития данной патологии. Выявленные белковые отличия могут служить маркерами состояния плода.

ДИАГНОСТИКА ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ: ПОДХОДЫ, МЕТОДЫ, РЕЗУЛЬТАТЫ

Рубцов Н.Б.

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, 630090, пр. Академика Лаврентьева, 10, e-mail: rubt@bionet.nsc.ru, ² Новосибирский государственный

Требования к проведению диагностики хромосомных аномалий, проводимой на материале, полученном в результате амнио- и кордоцентеза, обычно включают не только точное и надежное описание кариотипа плода, но и выполнение анализа в крайне сжатые сроки. В случае диагностики, проводимой для выявления возможных аномалий, являющихся следствием особенностей кариотипов родителей, проблема может быть решена использованием FISH заранее выбранных и подготовленных ДНК-проб с метафазными хромосомами или интерфазными ядрами клеток плода. Диагностика *de novo* возникших хромосомных aberrаций представляет собой значительно более сложную задачу. Для ее решения нами были использованы методы микроманипуляционного выделения индивидуальных митотических клеток для получения препаратов метафазных хромосом и микроманипуляционного выделения аномальных хромосом для создания специфичным им ДНК-проб и проведения FISH с хромосомами здоровых доноров.

Использование микроманипуляционной техники получения препаратов метафазных хромосом из индивидуальных амниотических клеток позволяло сократить время диагностики и завершать хромосомный анализ на 3-6 день после забора материала. Анализ состава аномальной хромосомы ее микродиссекцией, созданием ДНК-проб и проведением FISH со стандартными хромосомами позволяло дать заключение на третий день, считая со дня приготовления препаратов метафазных хромосом. Совместное применение этих методов позволяло проводить молекулярно-цитогенетическое описание состава аномальной хромосомы в среднем за 8 дней.

Опыт проведения пренатальной диагностики с использованием данного комплекса методов показал их высокую эффективность, особенно, в случаях возникших *de novo* сверхчисленных маркерных хромосом человека.

***BACS-ON-BEADS™, A NEW TECHNOLOGY FOR RAPID DETECTION OF
FETAL MICRODELETIONS AND ANEUPLOIDIES***

Salla Ruosaari

Global Business Manager at PerkinElmer LAS

Prenatal diagnosis (PD) defines a group of diagnostic procedures (invasive or non-invasive) aimed to detect fetal abnormalities. The gold standard of the invasive PD is the analysis of the metaphase spreads from fetal/placental tissues to investigate the possible

presence of chromosome abnormalities. Additional molecular and molecular cytogenetics techniques (i.e.: FISH; MLPA; QF-PCR; aCGH) are usually applied to assist cytogenetic diagnosis. In general, these assays increase the resolution of the chromosome abnormalities missed by karyotyping with different combinations of advantages and limitations. None of them combine an extensive coverage of the critical regions associated with the most frequent microdeletions syndromes with multiplexing and high throughput capabilities, cost effectiveness and clear interpretation of the output results. Herein we present a new technology from PerkinElmer, BACs-on-Beads™, developed to overcome these limitations of prenatal cytogenetics diagnosis.

BACs-on-Beads™ is a technology where probes generated from selected bacterial artificial chromosomes (BACs) are immobilized onto color encoded beads. The resulting bead sets are used to assay chromosomal gains and losses in carefully chosen target regions. Prenatal BoBs™ assay detects copy number abnormalities of chromosomes 13, 18, 21, X and Y, and of microdeletion syndrome regions. The microdeletion syndromes were selected because of significant morbidity and mortality, for their high incidence of deletions, and because they may be missed in detailed sonography.

In conclusion, BACs-on-Beads™ is a robust and versatile technology for evaluating chromosome abnormalities in prenatal settings with the potential to represent a new-generation diagnostic prenatal platform overcoming the weaknesses of the current molecular cytogenetics techniques.

ПРОБЛЕМЫ МЕТРОЛОГИИ, СЕРТИФИКАЦИИ И СТАНДАРТИЗАЦИИ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

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

Rosalind Hastings

CEQA and UK NEQAS for Clinical Cytogenetics

Oxford

The importance and implications of genetic tests place a heavy burden of responsibility on the services that perform them, to ensure that the results are correct.

The qualitative nature of genetic tests, the diversity of tests, the rapid evolution of knowledge and techniques, the necessity for individualized analyses and interpretation of test results, and various ethical, social, and legal issues related to the unique nature of genetic information are specific to genetics. Governmental and international organizations have therefore produced guidelines or regulations assuring the quality of testing in genetics.

Few diagnostic laboratories in Europe are accredited (ISO 15189) since it requires a major investment of effort and money and the benefits often only become evident after a long period of time. As a consequence of the Eurogentest Network the number of laboratories working towards accreditation is growing.

As laboratories become more aware of the need to become accredited, access to EQA (External Quality Assessment) schemes becomes crucial. EQA is educational and aims to improve and validate the overall quality of genetic service to the user. Regular EQA assessment compares laboratory performance against set standards and also allows comparison between laboratories. EQA also provides individual laboratory feedback and participants meetings so that the overall quality of the diagnostic genetic service will improve further.

EQA and accreditation will improve the quality management and provision of genetic services for the benefit of the patient. A regularly audited Quality Management System will minimise the error rate further.

***ORGANIZATION AND QUALITY IN THE PROVISION OF MEDICAL
GENETIC SERVICES IN EUROPE***

Coviello Domenico

Laboratory of Human Genetics, Galliera Hospital
Genoa, Italy

At the beginning of the new millennium, the need to provide more genetic testing in Europe and to shift this activity from research to diagnostic raised the question to verify the quality of Genetic Services.

Clinical laboratory services that should be provided include cytogenetic, biochemical and molecular tests. EuroGentest project has organized a group of units that approach the need of quality of genetic services:

1. Laboratory organization and quality: to help and encourage labs to implement a quality system; provision of sustainable and harmonized External Quality Assessment (EQA) for all genetic labs; to facilitate access to and production of (certified) reference materials; to produce validated SOPs for diagnostic procedures.
2. Find information on a genetic diseases, genetic tests, quality assurance (QAu) for laboratories across Europe via Orphanet (www.orpha.net) a database of information on rare diseases and orphan drugs for all publics.
3. Clinical, Community And Public Health Genetics: to improve the quality of genetic counseling services across Europe, establish recommendations and minimal criteria for different testing situations and to define clinical validity and utility of genetic testing by investigating genetic services across European countries.
4. Evaluate new and emerging technologies relevant to genetic testing: update and maintain an inventory of (new) technologies relevant to genetic testing; prioritize new technologies in order of interest.
5. Ethical & Legal Aspects of genetic testing and patient rights: list of national and international guidance on ethical aspects of genetic testing, schematic overview of relevant national laws on patients' rights in general and genetic services in particular.
6. Genetic education: development of a set of core competences to support preparation of health professionals in Europe; development of a series of 15 leaflets to provide general information for patients and families about genetics and genetic testing.

РЕПРОДУКТИВНАЯ ГЕНЕТИКА

HUMAN CHIMERA AND TWINS IN CURRENT REPRODUCTIVE CYTOGENETICS

Michael D. Golubovsky

Department of Molecular and Cell Biology, University California Berkeley
CA 94803, USA

Human spontaneous chimerism and twinning might be viewed as an amazing example of natural reproductive engineering. The FISH technique and microsatellite DNA analysis have shown an unpredictable unusual cases of chimerism, mosaicism and twinning. Many aspects of chimera/twinning origin are still unclear or need to be re-examined in the light of recent discoveries. Outburst of findings of unusual cases of chimerism/mosaicism, surprising placenta/fetus and mole/twin chimeric associations forestalls their theoretical prediction. To correct this situation we describe the concept of postzygotic diploidization of dispermic or androgenic triploids (PDT) which presents an explanation for the broad spectrum of reproductive cytogenetic oddities and provides additional or alternative interpretations and predictions (Golubovsky: Hum.Reprod 2003). PDT concept encompasses in one conceptual frame predominantly dispermic origin of triploids, their eccentric cleavage divisions and paternal centrosome inheritance. PDT includes three main reproductive scenario: (i) the maintenance of $3n$ state with segregation of $2n$ clones and $2n/3n$ mixoploidy; (ii) heterochronous segregation and replication of three genomes resulting in immediate elimination of an odd haploid set and occurrence and of $1n/2n$, $2n/3n$ mixoploids, biparental M1P1/M1P2 and androgenic P1P2 clones; (iii) triploid spindle formation leading to gross aneuploidy, cell death and occasional survival of triploidy/trisomy associations. In the frame of PDT a regular natural occurrence of $2n$ moles P1P2 do not need suggestion of “empty” oocyte reservoir never observed. PDT concept predicts an existence of cryptic mosaic/chimeras, diverse androgenic microchimerism, and appearance of the third type of twins intermediate between MZ and DZ. We indicate following recent PDT confirmations. First, findings of an androgenic/biparental chimerism leading to placental mesenchymal dysplasia. Second, genome wide androgenic/bipaternal chimerism connected with regional or tissue specific imprinting –dependent pathology like Beckwith-Wideman syndrome and hyperinsulinism. Third, finding of genome wide androgenic chimerism manifesting both as placental mesenchymal dysplasia and live child regional pathology; Fourth, a reliable

explanation for unusual reproductive lesions as 2n androgenous moles (P1P1 and P1P2) and specific *2n mole/ normal co-fetus* associations sharing the same paternal genome(s). Fifth, conclusion that *2n mole/normal co-fetus* twin complexes may derive from one single 3n oocyte in accordance with PDT cleavage scenario. Recent finding of triple chimeric oddities like P1P2+M1P1/M1P2 derived from one in vitro fertilized oocyte M1P1P2 also confirms PDT concept . Sixth, findings of intricate cases of diploid-triploid mixoploidy combined with aneuploidy. At last, in accordance with PDT a new type of twins was discovered in 2007 intermediate between typical MZ and DZ twins and having one maternal and two mixed paternal genomes M1P1/M1P2.

***USING ARRAY-CGH IN PGD FOR CARRIERS OF BALANCED
TRANSLOCATIONS***

Kremenskoy M.

Clinic of Reproductive Medicine “Nadiya”
28-A Andriivsky uzviz, Kyiv, 01025, UKRAINE
Tel.: +38 (044) 537-7-597, e-mail: m.kremenskoy@ivf.com.ua

Carriers of balanced translocations are generally phenotypically normal and most often they can be detected when the couple is faced with infertility or recurrent pregnancy loss. Also, balanced translocations may be discovered when there is a phenotypically-abnormal offspring arising from production of genetically-unbalanced gametes. When a member of a couple carries a balanced translocation, the couple is at an increased risk of a pregnancy with an unbalanced chromosome complement, which can cause birth defects, mental retardation, and/or miscarriage.

Currently, the only way to distinguish chromosomally normal/“balanced”, and abnormal embryos is preimplantation genetic diagnosis (PGD). PGD allows selecting those embryos that are known to be either “balanced” or normal, thus avoiding achieving a pregnancy with an unbalanced set of chromosomes. After the blastomeres are retrieved from 6-8 cell embryos, Fluorescent In-Situ Hybridization (FISH) analysis is performed for the specific chromosomes involved in the translocation. Probes labeled with fluorescent signals are used to identify certain chromosome segments. Different colors are used to identify different chromosomes. By the FISH analysis we can visualize only small (approximately 100 kb) regions of the genome at a time. Therefore, rearrangements involving regions outside of this small area could be missed. At the same time, whole chromosome painting cannot reliably detect translocations involving the distal ends of chromosomes.

Comparative genomic hybridization (CGH) was generated to ease the detection of DNA copy number changes. Recently, high-resolution array-CGH technique has been developed. This method can resolve hundreds base pairs (oligo array-CGH) or hundreds kilo bases (BAC/PAC array-CGH) and permits the detection of cryptic copy number changes. Thus, the whole genome can be screened in a single experiment. Until now, array CGH has been performed using a significant quantity of DNA derived from the bulk of cells. Recent investigations showed that array-CGH can accurately detects chromosomal imbalances from a single cell including single blastomeres derived from preimplantation embryos within a single day. This method offers new possibilities for PGD analysis, particularly for detection of unbalanced translocations in preimplantation embryos.

***PREIMPLANTATION DIAGNOSIS: PRIMARY PREVENTION OF GENETIC DISORDERS
AND STEM CELL THERAPY OF CONGENITAL AND ACQUIRED CONDITIONS WITH NO
OTHER AVAILABLE TREATMENT***

Anver Kuliev

Reproductive Genetics Institute
Chicago, USA

Applied initially for primary prevention of Mendelian disorders, preimplantation genetic diagnosis (PGD) has gradually become an established procedure for avoiding risk of chromosomal abnormalities and common disorders with genetic predisposition. PGD was further applied even for non-genetic conditions, to preselect HLA compatible progeny, with or without PGD, and most recently for derivation of the disease and individual specific embryonic stem cell (ESC) lines.

Our two decades' experience includes, approximately 8,000 PGD cases performed more than 200 different genetic conditions, representing the world's largest series of 2000 PGD for monogenic disorders, yielding birth of 630 unaffected children, with 99, 4% accuracy rate. This includes the increasing number of PGD for late onset disorders, including 185 for cancer predisposition in couples at risk for producing 18 different inherited cancers. This largest PGD series resulted in transfer of hundreds of embryos free from genes predisposing to specific cancers, yielding birth of over 60 healthy children free from cancer predisposition. Among other novel PGD applications were predisposition to Alzheimer disease, coronary heart disease, and blood groups.

Our PGD experience for non-genetic conditions includes the largest series of over 300 HLA typing cases, which already yielded hundred pregnancies and deliveries of healthy HLA

matched babies, with the high accuracy rate of 99, 4%. This includes 200 in combination with PGD for genetic disorders (thalassemia, sickle cell disease, Fanconi anemia (FA), Wiscott-Aldrich syndrome (WAS), X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD), X-linked Hyper-IgM Immunodeficiency, (HIGM1), X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia with immune deficiency (HED-ID), Krabbe disease, inherited form of Diamond-Blackfan anemia (DBA) and X-Linked Chronic Granulomatous Disease (CGD), involving the pre-selection of unaffected children who were also HLA identical to the affected sibling, allowing the exciting possibility for improving access to HLA compatible stem cell transplantation for increasing number of severe congenital and acquired bone marrow disorders, which is presently restricted by the availability of HLA matched donors.

The majority of PGD cases are still performed for chromosomal abnormalities, including aneuploidies and translocations. Our experience involves over 5000 PGD for aneuploidies, which allowed improving effectiveness of assisted reproductive technology. The high accuracy of technique was achieved by three step FISH analysis: first and second polar body for 5 chromosomes, blastomere analysis for 9 chromosomes, and blastocyst biopsy if necessary, which resulted in over 1,000 healthy children born. Of special practical importance were 475 PGD for translocations, resulting in birth of 130 unaffected children, with only 22 (16.8%) spontaneous abortions. These couples had 75% spontaneous abortion and stillbirth rate prior to PGD, suggesting considerable reduction of fetal loss rate after the application of PGD.

Finally, the most recent and exciting application of PGD is the establishment of human ESC lines. Our work in this direction resulted in derivation of 327 human ESC lines, which is the world's largest repository, containing also the only collection of 87 disease specific ESC with genetic and chromosomal disorders, representing a unique in vitro model for the developments of cellular therapy of common congenital and acquired disorders (www.stemride.com).

MEIOTIC ABNORMALITIES IN HUMAN SPERMATOGENESIS

Renée H. Martin

Department of Medical Genetics, University of Calgary
Calgary, Alberta., Canada

The last few years have witnessed an explosion in the information about chromosome abnormalities in human sperm and the meiotic events that predispose to these abnormalities. We have determined that all chromosomes are susceptible to nondisjunction, but

chromosomes 21 and 22 and, especially, the sex chromosomes have an increased frequency of aneuploidy. These chromosomes generally only have one chiasma at meiosis and thus they are more susceptible to abnormal segregation. In the last decade, there has been a great impetus to study chromosome abnormalities in sperm from infertile men because the advent of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) made it possible for these men to father pregnancies. A large number of studies have demonstrated that infertile men have an increased frequency of chromosomally abnormal sperm and children, even when they have a normal somatic karyotype. We have shown that sperm chromosomal abnormalities are present in men with oligozoospermia, aesthenozoospermia, teratozoospermia and azoospermia varying from 2- to 10-fold the frequency seen in control donors. Our meiotic studies on the pachytene stage of spermatogenesis have demonstrated that infertile men have impaired chromosome synapsis, a significantly decreased frequency of recombination, and an increased frequency of chromosomes completely lacking a recombination site. Such errors make these cells susceptible to meiotic arrest and the production of aneuploid gametes.

***CYTOGENETIC/MOLECULAR APPROACHES TO STUDYING
SPONTANEOUS ABORTIONS***

Anna Soler

Cytogenetics and Clinical Genetics Unit. Biochemistry and
Molecular Genetics Service. Hospital Clínic de Barcelona Spain

Around 15% of clinically recognizable pregnancies result in spontaneous abortions, most of them in the first weeks of gestation. About 50% of first trimester fetal losses are caused by chromosome abnormalities, mainly sporadic aneuploidies or triploidies, but in a minority of cases by structural chromosome aberrations, which can be derived from a parental balanced rearrangement. Cytogenetic analysis of spontaneous abortions provides valuable information in order to offer a better recurrence risk estimate for the couple.

Traditional cytogenetic testing of spontaneous abortions has involved conventional tissue culture and karyotyping of chorionic villi/placenta or fetal material. This technique is labor-intensive and has a low success rate (about 60%), due to lack of cell growth, external microbial contamination and/or overgrowth of maternal cells present in the specimen. On the other hand, this technique detects all kind of numerical and structural chromosome abnormalities, including those associated with a parental rearrangement, with a resolution of 5-10 Mb.

An alternative approach has been applied for the cytogenetic study of spontaneous abortions, with a better success rate. It consists in obtaining a chorionic villi sample (CVS) before evacuation and performing short-term culture of villi and karyotyping. This technique eliminates maternal cell contamination and minimizes external microbial contamination. Also, it is a faster method that allows the detection of all kind of chromosome abnormalities. A potential drawback is the detection of some chromosome abnormalities confined to the placenta; however, they may also play a role in the cause of fetal wastage. Using this approach, in our center we studied a series of 423 spontaneous abortions with a failure rate of 16.6% and an overall rate of abnormal karyotypes of 72.6%. The abnormal karyotypes included one tetraploidy (0.3%), triploidies (14.7%), trisomies (67.4%), monosomies (11%) and structural rearrangements (6.6%). Ten percent of these cases presented a combination of two different chromosome abnormalities.

Other genetic techniques, which obviate the need for cell culture, have been successfully applied to detect chromosome abnormalities in spontaneous abortions. Fluorescent in situ hybridization (FISH) and quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) are techniques that permit the determination of the copy number of selected chromosomes in uncultured tissues. Their major disadvantage is the limited number of chromosomes tested, usually the common combination 21-18-13-X-Y or, more specific for fetal wastage, a combination that also includes chromosomes 15-16-22. Moreover, FISH techniques are also time-consuming and relatively expensive. Using these approaches, it is possible to detect aneuploidies involving only the chromosomes tested, as well as triploidies, but no structural rearrangements. We applied the described 8-chromosomes-QF-PCR in 56 samples without karyotype and obtained a 35.7% of chromosome abnormalities with a success rate of 98%, the usual figure for molecular analyses.

Other molecular cytogenetic techniques that have proven to be helpful in the detection of chromosome abnormalities in spontaneous abortions are multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), comparative genomic hybridization (CGH) and array-CGH. CGH techniques allow the detection of chromosomal gains and losses affecting the whole genome in a single reaction, with array-CGH giving the highest resolution. Subtelomeric MLPA allows the detection of all aneuploidies and most unbalanced rearrangements, since almost all anomalies diagnosed involve gains or losses of subtelomere regions. However, these molecular approaches are unable to detect on the one hand balanced rearrangements, and on the other hand triploidies and tetraploidies, which account for 10-15% of early fetal losses,

and they should be combined with other techniques such as flow cytometry or FISH for the detection of polyploidies.

In order to reduce costs, which are often unaffordable for the majority of diagnostic laboratories (especially when concerning the array-CGH technique), and improve the efficiency and the diagnostic success rate, other combinations of techniques have been applied, such as the use of karyotyping plus QF-PCR or MLPA in unsuccessful cases, or the combined QF-PCR and MLPA approach.

Every technique has its advantages and limitations. Based on its own experience and possibilities, each diagnostic laboratory should choose its particular approach for the detection of chromosome abnormalities in spontaneous abortions.

ГЕНЕТИКА ГОНАДНОГО МОЗАИЦИЗМА

Ковалева Н.В.

Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая Медицинская Академия
194100 Санкт-Петербург, Литовская ул., 2
Тел/факс: (812) 534-7270, e-mail: kovaleva@robotek.ru

Бессимптомное носительство гонадного мозаицизма (ГМ) по хромосомной аномалии не является исключительно редким явлением. Однако до сих пор слабо изучены механизмы и критические периоды формирования ГМ, неизвестны его частота и предрасполагающие факторы, а также причины различий в соотношении полов между носителями ГМ по некоторым типам хромосомных аномалий. Последние работы автора помогают пролить свет на некоторые из этих проблем.

Предложен подход к определению популяционной частоты ГМ по трисомиям хромосом, не несущих импринтированных генов [Genet Test 11:342]. Разработан алгоритм обследования семей предполагаемых носителей ГМ этого типа с использованием цитогенетических и молекулярно-генетических методов [EJHG 16 (S1):153].

Показано, что преобладание женщин среди носителей ГМ по регулярной трисомии и по перестройкам, вовлекающим перицентромерные районы, объясняется полоспецифичной коррекцией трисомии и полоспецифичной нестабильностью центромер в эмбриогенезе [AJMG 136A:401]. Получены данные, свидетельствующие о реализации феномена на самой ранней стадии эмбрионального развития. Это позволяет предположить влияние реактивации отцовской X-хромосомы в зиготе женского пола на

процесс ремоделирования хроматина, способствующее повышению нестабильности прицентромерных районов [EJHG 15(S1):101].

Доминирование женщин среди носителей ГМ по дериватной хромосоме, в отличие от носителей ГМ по сбалансированной перестройке, позволяет предполагать еще один механизм - более эффективный отбор против аномальных клеток у индивидов мужского пола [ESHG 2005, 13(S1):171].

Исследование семей пробандов с унаследованной трисомией 21 показало, что большая часть носителей ГМ произошли из трисомных зигот, при этом значительная роль в образовании ГМ принадлежит полоспецифической коррекции трисомии и наследственной предрасположенности к нерасхождению. Предполагается, что механизмом, способствующим предпочтительному образованию нормальных X-несущих гамет в трисомных сперматогониях у отцов-носителей ГМ, является мейотическая негомологичная коориентация обеих хромосом 21 и X хромосомы [MolCytogenet 3(1):7].

СКРИНИНГ МУТАЦИЙ ГЕНА CFTR ПРИ МУЖСКОМ БЕСПЛОДИИ

***Маркова Е.В., Казьмина Н.В., Казанцева О.М., Татару Д.А., Зайцева Т.А.,
Светлаков А.В.***

Красноярский центр репродуктивной медицины
660037 Красноярск, а/я 2714 Тел.: (391)2640895, e-
mail: krasivf@kcrm.ru

Мутации гена *CFTR* (трансмембранного регулятора муковисцидоза) рассматриваются в качестве одного из молекулярно-генетических факторов мужского бесплодия, ассоциированного главным образом с врожденной двухсторонней аплазией семявыносящих протоков (CBAVD). Часть вариантов синдрома односторонней аплазии семявыносящих протоков также обусловлена мутациями гена *CFTR*. Рядом авторов рекомендован более широкий скрининг мутаций *CFTR*: для всех пациентов с азооспермией и олигозооспермией и даже более широко – для всех случаев мужского бесплодия.

В Красноярском центре репродуктивной медицины скрининг мутаций гена *CFTR* при мужском бесплодии проводится с ноября 2004 года. Всего за этот период обследованы 690 мужчин. При скрининге применяли панель из 12-13 мутаций. В нескольких случаях CBAVD анализировали 32 мутации *CFTR*-гена. С 2009 года базовая панель дополнена исследованием поли-Т полиморфизма 8 интрона (*IVS8 5T* аллеля), что позволило повысить диагностическую значимость скрининга.

Среди обследованных лиц мутации установлены в 3,1% случаев. Из них выявлены шесть случаев компаундных генотипов сочетания *delF508* с «мягкой» мутацией. Всем этим пациентам был поставлен СВАВД. У двух пациентов с аналогичным диагнозом выявлена только одна мутация *delF508*. В девяти случаях у лиц без обструктивной азооспермии выявлено гетерозиготное носительство мутаций *CFTR*. Мужчины-носители мутаций характеризовались разнообразными типами нарушений сперматогенеза. Во всех представленных случаях было проведено генетическое консультирование, рекомендовано исследование мутаций гена *CFTR* у жен пациентов с выявленными мутациями.

АНГИОГЕНЕЗ И ПРИВЫЧНОЕ НЕВЫНАШИВАНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ

***Садекова О.Н., Никитина Л.А., Тихончук Е.Ю., Демидова Е.М. *,
Самоходская Л.М.***

Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В.
Ломоносова *Кафедра акушерства и гинекологии с курсом
перинатологии РУДН Москва, Россия, Ломоносовский
проспект, д.31, кор.5
Тел.: (495) 932-8814, e-mail: olniksa@gmail.com

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) - полиэтиологичное заболевание, одним из ключевых факторов возникновения которого является нарушение процессов ангиогенеза, определяющее состояние эндометрия в периимплантационный период.

Цель работы: оценка вклада процессов ангиогенеза в развитие ПНБ и выявление ангиогенных генетических предикторов заболевания.

Объекты и методы исследования: 24 женщины с ПНБ и 15 женщин группы сравнения, которым проводилась биопсия эндометрия с последующей оценкой уровня транскрипции VEGF при помощи RT-PCR и экспрессии его белка путем иммуногистохимического окрашивания эндометрия. Генотипирование проводилось среди 100 женщин основной и 120 женщин контрольной группы.

Результаты: Выявлено достоверное снижение уровня транскрипции мРНК VEGF в эндометрии женщин с ПНБ и женщин с неполноценной лютеиновой фазой (НЛФ) по сравнению с женщинами, чья репродуктивная функция была реализована ($p=0,03$ и $p=0,01$ соотв.). У женщин с ПНБ отмечается тенденция к менее интенсивному окрашиванию сосудов и стромы эндометрия в отличие от женщин группы сравнения ($p=0,11$ и $p=0,08$ соотв.). Показана достоверная взаимосвязь между носительством аллели 936Т и тенденция к взаимосвязи носительства аллелей 1154А, 2578А и 634С гена VEGF и развитием ПНБ ($p=0,03$, $p=0,75$, $p=0,23$ и $p=0,52$ соотв.).

Выводы: В эндометрии женщин с ПНБ происходит достоверное снижение транскрипции гена VEGF и некоторое снижение экспрессии его белка, указывая на значимость нарушения процессов ангиогенеза в этиологии ПНБ. Выявление носительства мутантной аллели по одному из полиморфизмов гена VEGF указывает на наличие нарушений ангиогенных процессов и диктует необходимость более углубленного обследования таких пациенток.

ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

THE IMPACT OF WHOLE GENOME TESTING ON LABORATORY SERVICES IN EUROPE

Rosalind Hastings

CEQA and UK NEQAS for Clinical Cytogenetics
Oxford.

The application of the new genetic technologies that examine the human genome, such as array CGH and whole genome sequencing, will have an impact on both laboratories and clinical/medical genetic services. In order for patients to receive appropriate advice and genetic testing, there will be a need to discuss how best to re-structure the services logistically as well as determine the clinical utility of genetic testing. These new technologies will also have an impact on training, and the current training programmes may not be adequate for the implementation of these technologies. How will laboratories manage the increased workload and increased complexity of cases requiring extensive interpretation? Should there for example be a more integrated Genetic lab or an integrated Pathology service? How reliable are the genetic results for sensitivity and predictive value? Should Clinical Genetic services inform patients and the public at large on pros and cons of testing and clinical utility? Should all genetic information be disclosed to the patient or should it be selective? Accreditation, self-regulation, evidence based medicine – where should they play a role in this new generation of technologies?

This talk explores the multiple implications of these new technologies, and discuss ways forward to improve and adapt the genetic services so that patients receive accurate and relevant information.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РЕПАРАТИВНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЧЕЛОВЕКА: ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ β И 3'→5'-ЭКЗОНУКЛЕАЗЫ TREX-2

Белякова Н. В., Легина О. К., Ронжина Н. Л., Шевелев И. В., Крутяков В. М.

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.
Константинова РАН 188300 Ленинградская обл., Гатчина,
Орлова роща
Тел.: (81371)46598, e-mail: bel_tasha@mail.ru

Корректирующие 3'→5'-экзонуклеазы удаляют некомплементарные нуклеотиды с 3'-конца праймера ДНК, увеличивая точность синтеза ДНК в несколько десятков раз. Особенно важно повышение точности работы склонной к ошибкам ДНК-полимеразы β , поскольку она участвует в репарации многочисленных повреждений ДНК. В некоторых опухолевых клеточных линиях обнаруживается повышенная экспрессия и активность полимеразы β , что является одним из факторов, приводящих к мутаторному фенотипу. В процессе эксцизионной репарации оснований полимеразы β непосредственно взаимодействует с АП-эндонуклеазой APE1, 5'→3'-экзонуклеазой FEN1, белками PCNA и TRF2. В нашей работе исследована возможность образования комплекса между рекомбинантными ферментами человека: ДНК-полимеразой β и корректирующей 3'→5'-экзонуклеазой TREX-2. Полимераза β образует комплекс с иммобилизованной на мембране TREX-2 и наоборот. После образования комплекса области элюции ферментов на колонке с сефакирилом S200 в присутствии 1M NaCl совпадают. В присутствии нативной TREX-2 наблюдается повышение уровня синтеза ДНК в несколько раз. Таким образом, методами иммунохимии, гель-фильтрации и определения ферментативной активности показано, что полимеразы β непосредственно взаимодействует с TREX-2. Взаимодействие между ДНК-полимеразой β и 3'→5'-экзонуклеазой TREX-2 важно для эффективной репарации ДНК и способствует поддержанию стабильности генома, снижению мутагенеза и канцерогенеза.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ СПОРТИВНОЙ ГЕНЕТИКИ

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ МИОГЕННОГО ФАКТОРА 6 И А-АКТИНИНА-3, И ИХ АССОЦИАЦИЯ С ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ И СТРУКТУРОЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ЧЕЛОВЕКА

Дружневская А.М., Астратенкова И.В.

ФГУ Санкт-Петербургский «Научно-исследовательский институт физической культуры»
Санкт-Петербург, Лиговский пр., 56
Тел.: +7-(812) 600-4116, e-mail: a.druzhevskaya@gmail.com

Генетические факторы, наряду с эпигенетическими и средовыми, играют важную роль в детерминации индивидуальных различий в проявлении физических качеств и адаптационных возможностях человека [1]. Понимание важной роли миогенного фактора 6 (*MYF6*) и структурного белка α -актина-3 (*ACTN3*) для формирования скелетных мышц и поддержания целостности мышечного аппарата у взрослого человека повлияли на выбор генов-кандидатов.

Цель настоящей работы заключалась в изучении ассоциации С964Т полиморфизма гена *MYF6* и R577X полиморфизма гена *ACTN3* с физической активностью и структурой скелетных мышц человека.

Генотипирование образцов ДНК испытуемых проводили при помощи ПЦР, ПДРФ-анализа и ПААГ-электрофореза. Основная контрольная группа (КГ) состояла из 1197 человек, общая спортивная группа – из 942 спортсменов различных специализаций и квалификаций (от КМС до ЗМС). Выборка для исследования с помощью подхода «генотип-фенотип» насчитывала 784 человека; им проводили МРТ мышц бедра, гистоморфологический и иммуногистохимический анализ мышечной ткани.

Обнаружено, что частота ТТ генотипа и Т аллеля гена *MYF6* выше в группе спортсменов, занимающихся видами спорта с преимущественным проявлением выносливости при сравнении с КГ (ТТ – 42.9% против 31.9%, $P = 0.044$; Т – 64.0% против 57.7%, $P = 0.07$). Частота ХХ генотипа и Х аллеля гена *ACTN3* оказалась снижена в группе спортсменов, занимающихся скоростно-силовыми видами спорта при сравнении с КГ (ХХ – 6.4% против 14.2%, $P < 0.0001$; Х – 33.3% против 38.7%, $P = 0.004$) и видами спорта на выносливость (ХХ – 5.7% против 14.2%, $P < 0.0001$; Х – 33.2% против 38.7%, $P = 0.0025$).

Выявлено, что носители ТТ генотипа по *MYF6* обладают большей площадью поперечного сечения мышц и мышечных волокон за счет преобладания медленных волокон. В результате силовой тренировки у носителей генотипа RR по *ACTN3* имелась тенденция к более высокой степени гипертрофии отдельных мышц и быстрых мышечных волокон.

1. Ahmetov II, Rogozkin VA. Genes, athlete status and training. An Overview // Med Sport Sci. – 2009:54(43-71).

**ОЦЕНКА УЗКОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ И ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ
ТРЕНИРОВОЧНОГО ПРОЦЕССА У ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ
СПОРТСМЕНОВ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОГРАММ**

*Егоров В.М., Глотов О.С. *, Глотов А.С. **

РОО хоккейный клуб СКА
197110 Санкт-Петербург, Ждановская ул., 2
*НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН
199034 Санкт-Петербург, Менделеевская линия 3,
Телефон/факс: (812) 328-0262, e-mail: anglotov@mail.ru

Идентификация генетических маркеров, позволяющих прогнозировать развитие физических качеств человека, имеет большое значение для наиболее эффективного профессионального отбора в спорт и последующей индивидуализации тренировочного процесса.

До недавних пор ген ангиотензин-превращающего фермента (ACE) оставался основным генетическим «маркером спортивных результатов». Однако при тренировке высококвалифицированных спортсменов для учета адаптации к нагрузкам, расчета времени восстановления, выбора тактики на дистанции, а при наличии патологии со стороны сердечно-сосудистой системы - схемы лечения без отстранения от соревновательной и тренировочной практики, требуется системный подход, подразумевающий изучение влияния на физическую активность полиморфизма не только этого гена, но и других генов этой системы и генов других систем.

В ходе исследования нами изучены несколько групп спортсменов: сборная России по велоспорту (трековая мужская сборная), сборная России по плаванию на открытой воде (данные предоставлены врачом сборной Ломазовой Е.В.), профессионального хоккейного клуба (СКА СПб); дети с различной - по мнению тренера - перспективностью в спорте (СДЮШОР СКА по хоккею). Для оценки влияния генотипа на физическую работоспособность и возможность управления тренировочным

процессом были учтены в динамике следующие параметры: АД, ЧСС, лактат и глюкоза крови при выполнении тестовых заданий, АлТ, АсТ, КФК, мочевины, тестостерон, кортизол, СТГ, ЭПО.

В результате проведенных пилотных исследований была прослежена связь генетической архитектуры (панели генов кардиоваскулярной системы, метаболизма углеводов) и спортивного фенотипа, которая позволяет проводить отбор в спорт, индивидуализировать тренировочный процесс и программы восстановления атлетов. Предложен алгоритм оценки генетического тестирования для начинающих и профессиональных спортсменов.

Список литературы

Nazarov I.B., Woods D.R., Montgomery H.E., Shneider O.V., Kazakov V.I., Tomilin N.V., Rogozkin V.A. The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes // Eur. J. Hum. Genet. 2001. V. 9. P. 797-801.

Рогозкин В.А., Астратенкова И.В., Дружевская А.М., Федотовская О.Н. Гены-маркеры предрасположенности к скоростно-силовым видам спорта // Теория и практика физической культуры. - 2005. - №1. - С.2-4.

**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В СПОРТЕ -
СТРАТЕГИЧЕСКОЕ НАПРАВЛЕНИЕ СПОРТИВНОЙ
МЕДИЦИНЫ**

Лидов П.И.

Федеральное медико-биологическое агентство
Федерация тенниса России
123182 Москва, Волоколамское шоссе, 30
Телефон: (915) 415-5503, e-mail: lidov2005@yandex.ru

В рамках программ «Теннис XXI века» и «Генетический паспорт спортсмена» для теннисистов детского возраста разработаны стандарты генетического тестирования показателей здоровья и спортивной предрасположенности. Комбинированный анализ результатов генетического тестирования и комплексного медицинского обследования (анкетирование, тестирование, лабораторная и инструментальная диагностика, консультации профильных специалистов) дает возможность изучать состояние основных антомо-функциональных систем организма в настоящем и с определенной долей вероятности прогнозировать развитие ряда социально-значимых болезней в будущем. Для тренерского состава и родителей разработаны формы заключений и рекомендаций по коррекции тренировочного процесса, изменений образа жизни, характера питания, схемы нутрицевтической поддержки. Предлагаемое стандартизированное обследование позволяет оптимизировать спортивный отбор, улучшить показатели здоровья, предотвратить необоснованное прекращение занятием теннисом и ускорить развитие программы «Генетический паспорт спортсмена», в связи

с чем может рассматриваться как стратегическая модель будущего развития детской спортивной медицины.

Список литературы

Баранов В.С., Иващенко Т.Э., Глотов А.С., Баранова Е.В., Асеев М.В., Глотов О.С., Беспалова О.Н., Демин Г.С., Москаленко М.В., Швед Н.Ю. Генетический паспорт - основа индивидуальной и предиктивной медицины. Под ред. В. С. Баранова — СПб.: «Изд-во Н-Л», ООО, 2009. — 528 с.

РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ В ГЕНЕЗЕ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ «СПОРТИВНОГО СЕРДЦА»

Линде Е.В.¹, Ахметов И.И.², Орджоникидзе З.Г.³

¹ Российский государственный университет физической культуры, спорта и туризма Москва, Сиреневый бульвар дом 4
Тел.: 8(499)166-57-37, e-mail: elena.linde@gmail.com

² Санкт-Петербургский НИИ физической культуры

³ Московский научно-практический центр спортивной медицины

На протяжении последних 5 лет Лаборатория функциональной диагностики РГУФКСиТ совместно с СПбНИИФК и МНПЦСМ проводят исследования по идентификации полиморфизмов «спортивных» генов и их ассоциации с морфофункциональными особенностями спортивного сердца. Было проведено комплексное клинико-функциональное и генетическое обследование более чем 300 высококвалифицированных спортсменов циклических (гребля, конькобежное многоборье), скоростно-силовых (единоборства), сложно-координационных (спортивная гимнастика), игровых (большой теннис) и сложно-технических (авто и мотоспорт) видов спорта. Клинико-генетическое исследование включало анализ стандартной ЭКГ в покое и в нагрузке, эхокардиографическое и эргоспирометрическое исследование, а также определение полиморфизмов генов *ACE*, *NFATC4*, *PPARA* и *PPARD* с помощью ПЦР.

В результате исследований было выявлено участие аллелей полиморфных генов системы RAAS (*D-ACE*), аллелей генов-регуляторов жирового обмена (*C – PPARA*; *C - PPARD*), генов-регуляторов гипертрофического ответа (*D-CNB*) и NFAT (*Ala160 NFATC4*) а также аллеля G гена-регулятора роста эндотелия сосудов (*G-VEGFA*) в формировании неадекватного гипертрофического ответа у спортсменов различных специализаций. У спортсменов с генотипом *ACE DD* отмечалось достоверное снижение физической работоспособности, тенденция к неадекватному росту артериального давления и ЧСС в нагрузке, а также прогрессирующее нарушение электрогенеза

сердечной мышцы (снижение сегмента ST) при нагрузке на уровне порога анаэробного обмена.

Полученные результаты подтверждают мнение об участии генов предрасположенности в процессе стресс-индуцированной трансформации «спортивного сердца», которые реализуют свое патологическое воздействие лишь в определенных экологически неблагоприятных условиях.

**ПОЛИМОРФИЗМГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ ОБМЕНА
ВЕЩЕСТВ, И ПИТАНИЕ ЮНЫХ СПОРТСМЕНОВ**

Топанова А.А.¹, Гольберг Н.Д.²

¹ Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И.
Мечникова

197067 Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47
Тел.: +7 981-727-0050; e-mail: topanova@mail.ru

² ФГУ Санкт Петербургский научно-исследовательский институт физической
197110 Санкт-Петербург, пр. Динамо, 2

Рациональное питание является важнейшим условием достижения спортивного успеха и сохранения здоровья спортсмена на протяжении всей спортивной карьеры.

Цель: разработать рекомендации по коррекции питания юных спортсменов для профилактики развития мультифакториальных заболеваний обмена веществ.

В обследовании принимали участие 232 спортсмена (15-19 лет) различных специализаций. Оценивали распределение полиморфизмов генов PPARG, UCP2, UCP3, ACE, физическое развитие, биохимические параметры углеводного и липидного метаболизма, фактическое питание.

Результаты: у 42,6% спортсменов была выявлена дисгармоничность развития, 9,5% спортсменов имеют избыточный и 9,6% - недостаточный пищевой статус. При оценке фактического питания обнаружено нарушение режима питания, избыточная энергоценность рационов, нарушение соотношений потребления макро- и микронутриентов, недостаток потребления витаминов и микроэлементов. Анализ распределения полиморфизмов генов показал, что 4,1% спортсменов имеют CC генотип по гену PPARG; 69,7%- Pro/Pro по гену PPARG, 22%- Val/Val по гену UCP2, 6,6%- TT по гену UCP3, 24,9%- DD по гену ACE, 33,2% атлетов имеют различные сочетания от 2 до 4 генотипов «предрасположенности».

Был предложен комплекс рекомендаций по индивидуальной коррекции питания юных спортсменов с генетической предрасположенностью к нарушению метаболизма,

который реализуется с применением компьютерной программы «Организация питания в ДЮСШ и УОР».

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА A/G ГЕНА МЫШЕЧНОЙ
КРЕАТИНКИНАЗЫ (СКММ) С ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТЬЮ
СПОРТСМЕНОВ**

Федотовская О.Н., Астратенкова И.В.

ФГУ Санкт-Петербургский НИИ физической культуры
Санкт-Петербург, Лиговский пр., 56, лит. Е Тел.: (812)
600-4116 , e-mail: o.fedotovska@mail.ru

Энергообеспечение мышечной деятельности напрямую определяет работоспособность спортсмена. После реализации в 2001 году проекта «Геном человека» поиск генов-маркеров, детерминирующих эффективность работы путей ресинтеза АТФ, является одним из приоритетных направлений спортивной генетики.

Во время интенсивных физических упражнений в скелетных мышцах работает креатинфосфокиназный механизм анаэробного ресинтеза АТФ, при котором происходит перефосфорилирование между креатинфосфатом и АДФ. Специфичная для скелетных мышц изоформа М креатинфосфокиназы кодируется геном *СКММ* (19q13.2). Показано, что A/G полиморфизм гена *СКММ* связан с различным проявлением аэробных возможностей человека [1].

Цель исследования заключалась в выявлении ассоциации A/G полиморфизма гена *СКММ* (rs.8111989) с физической работоспособностью спортсменов.

Методами полимеразной цепной реакции и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов определен A/G полиморфизм гена *СКММ* у 209 жителей Санкт-Петербурга и 170 профессиональных спортсменов, занимающихся видами спорта на выносливость (академическая гребля, лыжные гонки, биатлон). С помощью эргоспирометрии у всех спортсменов определяли значения максимального потребления кислорода (МПК), порога анаэробного обмена (ПАНО) и критической мощности (Nкрит.) при выполнении ступенчато-возрастающей нагрузки на велоэргометре. У 27 спортсменов данные показатели измеряли до и после 4-месячной тренировки на выносливость.

Результаты. Впервые определены частоты генотипов и аллелей гена *СКММ* у жителей Санкт-Петербурга и российских спортсменов. Результаты статистически не отличались в обследованных группах и от значений в Европейской популяции.

Показатели МПК, ПАНО и Нкрит. были выше у спортсменов-носителей аллеля G, по сравнению с гомозиготами AA ($P < 0.05$). Прирост МПК после тренировки на выносливость был больше у спортсменов с генотипом GG ($P < 0.01$). Таким образом, полиморфизм A/G гена *СКММ* ассоциируется с физической работоспособностью спортсмена.

1. D.Q.Zhou et al., *BJSM*, 2006, №40, pp.988-991

СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МНОГОМЕРНОЙ СТАТИСТИКИ ПРИ СРАВНИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ДВУХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП

Бражникова Е.А., Дружинин В.Г.

Кемеровский государственный университет
650043 Кемерово, ул. Красная 6
Тел.: (384-2) 58-01-66, e-mail: susie@bk.ru

Исследована группа подростков двух национальностей – русские и шорцы (47 и 59 человек соответственно). Учёт хромосомных aberrаций (ХА) и размеров блоков С-гетерохроматина проводили согласно [1]. Статистический анализ выполнен в среде пакета SAS 9.2. Связь признака «Национальность» и цитогенетических параметров изучалась анализом таблиц сопряжённости и методом логистической регрессии.

Среди шорцев носителями экстремальных вариантов гетерохроматина (ЭВ) являются 68% детей, среди русских – 38% ($p=0,0024$; V-Крамера равно 0,29). Частоты aberrаций отличаются незначимо ($4,2\pm 0,26$ и $4,9\pm 0,41$ соответственно). При использовании двух цитогенетических признаков перепроверка национальной принадлежности по уравнению логит-регрессии даёт совпадение с фактической национальностью в 73% случаев. При анализе мужской половины группы (22 русских и 31 шорец) в 91% случаев верно определяется национальность при одновременном учёте 7 признаков (наличие Yqh^+ , присутствие qh^+ или qh^- в хромосоме 9, количество ЭВ на кариотип человека и др.). При анализе 19 человек с установленной заболеваемостью (6 русских и 13 шорцев) была выявлена связь между национальностью (русские) и заболеваниями желудочно-кишечного тракта (33% случаев). Таким образом, логит-регрессия позволяет по национальной принадлежности человека предугадывать его цитогенетический профиль и подверженность определённым заболеваниям. Полученные результаты свидетельствуют о различиях двух этнических групп на цитогенетическом уровне, что является следствием многовекового проживания шорской группы в относительной изоляции.

Список литературы:

Прокофьева-Бельговская А.А. Система учета размеров гетерохроматиновых участков 1, 9, 16 и Y. - Полиморфизм хромосом у человека. - М.: АМН СССР - 1981. – С.245 – 246.

**МОДЕРНИЗАЦИЯ ФАКТОРНОГО АНАЛИЗА С ЦЕЛЮ ПОЛУЧЕНИЯ
ГРАФИЧЕСКИХ ФОРМ, ИЗОБРАЖАЮЩИХ СХЕМЫ МЕЖКОМПОНЕНТНЫХ
ВЗАИМООТНОШЕНИЙ В СЛОЖНЫХ БИОМЕДИЦИНСКИХ СИСТЕМАХ**

Воробьев Н.И.

ГНУ ВНИИСХ микробиологии Россельхозакадемии, Российская
Федерация, 196608 Санкт-Петербург, Пушкин-8, шоссе
Подбельского, д. 3, Тел.: (812) 470-5100, e-mail:
vorobyov@arriam.spb.ru

В исследованиях сложных многокомпонентных медицинских биосистем (паразиты-хозяин, симбиозы с микроорганизмами и т.п.) нередко исходные измеряемые характеристики (признаки) являются неортогональными, то есть парные коэффициенты корреляции этих признаков, как правило, отличны от нуля. Это приводит к искажению общей картины межкомпонентных взаимоотношений в биосистеме и к ошибочной интерпретации причинно-следственных связей в ней. Факторный анализ позволяет преодолеть эти трудности путем преобразования исходной неортогональной системы биомедицинских данных к ортогональной системе координат (к системе ортогональных безразмерных факторов) с ранжированным распределением долей общей дисперсии по этим факторам. В результате на первый полученный фактор (Max-фактор) будет приходиться наибольшая доля общей дисперсии данных, а на последний фактор (Min-фактор) – наименьшая доля общей дисперсии. Так как Min-фактор (как и остальные факторы) является линейной комбинацией исходных признаков и соответствует минимальной доле общей дисперсии, то по значениям и знакам направляющих косинусов этого фактора можно достоверно оценить направленность и интенсивность межкомпонентных взаимодействий в биомедицинской системе, и корректно построить направленный граф межкомпонентных взаимодействий в ней. Результирующий граф межкомпонентных взаимодействий дает достоверное и неискаженное представление о структуре и причинно-следственных связях в изучаемой биосистеме. Предлагаемая методика сжатия и преобразования исходной информации на деле оказывается весьма плодотворной, так как создает объективные условия для формирования обоснованных оригинальных гипотез, стратегий и математических моделей в исследованиях сложных биомедицинских систем.

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ КЛАСТЕРНОГО АНАЛИЗА
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**Гречанина Е.Я.¹, Гречанина Ю.Б.¹, Васильева О.В.¹,
Поворознюк А.И.², Филатова А.Е.²**

1

²Украинский институт клинической генетики Харьковского
национального медицинского университета (УИКГ ХНМУ)
61022 Украина, Харьков, пр. Правды, 13
Тел.: (38 057) 705-1674, e-mail: mgc@ukr.net

²Национальный технический университет «ХПИ», Харьков, Украина

Математическая задача постановки диагноза митохондриального заболевания (МЗ) включает этап построения диагностической модели на основе анализа исходных данных, состоящий в определении информационно значимых признаков этой патологии. Среди них могут быть результаты различных исследований (биохимических, молекулярных и др.), выражающихся в разных условных единицах измерения, что затрудняет возможность сравнения их диагностической значимости для клинициста.

Цель: поиск наиболее информативного математического метода для определения взаимодействий статистически значимых признаков МЗ.

Материалы и методы: При выполнении УИКГ НИР «Всесторонний анализ эпидемиологии и механизмов экспрессии митохондриальных заболеваний в славянских популяциях Восточной Украины» проанализированы результаты молекулярного, биохимического и ультразвукового обследования 186 пациентов с МЗ. Была сформирована исходная база данных, позволяющая выполнять добавление новых признаков и обновление уже существующих без изменения ее структуры.

Результаты: Основным требованием к искомому методу было получение связи одного множества переменных от второго множества и возможность применения метода неполных данных.

В качестве определения связи между множествами переменных использовали метод расположения объектов в многомерном пространстве признаков. Если предположить, что группы признаков связаны между собой, то в многомерном пространстве признаков объекты будут сгруппированы. Поэтому было принято решение использовать методы кластерного анализа (КА) для определения групп объектов, которые позволяют сделать выводы о наличии связей между множествами признаков.

Предложено использовать метод «Сlore» для кластеризации объектов, которые описываются различными подмножествами входного пространства признаков. Основная идея метода состоит в максимизации глобального критерия разбития объектов на кластеры. При этом коэффициент отталкивания регулирует уровень сходства объектов внутри кластера и финальное количество кластеров.

Выводы: В процессе применения метода КА «Слоре» определена его высокая эффективность для предоставления входных данных о пациентах с МЗ, проанализированы клиничко-генетические характеристики и обработан результат их взаимодействий. Это дало возможность математического моделирования наиболее распространенных форм МЗ в регионе Восточной Украины.

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

Хромов-Борисов Н.Н.

Санкт-Петербург, Россия

Тел.: 8-952-204-89-49, e-mail: Nikita.KhromovBorisov@gmail.com

Решающими показателями качества любого метода диагностики являются не отношения шансов (OR) или отношения рисков (RR), но предсказательные вероятности (ценности) положительного и отрицательного результатов диагноза: PPV и NPV . Пусть распространенность болезни с элементами наследственной предрасположенности (БЭНП) в некоторой популяции равна $P(D^+) = 1\%$. Допустим, что у больных доля носителей генотипа (аллели, гаплотипа) g_1 , предрасполагающего к данной БЭНП, равна $P(g_1|D^+) = 20\%$ и она в 2 раза выше, чем у индивидуумов без этой БЭНП: $P(g_1|D^-) = 10\%$. Этому соответствуют значения $RR = 2$, $OR = 4,4$ и разности рисков $RD = 10\%$. По формуле Бейза вероятность БЭНП у носителя генотипа g_1 примерно в 2 раза превышает ее распространенность: $PPV_1 = P(D^+|g_1) = 1,98\%$. Вряд ли на основе столь малого значения можно делать выводы о наличии или развитии данной БЭНП у конкретного индивидуума.

Допустим теперь, что есть еще другой предрасполагающий к данной БЭНП генотип g_2 с такими же характеристиками. Вероятность БЭНП у носителей обоих генотипов совместно (g_1 и g_2) возрастает по сравнению с носителями каждого из них по отдельности (g_1 или g_2): $PPV_{1,2} = P(D^+|g_1,g_2) = 3,9\%$. Очевидно, что чем больше в генотипе предрасполагающих аллелей, тем выше вероятность возникновения или развития данной БЭНП у его носителей.

Однако доля носителей таких генотипов в популяции снижается экспоненциально, и уже для 6-и маркеров составляет 1 на миллион при $PPV_{1,\dots,6} = P(D^+|g_1,\dots, g_6) = 39\%$, которая всего в 10 раз выше, чем для пары генотипов. Для носителей одновременно 9-и маркеров вероятность БЭНП достигает 91%, а у носителей 10-и таких маркеров – 95%.

Но обнаружить таких индивидуумов практически невозможно: их доли в популяции составляют 10^{-9} и 10^{-10} . Фактически это будет один человек на Земле.

Другим показателем несостоятельности клинико-генетической паспортизации является «количество подлежащих генотипированию» - NNG (number needed to genotype). В нашем примере оно равно: $NNG = [RD \times P(D^+)]^{-1} = 1000$. Если цена одного анализа составляет 100 у.е., то затраты на выявление дополнительно одного больного составят 100 тыс.у.е. При генотипировании по k маркерам затраты возрастут в k раз.

ВОЗМОЖНОСТИ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

***Шихлярова А.И., Барсукова Л.П., Марьяновская Г.Я., Шейко Е.А.,
Коробейникова Е.П., Протасова Т.П.***

ФГУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт
Росмедтехнологий»
Ростов-на-Дону, 14 линия, 63.
Тел.: 8863-251-96-33, e-mail: rnioi@list.ru

Известно, что регуляторные системы высших иерархических уровней поддерживают, многократно усиливают и транслируют информационные сигналы клеточных и молекулярных систем, а нейрогуморальный механизм передачи информации подчиняется закону адекватной информационной эквивалентности воздействия. Аутоколебательная природа биологической активности позволяет целенаправленно использовать экзогенные молекулярные и волновые источники информации в адекватных режимах воздействия. Именно такие воздействия формируют на уровне организма интегральные адаптационные антистрессорные реакции. При лечении злокачественных опухолей различных локализаций применяли технологии центрального (на мозг) и периферического (область операционного поля, болевые участки и т.д.) воздействия слабых сверхнизкочастотных магнитных полей, электроимпульсной СКЭНАР-терапии, оптических излучений, а также биоэнергетический субстрат – янтарную кислоту. Состоятельность данных технологий подтверждена снижением летальности и послеоперационных осложнений. Физиологическими коррелятами явились нормализация корковой активности мозга, снижение количества асимметрий показателей электрокожного сопротивления в измерительных точках гипоталамуса, уровня кортизола и адреналина, восстановление мелатониновой функции эпифиза, активности щитовидной железы и гонад, показателей

клеточного и гуморального иммунитета. Т.о., информационные технологии позволяют запускать механизмы самоорганизации от молекулярного до организменного уровня, что профилактирует осложнения и способствует реализации противоопухолевой терапии и функциональной реабилитации онкологических больных.

***ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО
ТОКСИКОЗА С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ***

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

Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова, Санкт-Петербург 194044, ул. акад. Лебедева, 6 Тел/факс: (812) 542-4397, e-mail: I.V.Zarubina@inbox.ru

Современные медико-биологические исследования требуют привлечения новых методов прогнозирования биологических эффектов с помощью математических моделей. Целью исследования явилось сопоставление биохимических данных по восстановлению показателей при травматическом токсикозе с расчетными данными на основе разработанной нами математической модели с использованием программы Microsoft Access и программного модуля на языке Visual Basic for Application. Данная модель позволяет прогнозировать максимальное отклонение биохимических маркеров травматического токсикоза от нормальных значений и сроки их восстановления, что отменяет выполнение большей части трудоемких биохимических анализов [Зарубина И.В. и др. // БЭБМ, 2005, 140(12), 707-710]. К примеру, расчеты показывают, что активность печеночных ферментов в крови будет отличаться на 5% от исходного уровня лишь на 15 сут, содержание креатинина – на 22 сут, мочевины – на 32 сут после травмы. Это позволяет рекомендовать данную модель для исследований аналогичной направленности. Кроме того, с помощью данной модели можно оценивать эффективность проводимой фармакотерапии травматического токсикоза, что позволит сэкономить время и материальные средства на проведение исследований. Используя модель и теоретический расчет сроков восстановления биохимических маркеров травматического токсикоза, можно ограничиться проведением традиционных исследований в течение 2 недель с момента травмы. Динамику дальнейшего восстановления показателей в этом случае целесообразно рассчитать с помощью предлагаемой математической модели.

ДНК-МЕТОДЫ В СУДЕБНОЙ ПРАКТИКЕ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ В ПРАКТИКЕ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОГО ЭКСПЕРТА В СЛУЧАЯХ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ТУПОЙ ТРАВМЕ

Березовский Д.П.¹, Корниенко И.В.²

¹Ростовский Государственный медицинский университет
344022 Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский 29
Тел.: (863) 263-2391, (863) 263-2391, 250-4104, факс (863) 253-0611,
e-mail: dpb@mail.ru

²Южный федеральный университет
Государственный Центр судебно-медицинских и криминалистических
экспертиз Северо-Кавказского военного округа
344010 Ростов-на-Дону, ул. Лермонтовская, д. 60, 16 ГЦ СМиКЭ СКВО
Тел/факс: (863)278-36-26, (863) 278-36-26, e-mail: ikornienko@yandex.ru

Патология сосудистой системы занимает ведущее место по заболеваемости и смертности населения развитых стран. Патогенез сосудистых заболеваний обусловлен повышенным свертыванием крови с образованием тромба. Так, частота венозных тромбозов различной локализации составляет 1:1000 в год в странах западной Европы и США. Т.е., для клинического врача, тромботические осложнения не являются редкостью. В тоже время, по данным нами проведенного статистического исследования, частота в практике судебно-медицинского эксперта случаев, связанных с тромбозом, невелика.

При анализе показателей работы Ростовского областного бюро судебно-медицинской экспертизы (РО БСМЭ) установлено, что частота подобных случаев составляет 28 на 10000 экспертиз. Однако за последние 5 лет в СМИ активно обсуждалось по крайней мере 3 случая (потерпевшие - Сычев А., Рабоволик А., Куливец С.) с тромботическими осложнениями, имевшими судебную перспективу. Поэтому мы поставили себе целью проанализировать подобные случаи, имевшие место в РО БСМЭ, за последние 5 лет. Дополнительно нами было выполнено генетическое типирование имевшегося в архиве генетического материала на гены-кандидаты предрасположенности к тромбофилии. Всего были выявлены 4 экспертных случая, пострадавшими были мужчины. По результатам генетического типирования во всех случаях имел место полиморфизм гена *MTHFR* (677ТТ и 677СТ), в то время как

аутосомно-доминантные мутации в генах, ответственных за синтез II и V плазменных факторов свертывания крови, выявлены не были.

Выводы: при проведении судебно-медицинской экспертизы, связанной с тромботическими осложнениями, необходимо проводить генетическое типирование для выявления мутаций и полиморфизмов генов-кандидатов предрасположенности к тромбофилии, генетический анализ целесообразно начинать с выявления полиморфизмов гена *MTHFR*.

ВОПРОСЫ ТЕРМИНОЛОГИИ

ПРОБЛЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ АДЕКВАТНОЙ ТЕРМИНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ ГЕНЕТИКЕ

Шавловский М.М.

НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН 197376 Санкт-Петербург, ул. ак. Павлова,
12 Тел.: (812) 234 – 33 56, e-mail: mmsch@Rambler.ru

На современном этапе развития науки, в связи с необходимостью привлечения широкого круга специалистов для решения задач конкретных наук, все меньше внимания уделяется правильному использованию терминов. Это связано с отсутствием у части работников, как правило, базового образования, специфичного для каждой отрасли. Возможно также, что это связано с аналитическими особенностями английского языка, который используется в качестве международного. Генетика не составляет исключения. Основная генетическая терминология разрабатывалась в первой половине 20 века, в период становления формальной или классической генетики. Конечно, часть терминов устарела, значение некоторых приходится переосмысливать, но основные термины, на наш взгляд, извращать не целесообразно. Особенно, если новые словосочетания противоречат логике и языковым нормам.

В докладе рассмотрены такие основные понятия, как «ген» в его современном представлении, «аллель», а также часто употребляемые словосочетания с этими терминами. В частности, обсуждаются вопросы применимости термина аллель для нуклеотидных вариантов генетического материала. Особое внимание уделяется «полиморфизму» в разном понимании этого слова. На примере современных печатных работ показаны случаи неправильного применения терминов «популяция», «генотип», «фенотип», «экспрессия». Особое внимание будет уделено словосочетаниям

«полиморфный аллель», «сочетание генотипов и фенотипов», «аллельный вариант», «мутационное изменение» и т.д. В дискуссионном аспекте будет рассмотрено направление, известное как эпигенетика.

ФАРМАКОГЕНЕТИКА

НОВАЯ МЕТОДИКА ФЕНОТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450 ЧЕЛОВЕКА

Филимонова А.А.

Казанская Государственная Медицинская Академия
Казань, ул. Муштари, 11
Тел.: 89503120203, 8435277780, e-mail: aachichirova@mail.ru

Цитохромы P450 (CYP450) – суперсемейство ферментов, которые катализируют окислительный метаболизм различных химических веществ, включая большинство лекарств. CYP450-опосредованный метаболизм влияет на клиренс лекарств, токсичность и их взаимодействие с другими препаратами. Стандартные методы фенотипирования по активности изофермента CYP 1A2 включают определение концентрации кофеина, являющегося тест-субстратом изофермента цитохрома P450 1A2, и его метаболитов в слюне, плазме и моче [2, 4]. Фенотипирование пациентов по активности CYP 1A2 используется для правильного дозирования лекарств, метаболизирующихся преимущественно в изоферменте 1A2 [1, 2]. В связи с этим целью исследования явилась разработка и апробирование математической модели фармакокинетики кофеина *in vivo* при его внесосудистом введении с вычислением критерия, однозначно связанного с активностью изофермента CYP 1A2.

Нами было обследовано 95 здоровых добровольцев, из них 58 женщин и 38 мужчин, проживающих в Казани. Условия отбора образцов проведения высокоэффективного жидкостного хроматографического анализа (ВЭЖХ) и собственно методика проведения ВЭЖХ анализа разработаны нами [3]. Расчет параметров фармакокинетики кофеина проводили с использованием двухкамерной математической модели с всасыванием. Константу скорости образования параксантина рассчитывали по кинетическим данным по уравнениям математической модели [5].

Таким образом, разработана математическая модель метаболизма кофеина и его первичных метаболитов, позволяющая рассчитывать константы скоростей образования первичных метаболитов кофеина. Предложен специфический маркер активности

изофермента цитохрома P450 1A2 – константа скорости I порядка образования параксантина. Предложенный алгоритм определения активности изофермента CYP 1A2 может быть применен для любого изофермента цитохрома P450.

Список литературы:

1. Арчаков АИ. Цитохромы P-450, лекарственная болезнь и персонифицированная медицина. Часть I. / Арчаков АИ, Лисица АВ, Петушкова НА, Карузина ИИ. // Клиническая медицина. - 2008. - № 2. – С. 4-8.
2. Кукес ВГ. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты. – М.: Издательство “Реафарм”, 2004.
3. Филимонова А.А. Улучшенная высокоэффективная жидкостная хроматографическая методика определения кофеина и его первичных метаболитов в слюне и плазме / А.А. Филимонова, Л.Е. Зиганшина, А.А. Чичиров // Клиническая лабораторная диагностика. - 2008. - №10. – С.34-36.
4. Филимонова А.А. Возможности фенотипирования пациентов по активности изофермента цитохрома P450 1A2 с использованием кофеина в качестве тест-субстрата/ А. А. Филимонова, Л. Е. Зиганшина, А. У. Зиганшин, А.А. Чичиров // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2009. – Т.72, №5. – С.61-65.
5. Филимонова А.А. Фенотипическое исследование активности изоферментов цитохрома P450 у больных шизофренией с использованием кофеина в качестве тест-субстрата: Автореф. дис. канд. мед. наук. - Казань, 2009. -19 с.

ЭПИГЕНЕТИКА И НЕКАНОНИЧЕСКОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ АТАКСИЕЙ- ТЕЛЕАНГИЭКТАЗИЕЙ

Куранова М.Л., Плескач Н.М., Михельсон В.К., Спивак И.М.

Институт цитологии Российской Академии Наук Лаборатория радиационной цитологии
19400 Санкт-Петербург, 0 Тихорецкий пр. 4 E-mail: miryaKuranova@gmail.com,
mirya_san@mail.ru

В настоящее время внимание исследователей приковано к эпигенетическим изменениям хроматина, и их роль как в процессах канцерогенеза и процессах старения. В клетках больных атаксией - телеангиэктазией существуют две противостоящие друг другу программы развития: ускоренного старения и трансформации. Подробно описаны были такие маркеры, как триметилированные по K9 и K27 формы гистона H3.

Нами были исследованы две семьи АТ8 и АТ6, ранее подробно описанные в нашей лаборатории. При определении интенсивности флюоресценции триметилированного по K27 гистона H3 нами было обнаружено его четырехкратное увеличение у больной АТ8 и трехкратное снижение у больной АТ6. Так как с возрастом количество этого маркера снижается, а в опухолевых клетках часто возрастает, можно сделать вывод, что в клетках больной АТ8 эпигенетические изменения следуют программе клеточной трансформации, а у больной АТ6 программе клеточного старения.

У больной АТ6 мы не наблюдаем выраженных признаков программы клеточной трансформации, в первую очередь проявляется программа ускоренного клеточного старения. Так как случай АТ8 имеет более тяжелые клинические проявления, чем АТ6, мы можем утверждать, что такое ярко выраженное преобладание программы трансформации над программой клеточного старения по данному маркеру может служить серьезным прогностическим признаком.

Интенсивность флюоресценции триметилированного по K27 H3 в случае обеих больных демонстрирует двукратное превышение по сравнению с клетками здорового донора, то есть выраженную картину программы трансформации.

Во всех случаях, кроме отца больной АТ8, у которого наблюдается достоверное снижение количества 3meK9H3 на 25%, количество обоих исследованных маркеров не отличается от клеток здорового донора.

ЭПИГЕНЕТИКА И РЕПРОДУКЦИЯ ЧЕЛОВЕКА

И.Н. Лебедев

Научно-исследовательский институт медицинской генетики СО
РАМН Томск, Набережная р. Ушайки, д. 10
Тел.: +7 (3822) 51-3146, e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

Особенностью человека, как биологического вида, является чрезвычайно высокая частота репродуктивных потерь, доминирующая роль в этиологии которых отводится генетическим факторам. Вместе с тем, заметная доля случаев остановки внутриутробного развития зародыша не может быть объяснена в рамках существующих генетических или цитогенетических концепций. Учитывая, что онтогенез представляет собой разворачивание строго детерминированной программы развития организма, особую значимость для понимания механизмов действия пренатального естественного отбора представляет изучение эпигенетических процессов. Несмотря на то, что к настоящему времени известно несколько систем эпигенетического наследования, определена роль некоторых из них в развитии ряда патологических состояний, и особенно онкологических заболеваний, частота и разнообразие эпигенетических модификаций генома, а также закономерности их возникновения в ходе онтогенеза во многом остаются неясными. Принимая во внимание тот факт, что созревание половых клеток и начальные этапы индивидуального развития человека сопровождаются глобальными изменениями эпигенетической организации генома, вполне ожидаемо, что ранние эмбриональные летали могут оказаться удобной модельной системой для изучения данных вопросов. В серии проведенных исследований, сфокусированных на анализе статуса метилирования ДНК в выборках внутриутробно погибших эмбрионов, нами впервые были описаны нарушения характера метилирования ряда генов контроля клеточного цикла у зародышей с мозаичными формами числовых хромосомных нарушений, зарегистрированы аномалии эпигенетического статуса импринтированных локусов генома, в том числе ассоциированные с привычным невынашиванием беременности, а также выявлены отклонения от равновероятной инактивации X-хромосомы. В докладе будут представлены подходы к классификации спектра эпимутаций в раннем эмбриогенезе, рассмотрены основные закономерности их возникновения и обозначена возможная роль в детерминации нарушений раннего внутриутробного развития человека.

**АНОМАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАРТИНЫ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОМНОЙ
ДНК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ В-КЛЕТОЧНОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ:
ГИБРИДИЗАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ НА ДНК-ЧИПАХ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ
ЗНАЧИМОСТЬ**

**Москалёв Е.А.¹, Воробьёв И.А.², Буре И.В.³, Гладких А.А.², Никитин Е.А.²,
Beier V.¹, Hoheisel J.D.¹**

¹ German Cancer Research Center

² Гематологический научный центр РАМН
125167 Москва, Новозыковский пр., 4А

³ Воронежский государственный университет
394006 Воронеж, Университетская пл., 1
E-mail: moskalyov@mail.ru

Важнейшие свойства опухолевых клеток обусловлены аномальным функционированием онкогенных сигнальных путей. Аберрантное гиперметилование CG-динуклеотидов CpG-островков промоторных областей генов-супрессоров в опухолях сопряжено с потерей экспрессии. Хронический В-клеточный лимфолейкоз (В-ХЛЛ) – наиболее распространённое лимфопролиферативное заболевание, однако характер и функциональная значимость метилирования ДНК в опухолевых В-клетках мало изучен. Целью работы является анализ картины метилирования 5'-областей (промотор, первый экзон) потенциально важных для онкогенеза генов при В-ХЛЛ и изучение функциональной роли аномальных эпигенетических изменений.

Материалы и методы: Исследованы образцы периферической крови 46 больных и 8 здоровых доноров, а также клеточные линии В-ХЛЛ ЕНЕВ и МЕС-1. Деметилирование ДНК в клеточных линиях проводили с помощью 5-аза-дезоксцитидина. Характер метилирования отдельных CG-динуклеотидов анализируемых локусов изучали с помощью гибридизации обработанной бисульфитом ДНК с 17-21-нуклеотидными зондами на ДНК-чипе. Метилспецифичную ПЦР, бисульфитное секвенирование и пиросеквенирование проводили согласно ранее опубликованным методикам. Уровень экспрессии генов оценивали с помощью количественной ПЦР в реальном времени.

Результаты: Разработан метод масштабного анализа картины метилирования ДНК с помощью гибридизации на олигонуклеотидных чипах, позволяющий изучать характер метилирования 400-600 CG-динуклеотидов одновременно в нескольких биологических пробах в ходе одного эксперимента. При В-ХЛЛ выявлено аберрантное метилирование генов сигнального пути Wnt: *WIF1* (65%, 30/46 образцов), *DKK1* (50%, 23/46), *PYGO1*

(86%, 19/22), *DACT1* (6%, 3/46), *DKK2* (3/7), *DKK3* (2/7); проапоптотических генов *APAF1* (4/10), *BAX* (3/10) и *RAD9A* (3/10); гена, контролирующего клеточный цикл, *UBE2C* (4/6), а также генов *BCL6* (6/6) и *FSCN1* (2/6). Рост клеточных линий В-ХЛЛ на среде с 2 мкМ 5-аза-дезокситидином в течение 72 часов приводил к снижению уровня метилирования исследуемых генов в среднем на 25%. По предварительным данным деметилирование генов-ингибиторов онкогенного сигнального пути Wnt *CDH1*, *SFRP2*, *SFRP3*, *SFRP4* сопровождается реактивацией их транскрипции, что позволяет предполагать эпигенетический механизм дерегуляции пути Wnt при В-ХЛЛ.

Исследование поддержано научно-исследовательской стипендией Германской службы академических обменов (DAAD) для молодых учёных.

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
МИНИСАТЕЛЛИТА B2VNTR ГЕНА BDKRB2 В НОРМЕ И ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМ.**

**Пицик Е.В.¹, Сучкова И.О.¹, Соловьев К.В.¹, Аленина Н.В.², Бадер
М.², А.С.Глотов³, Баранов В.С.³, Паткин Е.Л.¹**

¹НИИ Экспериментальной Медицины СЗО РАМН
197376 Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, д.12 Е-
mail: elp44@mail.ru; kavattii@yahoo.com

²Max-Delbruck-Center for Molecular Medicine, Berlin-Buch, Germany.

³НИИ Акушерства и Гинекологии им. Д.О.Отта РАМН, Санкт-Петербург

Для некоторых полиморфизмов из кодирующих районов гена *BDKRB2* во многих работах была показана их ассоциация с артериальной гипертензией и инфарктом миокарда, но не описаны подобные исследования с нетранслируемыми участками *BDKRB2*. В 3'-UTR *BDKRB2* локализован минисателлит B2VNTR, длинный аллель (из 43 повторов) которого действует как потенциальный негативный регулятор экспрессии гена на пре-трансляционном уровне. В данной работе проведен анализ ассоциаций межаллельных различий и эпигенетических модификаций B2VNTR с артериальной гипертензией у подростков и коронарной недостаточностью. Связь между величиной аллелей и обнаруженными SNPs в аллелях B2VNTR и этими патологиями не выявлена. Однако только у пациентов с коронарной недостаточностью, гетерозиготных по B2VNTR, обнаружено наличие метилированных обоих аллелей B2VNTR, короткого (аллель из 33 либо 38 повторов) и длинного (из 43 повторов) ($13.6 \pm 7.3\%$; $p=0.05$). Таким образом, можно предположить, что механизм негативного влияния B2VNTR на экспрессию гена *BDKRB2* при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях, в

частности коронарной недостаточности, не обусловлен варьированием длины и наличием SNPs в B2VNTR, но скорее всего, имеет эпигенетическую природу.

**ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОНКОМАРКЕРЫ ВО ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ДНК КРОВИ:
ОСОБЕННОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ОНКОДИАГНОСТИКЕ**

Рыкова Е.Ю. , Елистратова Е.В. , Скворцова Т.Э., Брызгунова О.Е., Тамкович С.Н. , Цветовская Г.А, Чикова Е.Д., Шелестюк П.И., Власов В.В., Лактионов П.П.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины
СО РАН 630090 Новосибирск, пр. Лаврентьева, 8 Тел.: (383)
363 51 44, e-mail: rykova@niboch.nsc.ru

Аберрантно метилированные аллели генов опухолевой супрессии появляются в клетках на ранних стадиях злокачественной трансформации. Выявление метилированных онкомаркеров во внеклеточных ДНК (внДНК), циркулирующих в крови, является перспективным способом диагностики злокачественных заболеваний.

Методом метил-специфичной ПЦР была определена частота метилированных аллелей генов опухолевой супрессии во внДНК плазмы и внДНК, связанной с поверхностью клеток крови, больных с опухолями желудка и молочной железы. Детекция метилированных аллелей одного из трех генов *RASSF1A*, *cyclin D2* и *RAR β2* в суммарных внДНК крови позволяет выявлять больных со злокачественными и доброкачественными опухолями молочной железы с чувствительностью 95 % и 87 %, соответственно. Рандомизированное обследование показало, что группа пациенток с доброкачественными патологиями молочной железы неоднородна по наличию во внДНК крови метилированных аллелей генов *cyclin D2* и *RARβ2* - важных прогностических факторов развития РМЖ. Метилированные формы генов опухолевой супрессии *p15*, *hMLH1* и *MGMT* были выявлены в суммарных внДНК крови больных раком желудка с высокой частотой на разных стадиях заболевания (T₂ - 71 %, T₃ - 80 %, T₄ - 100 %). Чувствительность метода детекции метилированных аллелей генов *p15* и *hMLH1* во внДНК при раке желудка существенно выше, чем иммуноферментного анализа белковых маркеров СА 19.9, СА 72.4. Отсутствие корреляции между эпигенетическими и белковыми онкомаркерами говорит о том, что эти параметры отражают разные стороны патогенеза рака желудка и могут быть использованы в качестве независимых критериев его диагностики.

**ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ ГЕНОМНОГО
ИМПРИНТИНГА ПРИ ПАТОЛОГИИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
ЧЕЛОВЕКА**

Саженова Е.А., Лебедев И.Н.

НИИ медицинской генетики СО РАМН
Томск, 634050, ул. Набережная р. Ушайки, д. 10
E-mail: elena.sazhenova@medgenetics.ru

Важную роль в эмбриогенезе человека играет геномный импринтинг – одно из явлений неканонического наследования, связанное с дифференциальной экспрессией генов в зависимости от родительского происхождения аллелей. Среди механизмов, нарушающих дозу импринтированных генов в ходе раннего эмбрионального развития, традиционно рассматривают однородительскую дисомию (ОРД) хромосом. Однако частота ОРД у человека составляет всего 1×10^{-3} событий передачи хромосом от родителей потомству и не вносит заметного вклада в нарушение процессов раннего онтогенеза. Учитывая эпигенетическую природу импринтинга, можно предположить, что ожидаемые негативные эффекты нарушений функций импринтированных генов в раннем эмбриогенезе человека будут связаны с aberrантными эпигенетическими модификациями хроматина. Целью настоящего исследования явилась характеристика эпигенетического статуса импринтированных генов и центров импринтинга (SNURF-SNRPN, KCNQ1OT1, CDKN1C, PLAGL1, PEG1/MEST, H19, MEG3) в группе спонтанных абортусов I триместра беременности. Нами впервые была обнаружена потеря импринтинга в локусах KCNQ1OT1 и PLAGL1, в норме метилированных на материнских гомологах, с частотой 9,5 и 10,3%, соответственно. Примечательно, что все выявленные эпимутации характеризовались тканеспецифичностью, что указывает на их соматическое происхождение. Кроме того, было установлено, что эпимутации в гене PLAGL1 в тканях зародышей статистически значимо чаще регистрировались в группе женщин с привычным невынашиванием беременности (33%), чем без него (7,7%, $P=0,048$). Таким образом, нарушение функций импринтированных локусов генома на ранних этапах внутриутробного развития человека реализуется через возникновение aberrантных эпигенетических модификаций хроматина и может быть одним из факторов, определяющих формирование отягощенного акушерского анамнеза.

Настоящее исследование поддержано грантами РФФИ (№ 08-04-01344) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 гг» (№ П303).

БОЛЕЗНИ ЭКСПАНСИЙ В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)

*А.Л. Сухомясова^{1,2}, Н.Р. Максимова², А.Н. Ноговицына^{1,2}, Назаренко Л.П.,³
Гуринова Е.Е.^{1,2}, Коротов М.Н.², Николаева И.А.², Пузырев В.П.³*

¹Республиканская больница №1-Национальный центр медицины, Якутск.

²Якутский научный центр КМП СО РАМН.

³Томский НИИ медицинской генетики СО
РАМН. 677010 Якутск, Сергеляхское ш. 4

E-mail: nogovan@yandex.ru

В Республике Саха (Якутия) наблюдается высокая частота наследственных болезней, обусловленных динамическими мутациями - возрастанием (экспансией) числа копий тринуклеотидных повторов. Распространенность в якутской популяции спиноцеребеллярной атаксии 1 типа (OMIM164400)– 38,6 на 100 тыс., миотонической дистрофии (OMIM160900)- 21,3 на 100 тыс., окулофарингеальной миодистрофии (OMIM164300)- 11,1 на 100 тыс. якутского населения, атаксии Фридрейха (OMIM229300)– распространенность составила 2,78 на 100 тыс. якутского населения. Заболевание зарегистрировано в 7 улусах и Якутске. Спинально-бульбарная атрофия Кеннеди (OMIM313200)- зарегистрировано в 3 улусах (Абыйском, Верхнеколымском, Нюрбинском) частота от 0,8 до 408,7 на 100 тыс. мужчин якутов. Выявлена молекулярно-генетическим исследованием одна семья из 2 человек (якуты) с денторубро-паллидолюисовой атрофией, 1 больной с хореей Гентингтона славянского происхождения.

Изучены клиничко-генеалогические особенности, создан регистр, разработан алгоритм диагностики и медико-генетического консультирования семей. В Республиканском регистре состоит 329 больных с клинической манифестацией по 7 нозологиям болезней с экспансией тринуклеотидных повторов.

Подтверждены молекулярные причины болезней, вызванных динамическими мутациями. При окулофарингеальной миодистрофии у 40 больных якутов и в 2 русских семьях является одинаковое увеличение GCG повторов до 10 копий в гене PABPN1 за счет вставки 4 дополнительных GCG- повторов. 6 больным с клиническим диагнозом болезнь Кеннеди и 10 сибсам из 4 неродственных якутских семей была проведена амплификация фрагмента ДНК. Заболевание обусловлено повреждением гена андрогенного рецептора, расположенного в локусе Xq11.2-12 содержащего исследуемые области тринуклеотидных CAG-повторов в 1 экзоне гена AR. Кроме того, у одной из сестер с болезнью Кеннеди выявлено гетерозиготное носительство мутации в гене AR: один с нормальной длиной (24 CAG-повторов), другой – удлинённый (51

СAG-повтор) . При атаксии Фридрейха при проведении прямой ДНК-диагностики в обследуемых семьях была выявлена экспансия тринуклеотидных GAA-повторов в 1-м интроне гена FRDA у всех девяти больных в гомозиготном состоянии, а у их 20 родственников - в гетерозиготном состоянии.

При миотонической дистрофии (CTG)_n в гене DMPK помощью ПЦР и электрофореза в ПААГ можно определить только нормальные аллели, содержащие количество CTG-повторов в норме (от 5 до 37) и аллели с небольшим размером экспансии (до 80-100 повторов), а в случае наличия экспансии CTG-повторов не удастся наблюдать продукт амплификации мутантного аллеля. Для определения размера экспансии CTG-повторов применяется метод блот-гибридизации по Саузерну с олигонуклеотидным зондом. При использовании радиоактивных меток для их проведения требуются специальные условия. В РС (Я) диагностика МД была проведена методом ПЦР с применением следующих подходов: 1) при выявлении двух аллелей с нормальным числом CTG-повторов заболевание исключается, что важно для исключения МД у родственников больных, включая пренатальный период, и для дифференциальной диагностики со сходными заболеваниями; 2) у больных же при обследовании целой семьи, большего числа родственников, можно проследить распределение мутантного гена из поколения в поколение даже при случае отсутствия методов диагностики CTG-аллелей с экспансией (информативная семья). У больных МД определяется только один аллель с нормальным числом CTG-повторов. Из обследованных нами 35 семей с МД, только 19 (54,3%) семей оказались информативными для диагностики.

При спиноцереbellарной атаксии 1 типа, молекулярной основой заболевания является увеличение СAG-повторов до 39-71 по сравнению с 19-36 в норме в гене *SCA1* . Проведены популяционные исследования по этнотерриториальным группам. Основными популяционными механизмами накопления болезней экспансии в якутской популяции являются дрейф генов и эффект основателя.

Высокая частота болезней экспансии, клинический полиморфизм, высокий генетический риск обуславливают необходимость своевременной диагностики и профилактики в республике.

ДНК-диагностика болезней экспансии (спиноцереbellарной атаксии 1 типа, миотонической дистрофии 1 типа, атаксии Фридрейха, окулофарингеальной миодистрофии, спинально-бульбарной атрофии Кеннеди) внедрена в медико-генетической консультации Республиканской больницы №1 – Национального центра

медицины методом ПЦР. Проводится пренатальная, пресимптоматическая ДНК-диагностика, психологическое тестирование.

Внедрение молекулярно-генетических методов диагностики в практическое здравоохранение позволяет проводить эффективное медико-генетическое консультирование и реальную возможность профилактики наследственной патологии в республике.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС ЭМБРИОНАЛЬНОГО ГЕНОМА ПРИ ХРОМОСОМНОЙ МОЗАИЦИЗМЕ

Толмачева Е.Н., Кашеварова А. А., Лебедев И.Н.

НИИ медицинской генетики СО РАМН
634050 Томск, ул. Набережная р. Ушайки, д.10
E-mail: kate.tolmacheva@medgenetics.ru

В настоящее время не вызывает сомнений наличие связи определенных абберрантных эпигенетических модификаций генома с различными заболеваниями у человека, в том числе и с нарушениями эмбриогенеза. Ранее нами было показано, что аномальное метилирование некоторых генов контроля клеточного цикла (*RB1*, *P14ARF*) ассоциировано с хромосомным мозаицизмом в тканях внутриутробно погибших эмбрионов. Эпимутации в этих генах, вероятно, являются следствием нарушений процесса глобального эпигенетического репрограммирования генома, протекающего на ранних этапах внутриутробного развития. В связи с этим представляется актуальным проведение полногеномного анализа статуса метилирования ДНК для идентификации различных групп генов, нарушение экспрессии которых может быть сопряжено с инициацией процессов соматического мутагенеза, приводящих в конечном итоге к возникновению мозаицизма.

Целью настоящего исследования явился анализ особенностей организации и изменчивости метилома соматических клеток эмбрионов человека с мозаичными формами анеуплоидии. Полногеномный анализ статуса метилирования на платформе «Infinium HumanMethylation27 BeadChip» («Illumina»), содержащей 27578 CpG-динуклеотидов, охватывающих 14495 генов человека был проведен в двух экстраэмбриональных тканях 6 спонтанных абортусов с мозаичными формами анеуплоидий. В результате сравнения опытной группой с контролем были выявлены изменения характера метилирования в более чем 2000 CpG-сайтах, при этом в разных тканях гиперметилирование затрагивало от 74 до 91% CpG-динуклеотидов, а гипометилирование – от 9 до 16%, соответственно.

Предварительные данные демонстрируют повышенную частоту дифференциального метилирования CpG-локусов (от 4 до 10%), расположенных в генах клеточного цикла, клеточного роста, апоптоза, остановки клеточного цикла, регуляции клеточной пролиферации и клеточного роста. Очевидно, что нарушение экспрессии этих локусов в ходе раннего эмбриогенеза может являться одним из механизмов генерации мозаичных форм хромосомных аномалий.

СОЧЕТАНИЕ МУТАЦИЙ ГЕНА p53 И МЕТИЛИРОВАНИЯ MGMT

ПРИ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ

***Холодов Б. В., Белохвостов А.С., Шахтарин В.В., Суворова Е.Г., Горичева О.В.,
Абрамов А.А., Зарецкий А.Р., Тарасова Е.М., Горелышев С.К. *, Шишкина Л.В. *,
Притыко А.Г.***

НПЦ медицинской помощи детям
110620 Москва, ул. Авиаторов, 38
Тел.: (499) 730-9842, e-mail: npcдет@mosgorzdrav.ru
* НИИ НХ им. Н.Н.Бурденка РАМН

Исследования последних лет показывают ярко выраженную зависимость степени ответа опухоли на химиотерапию от статуса ряда генов, в частности метилирования промотора гена MGMT (Stupp, et al., 2009, Balana, et al., 2003; Silvani, et al., 2009, Augustine, et al., 2009) и мутационного статуса гена p53 (Srivenugopal, et al., 2001; Daring, et al., 2007; Ross and Kaina, 2007).

Изучены мутации гена p53 и метилирование промотора гена MGMT у 23 детей с глиальными опухолями головного мозга. Методом SSCP и секвенирования были изучены, как наиболее информативные, 5-8 экзоны гена p53 (GeneAma PCR System 9700, ABI Prism 3130xl). Метилирование промотора гена MGMT исследовали методом метилчувствительной реакции с последующим секвенированием.

Методом SSCP найдено 9 мутаций в исследуемых экзонах гена p53, в том числе в 5 экзоне в двух случаях, в 6 экзоне – в двух случаях, в 7 экзоне – в двух случаях и в 8 экзоне в трех случаях. При секвенировании 5-8 экзонов у всех обследуемых больных было установлено 8 мутаций: в 7 случаях установлена миссен-мутация, в одном случае – стоп-кодон и в одном случае – молчащая мутация. Метилирование промотора гена MGMT установлено у обследуемых больных в 9 случаях.

У обследованных больных наблюдается следующее сочетание генетических изменений гена p53 и MGMT:

- мутация гена p53 и метилирование MGMT – 5 (22%) случаев;

- мутация гена p53 и неметилированный MGMT - 3 (13%) случая;
- метилированный MGMT с геном p53 дикого типа в 3 случаях, с учетом незначимой

мутации гена p53 у одного больного, данную группу относятся 4 (17%) случая;

- неметилированный MGMT и ген p53 дикого типа - 11 (48%) случаев.

Таким образом, имеются существенные основания для клинического исследования сравнительной эффективности различных схем адъювантной химиолучевой терапии при первичной глиобластоме у пациентов (как взрослых, так и детей) с различным статусом генов p53 и MGMT.