



№ 4 (35) октябрь 2010

Главный редактор:

Эмануэль В.А., д.м.н., проф.

Заместители главного редактора:

Зыбина Н.Н., д.б.н., проф.

Сухоруков В.С., д.м.н., проф.

Директор редакции:

Чередниченко Д.В., к.м.н.

Зав. редакцией:

Эмануэль Ю.В., к.м.н.

Редактор перевода:

Филиппова Н.А., к.м.н.

Ответственный секретарь

Попенко В.В.

Адрес редакции:

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

Телефон редакции:

(812) 233 97 26

Эл. почта:

ejvcons@mail.ru

Журнал зарегистрирован

в Федеральной службе

по надзору в сфере связи,

информационных технологий

и массовых коммуникаций

(Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации:

ПИ №ФС77-38698 от 22.01.2010

Учредитель:

ГОУ ВПО «СПб Государственный

медицинский университет

им. акад. И. П. Павлова

Федерального агентства

по здравоохранению

и социальному развитию»

(197022, Санкт-Петербург,

ул. Льва Толстого, д. 6/8)

Оригинал-макет и верстка:

ООО «Издательско-

полиграфическая

компания «КОСТА»,

тел. **(812) 445 10 02**

Отпечатано в типографии

ООО «ИПК БИОНТ»

199026, Санкт-Петербург,

Средний пр., д. 86

Тираж 1000 экз.

Заказ №



КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Уважаемые коллеги!

Редакция этим номером журнала заканчивает публикацию материалов прошедшего 6–9 июня 2010 года в Санкт-Петербурге конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины: возможное и реальное», посвященного памяти профессора Е.И. Шварца.

Материалы конгресса в очередной раз продемонстрировали, что достижения естественно-научных дисциплин активно вошли в практику современных клиник и позволили оценивать патологические процессы на клеточном, молекулярном уровне. Более того, молекулярно-биологические и молекулярно-генетические технологии позволяют принципиально менять сферу деятельности учреждений здравоохранения с акцентом на профилактику заболеваний. Масштабный шаг в стране сделан в прошлом году с запуском программы «Центры здоровья».

Для успешного совершенствования медицинской помощи и повышения ее эффективности первостепенное значение имеет опережающее обучение медицинских кадров молекулярным основам клинической медицины.

Следующим масштабным мероприятием в этом направлении является I международная научно-практическая конференция «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине», которая состоится с 17 по 19 ноября 2010 года в МГУ имени М.В. Ломоносова.

Организаторами конференции являются: Федеральное медико-биологическое агентство, Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, ООО «Парк-медиа», при поддержке Министерства образования и науки РФ, РАМН, Сибирского отделения РАН.

В конференции примут участие российские и зарубежные специалисты международного уровня. В рамках мероприятия состоятся пленарные и секционные заседания.

Редколлегия

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО	1
РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ	2
КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО	
<i>Йуст ванн дер Хук, Евонт Дж. Хум, Гийс М.Т. де Йонг, Эмиль Н.В. Йанссенс, Воутер В. Де Хердер</i>	
ТЯЖЁЛАЯ ГИПОНАТРИЕМИЯ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ НАТРИЯ В МОЧЕ И ОСМОЛЯРНОСТЬЮ	6
CLINICAL CASE STUDY	
<i>Joost van der Hoek, Ewout J. Hoorn, Gijs M.T. de Jong, Emile N.W. Janssens, Wouter W. de Herder</i>	
SEVERE HYPONATREMIA WITH HIGH URINE SODIUM AND OSMOLALITY	12
МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА «МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ — ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»	
<i>Н.В. Савина, М.П. Смаль, Т.Д. Кужир, О.М. Хурс, Т.М. Егорова, А.Д. Политыко, Р.И. Гончарова</i>	
НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА ПРИ СИНДРОМЕ МИКРОДЕЛЕЦИЙ	17
<i>Г.Р. Акопян, Г.В. Макух, Л.В. Костюченко, Н.В. Маркевич</i>	
СИНДРОМ НИЙМЕГЕН В УКРАИНЕ	22
Тезисы	
<i>V. Cirigliano, G. Voglino, A. Marongiu, E. Ordoce, L. Rueda, A. Plaja, C. Fuster</i>	
LARGE SCALE CLINICAL APPLICATION OF QF-PCR FOR RAPID PRENATAL DIAGNOSIS OF COMMON CHROMOSOME ANEUPLOIDIES	26
<i>Coviello Domenico</i>	
MEDICAL GENETICS EDUCATION: ORGANIZATION MODELS AND EXAMPLES FROM UNDERGRADUATE MEDICAL STUDENTS LEVEL TO CONTINUING MEDICAL EDUCATION (CME)	26
<i>Coviello Domenico</i>	
ORGANIZATION AND QUALITY IN THE PROVISION OF MEDICAL GENETIC SERVICES IN EUROPE	27
<i>M.D. Golubovsky</i>	
HUMAN CHIMERA AND TWINS IN CURRENT REPRODUCTIVE CYTOGENETICS	27
<i>Maj A. Hulten</i>	
THE ORIGIN AND DIAGNOSTICS OF COMMON CHROMOSOME DISORDERS	28
<i>M. Kremensky</i>	
USING ARRAY-CGH IN PGD FOR CARRIERS OF BALANCED TRANSLOCATIONS	28
<i>Mats Nilsson</i>	
NEW DEVELOPMENTS IN PRENATAL DIAGNOSIS	29
<i>Salla Ruosaari</i>	
BACS-ON-BEADS™, A NEW TECHNOLOGY FOR RAPID DETECTION OF FETAL MICRODELETIONS AND ANEUPLOIDIES	29
<i>А.В. Аркадьева, И.М. Спивак</i>	
ИЗУЧЕНИЕ МАРКЕРОВ СТАРЕНИЯ В ФИБРОБЛАСТАХ МЫШЕЙ ЛИНИИ SHR, ПОЛУЧАВШИХ МЕТФОРМИН В ТЕЧЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВРЕМЕНИ	30
<i>С.С. Арутюнян, Э.Ф. Андреева, В.И. Ларионова, Н.Д. Савенкова</i>	
КАТАМНЕЗ 34 СЕМЕЙ С АУТОСОМНО-ДОМИНАНТНЫМ ПОЛИКИСТОЗОМ ПОЧЕК	30
<i>А.Д. Богомазов, А.А. Дедков, В.П. Иванов</i>	
СВЯЗЬ НЕКОТОРЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В ФОРМИРОВАНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ	31
<i>А.Д. Богомазов, А.А. Дедков, В.П. Иванов</i>	
НЕКОТОРЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У ДЕТЕЙ	31
<i>А.Д. Богомазов, А.А. Дедков, В.П. Иванов</i>	
СВЯЗЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РАЗВИТИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА У ДЕТЕЙ	32
<i>Н.М. Борисов, Н.Б. Безродная, Н.С. Боговалова, Ж.Ж. Галяутдинова, А.В. Зяблицин</i>	
ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЕ МЕТОДЫ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ	32
<i>С.К. Боярова</i>	
ПРИМЕНЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ В ПАРОДОНТОЛОГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПОЖИЛЫХ БОЛЬНЫХ	33
<i>Е.Е. Васенев, В.И. Польшина</i>	
ОСОБЕННОСТИ ФИНИШНОЙ ОБРАБОТКИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ РЕСТАВРАЦИОННЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ТКАНЕЙ ЗУБА	33

<i>М.В. Вахарловская, М.А. Петрова, Т.Э. Иващенко</i>	
К ВОПРОСУ ОБ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА NOS-1B ФОРМИРОВАНИИ АТОПИИ У ДЕТЕЙ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ	34
<i>В.Г. Вахарловский, Г.Ю. Железнякова, А.В. Киселев, В.Н. Команцев, А.А. Егорова, Т.Н. Сезнева, Р.Г. Юрьева, М.В. Вахарловская, А.Н. Баранов, В.С. Баранов</i>	
ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ПРОКСИМАЛЬНОЙ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИЕЙ (СМА) ПРЕПАРАТАМИ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ	35
<i>Н.М. Волков, С.А. Проценко, Е.Н. Суспицын</i>	
ОЦЕНКА ЗНАЧИМОСТИ ЭКСПРЕССИ ВСРА1 И TOR2A В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА ЖЕЛУДКА	35
<i>И.Е. Воробцова, А.В. Семёнов, З.Ж. Васильева</i>	
РОЛЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОЦЕНКЕ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ЧЕЛОВЕКА.	36
<i>В.Н. Горбунова, Е.Н. Имянитов</i>	
ОПЫТ ПРЕПОДАВАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ В СПБГПМА	37
<i>В.Н. Горбунова</i>	
ОПУХОЛИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В СТРУКТУРЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ.	37
<i>Э.В. Земцовский</i>	
ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ПЕРВЫХ РОССИЙСКИХ НАЦИОНАЛЬНЫХ РЕКОМЕНДАЦИЙ ПО ПРОБЛЕМЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ НАРУШЕНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ.	38
<i>Т.И. Кадурина, В.Н. Горбунова</i>	
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ НАРУШЕНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА. ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ.	39
<i>Е.Г. Ключева, В.В. Голдобин</i>	
ТРУДНОСТИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ГИПЕРКИНЕТИЧЕСКОГО СИНДРОМА	39
<i>Д.В. Кулешова, Р.М. Бицадзе, А.Г. Обрезан, И.М. Спивак</i>	
РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ КАРДИОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-го ТИПА.	40
<i>М.Л. Куранова, Н.М. Плещач, В.К. Михельсон, И.М. Спивак</i>	
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ АТАКСИЕЙ-ТЕЛЕАНГИЭКТАЗИЕЙ	40
<i>Т.А. Ледащева</i>	
КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ ПРИ МИОДИСТРОФИИ ДЮШЕННА/БЕККЕРА	41
<i>Е.В. Линде, И.И. Ахметов, З.Г. Орджоникидзе</i>	
РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ В ГЕНЕЗЕ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ «СПОРТИВНОГО СЕРДЦА»	41
<i>Б.М. Липовецкий</i>	
ТИПЫ ДИСЛИПИДЕМИЙ, ИХ КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ И ВЛИЯНИЕ НА РАЗВИТИЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА	42
<i>А.А. Мамонов, Б.Ф. Щеголев, В.Е. Стефанов</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОСТЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПИРАЗИНОВ С КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНОЙ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ	43
<i>И.С. Мартынкевич, С.В. Грицаев, М.В. Москаленко, В.Ю. Аксенова, М.П. Иванова, Л.С. Мартыненко, Н.Ю. Цыбакова, К.М. Абдулкадыров</i>	
ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МУТАЦИЙ ГЕНОВ FLT3 И NPM1 У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ, МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И СМЕШАННЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ	43
<i>А.Н. Мешков, А.И. Ершова, П.П. Малышев, Т.А. Рожкова, В.В. Кухарчук, С.А. Бойцов</i>	
МОСКОВСКАЯ ГОРОДСКАЯ ПРОГРАММА СКРИНИНГА БОЛЬНЫХ С СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ — ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ	44
<i>В.В. Мирошникова, Е.П. Демина, Т.И. Родыгина, П.С. Курьянов, В.Н. Вавилов, С.А. Уразгильдеева, В.С. Гуревич, А.Г. Виноградов, А.Д. Денисенко, А.Л. Шварцман</i>	
КЛЮЧЕВЫЕ БЕЛКИ ОБРАТНОГО ТРАНСПОРТА ХОЛЕСТЕРИНА И АТЕРОСКЛЕРОЗ.	45
<i>Н.О. Могеладзе, В.А. Холодков, В.А. Щуров</i>	
МЕДИЦИНСКИЕ И СОЦИАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ ПОТЕРИ БЕРЕМЕННОСТИ	45
<i>Е.Д. Мозговой</i>	
ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ АНАЛИЗА ГЕНЕТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ КОННЕКСИНА-26 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЖЕЛУДКА	46

<i>М.В. Москаленко, И.С. Мартынкевич, В.Ю. Аксенова, Л.С. Мартыненко, М.П. Иванова, Н.Ю. Цыбакова, В.Ю. Удальева, Е.И. Усачева, Е.В. Карягина, Т.В. Шнейдер, К.М. Абдулкадыров</i>	
МУТАЦИЯ V617F В ГЕНЕ JAK2 У БОЛЬНЫХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ	45
<i>О.С. Панкратова, А.Б. Чухловин, Ю.А. Эйсмонт, С.Н. Ширяев, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев</i>	
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ И ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК	45
<i>Н.Б. Рубцов</i>	
ДИАГНОСТИКА ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ: ПОДХОДЫ, МЕТОДЫ, РЕЗУЛЬТАТЫ	46
<i>Ареф Даил Саид, В.П. Иванов, И.А. Мандрик, А.Н. Борков</i>	
АНАЛИЗ АБЕРРАЦИЙ В МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМАХ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖИТЕЛЕЙ ЙЕМЕНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (Г. ТАИЗ)	47
<i>Л.А. Сайкова, В.Г. Пустозеров</i>	
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И КЛИНИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ МИОПАТИЙ	47
<i>Н.В. Саура, М.Н. Лебедева</i>	
РОЛЬ ПАРАМЕТРОВ ФЕРРОКИНЕТИКИ НА ЭТАПЕ ПОДГОТОВКИ К ХИРУРГИЧЕСКОМУ ВМЕШАТЕЛЬСТВУ ДЕТЕЙ С ТЯЖЕЛЫМИ ДЕФОРМАЦИЯМИ ПОЗВОНОЧНИКА	48
<i>Д.Ю. Семенов, М.И. Зарайский, М.Е. Борискова, И.Ю. Сабурова, П.А. Панкова, Н.С. Фещенко, В.Г. Чаусова, У.В. Фарафонова, О.П. Пестерова</i>	
ЗНАЧЕНИЕ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ ГЕНА BRAF В ДООПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	48
<i>Л.Г. Сентюрова, О.Г. Ганина</i>	
ДИНАМИКА ОБЩЕГО БЕЛКАВ ЭПИТЕЛИОЦИТАХ ПРОКСИМАЛЬНОГО КАНАЛА НЕФРОНА	49
<i>И.М. Спивак, Е.А. Полуботко, В.М. Михельсон</i>	
АТАКСИЯ-ТЕЛЕАНГИЭКТАЗИЯ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ И ПОВЫШЕННОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ	49
<i>А.А. Тарасов, Т.А. Безбородова, С.И. Давыдов</i>	
АНТИТЕЛА К КОЛЛАГЕНУ КАК МАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С ВЫСОКИМ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМ РИСКОМ	50
<i>В.Х. Хавинсон, Д.Л. Стрекалов, А.А. Лыщев, В.Н. Горбунова, Е.И. Шварц</i>	
АНАЛИЗ АССОЦИИ НЕКОТОРЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ	50
<i>Г.А. Цаур, А.М. Попов, Т.В. Наседкина, А.М. Кустанович, О.В. Каленник, С.Ю. Ковалев, Т.О. Ригер, Е.Р. Семенихина, А.С. Иванова, Ю.А. Яковлева, А.Е. Друй, Е.В. Шорилов, О.В. Стрелева, О.М. Плеханова, М.В. Стригалева, О.В. Алейникова, С. Meyer, R. Marschalek, Л.И. Савельев, Л.Г. Фечина</i>	
ПЕРЕСТРОЙКИ ГЕНА MLL У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ	51
<i>А.Б. Чухловин</i>	
ПОЛИМОРФИЗМ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ЕГО РОЛЬ В СОСТОЯНИЯХ, СВЯЗАННЫХ С РЕМОДЕЛИНГОМ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА	52
<i>М.Л. Чухловина</i>	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА	53
<i>А.М. Шапошников, С.Е. Хальчицкий, И.А. Булычева</i>	
ГИПЕРФЕНИЛАЛАНИЕМИИ: ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ДЕФЕКТОВ	53
<i>А.И. Шихлярова, Л.П. Барсукова, Г.Я. Марьяновская, Е.А. Шейко, Е.П. Коробейникова, Т.П. Протасова</i>	
ВОЗМОЖНОСТИ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ.	54
<i>В.П. Шубин, А.Н. Логинова, Н.И. Поспехова, О.В. Волкова, А.В. Карпунин</i>	
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕНОВ BRCA1/2 ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИЯ	54
<i>Г.С. Якупова, Т.Ю. Смирнова, А.Г. Захарчук, Д.Л. Спивак, И.М. Спивак</i>	
ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ И СЕРОТОНИНОВОЙ СИСТЕМ С АКТИВНЫМ ДОЛГОЛЕТИЕМ В ПОПУЛЯЦИИ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ	55
РАЗНОЕ	
<i>К.А. Бердюгин, С.М. Кутепов, О.В. Бердюгина, И.А. Цыбулько</i>	
О НЕУДОВЛЕТВОРИТЕЛЬНЫХ ИСХОДАХ ТРАНСПЕДИКУЛЯРНОЙ ФИКСАЦИИ ПОЗВОНОЧНИКА АППАРАТОМ ВНЕШНЕЙ ФИКСАЦИИ	56
АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ	
<i>Т.И. Долгих, В.Л. Стасенко, П.А. Усков, М.А. Вайтович, М.Ф. Ерофеева, Т.А. Семенова, Ю.В. Ерофеев, А.А. Кишкун</i>	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ, ПОРЯДОК ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ И УТИЛИЗАЦИИ ОДНОРАЗОВЫХ ВАКУУМНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ВЗЯТИЯ ПРОБ КРОВИ И ЛАБОРАТОРНОГО РАСХОДНОГО ПЛАСТИКА ОДНОКРАТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ	62

КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

УДК 616.152.33:616.632.33]: 612.014.462.1

ТЯЖЁЛАЯ ГИПОНАТРИЕМИЯ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ НАТРИЯ В МОЧЕ И ОСМОЛЯРНОСТЬЮ

ЙУСТ ВАНН ДЕР ХУК^{1*}, ЕВОНТ ДЖ. ХУМ¹, ГИЙС М.Т. ДЕ ЙОНГ²,
ЭМИЛЬ Н.В. ЙАНССЕНС², ВОУТЕР В. ДЕ ХЕРДЕР¹

¹ Отдел внутренней медицины, Медицинский центр Эрасмуса, Роттердам, Нидерланды

² Отдел внутренней медицины, Клиника Альберта Швейцера, Дордрехт, Нидерланды

* Адрес для корреспонденции этому автору: Медицинский центр Эрасмуса, отдел внутренней медицины, Р.О. 2040, 3000 Роттердам, Нидерланды, факс: +31-10-7031146, электронный адрес: j.vanderhoek@erasmusmc.nl

Данная статья была переведена с разрешения ААСС. ААСС не отвечает за точность перевода. Точка зрения, высказанная авторами, не обязательно отражает точку зрения ААСС или журнала. Перепечатано из *Clin. Chem.* 2009; 55: 11: 1905–1909 с разрешения издательства. Оригинальная публикация © 2009. При цитировании статьи необходимо ссылаться на оригинальную публикацию в журнале «Клиническая химия» («Clinical Chemistry»).

Ключевые слова: первичная недостаточность коры надпочечников, синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона (СНСАГ), гипонатриемия, осмолярность, аутоиммунная полиэндокринопатия 2 типа, кортикотропин-релизинг гормон (КРГ).

Клинический случай

Женщина 49 лет (в анамнезе — в детстве бронхиальная астма, без применения терапии), доставлена на станцию скорой помощи с жалобами на тошноту и рвоту, продолжающимися в течение пяти дней, и спутанной речью, появившейся за день до настоящей госпитализации. Пациентка отрицала употребление алкоголя и запрещённых наркотических веществ. При обследовании артериальное давление составило 125/70 мм рт. ст., пульс был 72 удара в минуту, ритмичный. У неё не было лихорадки и никаких признаков увеличения объёма внеклеточной жидкости. Результаты дальнейшего физического и неврологического обследования не выявили никаких особенностей. Зоба, пигментации или витилиго обнаружено не было. Результаты лабораторных исследований пациентки представлены в таблице 1. Дополнительные диагностические исследования включали рентгенографию грудной клетки, ультразвуковое исследование брюшной полости и компьютерную томографию головного мозга, в результате этих исследований не было выявлено никаких отклонений. Был заподозрен синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона (СНСАГ)¹. Однако уменьшение жидкости (500 мл/день) не привело к увеличению концентрации натрия в сыворотке крови.

¹ Нестандартная аббревиатура: СНСАГ — синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона, АКТГ — adrenokortikotropnyy hormon, КРГ — кортикотропин-релизинг гормон.

В процессе обсуждения данного клинического случая предлагается ответить на следующие вопросы:

1. Каков дифференциальный диагноз у пациентки с тяжёлой гипонатриемией и высоким уровнем натрия в моче и осмолярностью?
2. Какие три гормона в случае изменения их концентрации могут независимо друг от друга привести к гипонатриемии с высоким уровнем натрия в моче и осмолярностью?
3. Что должно быть исключено перед постановкой диагноза?

Обсуждение

В связи с отсутствием ответной реакции на терапию, применяемую при синдроме нарушения секреции антидиуретического гормона, были высказаны предположения о гипотиреозидизме и/или недостаточности надпочечников, особенно по причине того, что уровень глюкозы был также низкий. Уровень тиреоидстимулирующего гормона был 63 мЕ/л (референсный интервал 0,4–4,0 мЕ/л), свободного тироксина — 5 пмоль/л (референсный интервал 9–245 пмоль/л; для перевода уровня свободного тироксина из пмоль/л в нг/дл нужно показатели делить на 13). Измеренный уровень кортизола составил 151 нмоль/л (референсный интервал — 150–700 нмоль/л; для перевода уровня кортизола из нмоль/л в мкг/л нужно показатели делить на 0,0157), а в результате стимулирующего теста с 1–24 фрагментом адrenokortikotropnogo гормона (АКТГ) уровень базального кортизола составил 56 нмоль/л увеличился только до 57 нмоль/л (нормальная реакция > 500 нмоль/л).

Таблица 1. Результаты лабораторных исследований

	Параметр	У пациента	Референсный интервал
Сыворотка крови	натрий, ммоль/л	101	135–145
	калий, ммоль/л	4,0	3,5–5,0
	осмолярность, мОсм/кг	209	280–300
	глюкоза, ммоль/л ¹	3,5	4,0–7,6
	кальций, ммоль/л	2,19	2,20–2,65
	креатинин, мкмоль/л	69	75–110
	мочевина, ммоль/л	2,9	2,5–6,4
	мочевая кислота, ммоль/л	0,19	0,20–0,42
	гемоглобин, ммоль/л	8,8	7,5–9,5
Моча	альбумин, г/л	42	35–50
	натрий, ммоль/л	95	— ²
	осмолярность, мОсм/кг	812	50–1200

¹ Для перевода уровня глюкозы из наномолей на литр в миллиграммы на децилитр нужно умножить значение на 18.

² Не имеется данных об уровне референсного интервала для значений уровня натрия в моче, потому что данные значения зависят от диеты и клинических обстоятельств. В течение гипонатриемии для дифференциальной диагностики могут быть использованы высокие или низкие уровни концентрации натрия (обычно с разделительной точкой cutoff 20 ммоль/л).

Уровень АКГТ в сыворотке крови был 1124 нг/л (референсный интервал 7–50 нг/л; для перевода уровня АКГТ из нг/л в пмоль/л нужно умножить показатели на 0,220). Данные результаты подтвердили наличие и первичной недостаточности надпочечников, и первичный гипотиреоз. Наличие антител к коре надпочечников, тиреоидной пероксидазе, париетальным клеткам и внутреннему фактору позволяет диагностировать аутоиммунную полиэндокринопатию 2 типа. Был введён внутривенно гидрокортизон (первоначально струйно 100 мг с последующим введением в количестве 200 мг за 24 часа), что скорректировало уровень сывороточного натрия (рис. 1). После того, как был достигнут уровень натрия в сыворотке крови в пределах значений референсного интервала, пациентка была переведена на пероральный приём гидрокортизона (10–5–5 мг в день) и L-тироксина (50 мкг).

Данный клинический случай имеет две основные черты. Во-первых, он иллюстрирует диагностические проблемы выявления тяжёлой гипонатриемии с высоким содержанием натрия в моче и осмолярностью. Во-вторых, он довольно ярко иллюстрирует то, каким атипичным может быть проявление надпочечниковой недостаточности.

Врачебная тактика ведения больного с тяжёлой гипонатриемией

Когда врач сталкивается со случаем тяжёлой гипонатриемии, первый вопрос, который должен последовать, — острая она или хроническая [1].

При острой гипонатриемии важным осложнением является возникновение отёка мозга, вследствие того, что клетки мозга имеют слишком мало времени для

адаптации к клеточному отёку. И наоборот, когда хроническая гипонатриемия корректируется слишком быстро, возникает риск осмотической демиелинизации (клетки мозга адаптированы и подвержены резкому изменению тонуса). Представленные симптомы у пациентки в данном клиническом случае требуют анализа, потому что тошнота и рвота могут быть симптомами и надпочечниковой недостаточности, и отёка мозга. По причине того, что симптомы могли длиться более двух дней, у пациентки могла иметь место хроническая гипонатриемия, и уровень натрия в сыворотке крови не был своевременно скорректирован. Имеющиеся случаи подтверждают возможность таких последствий, потому что и первичная недостаточность надпочечников, и несбалансированное питание могут быть факторами риска осмотической демиелинизации [2].

После того, как было доказано наличие острой гипонатриемии, необходимо решить вопрос о введении вазопрессина (антидиуретический гормон), и если да, то какие имеются на это причины [1]. Вазопрессин не применяется в рутинной клинической практике, несмотря на то, что стабильное введение его аналогов может изменить данную ситуацию [3]. Осмолярность мочи является хорошим показателем действия вазопрессина на почки, и превышение осмолярности мочи над осмолярностью сыворотки крови почти всегда свидетельствует о высоком уровне циркулирующего вазопрессина. Если также активирована ренин-ангиотензиновая система, концентрация натрия в моче будет низкой, поскольку альдостерон стимулирует реабсорбцию натрия в дистальном отделе нефрона. Высокий уровень осмолярности мочи с низким уровнем натрия в моче определяет внепочечную потерю натрия (что может происходить

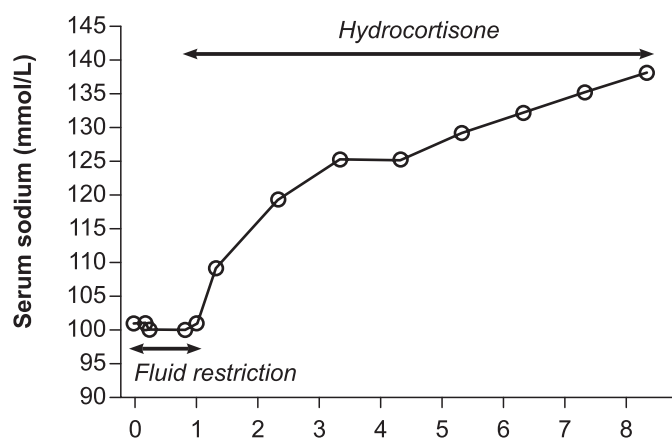


Рис. 1. Концентрация натрия в сыворотке крови в начале, в течение лечения ограничением потребления жидкости и гидрокортизоном

при гиповолемии, диарее и ожогах), сердечную недостаточность и цирроз печени. Дифференциальный диагноз гипонатриемии с высоким уровнем натрия в моче и осмолярностью (как показано в данном клиническом случае) включает в себя анализ таких ситуаций как возможное лечение мочегонными препаратами, первичную и вторичную надпочечниковую недостаточность, утрату соли мозгом, нефропатию в результате потери солей и СНСАГ [1]. Многие врачи, как правило, диагностируют СНСАГ до исключения других причин. Однако в соответствии с критериями, СНСАГ является диагнозом исключения [1].

Некоторые диагностические тесты лучше, чем другие, помогают в дифференциальной диагностике. Например, клиническое определение объема внеклеточной жидкости у пациентов с гипонатриемией имеет низкую диагностическую чувствительность и специфичность [1]. Вместо этого, как представляется, концентрация мочевой кислоты является более ценным показателем в оценке объема внеклеточной жидкости при гипонатриемии. При увеличении объема внеклеточной жидкости (при СНСАГ, гипокортицизме) реабсорбция мочевой кислоты в проксимальных канальцах почки подавляется, что приводит к её низкой концентрации в сыворотке крови и высокой фракционной экскреции. Обратная ситуация, как правило, характерна для сниженного объема внеклеточной жидкости (например, как это происходит при использовании диуретиков, при первичной недостаточности коры надпочечников, а также при сольтеряющей нефропатии — «salt-wasting» нефропатия), несмотря на возражение, что мозговой сольтеряющий синдром и некоторые формы почечной потери натрия могут также приводить к потере мочевой кислоты почками. В таких случаях необходимо также измерять уровень мочевины (концентрация в сыворотке, близкая к верхней границе референсного интервала, низкая фракционная экскреция) как единицу уменьшения объ-

ема внеклеточной жидкости. Склонность к метаболическому алкалозу указывает на СНСАГ или использование диуретиков, тогда как метаболический ацидоз наводит на мысли о первичной надпочечниковой недостаточности [4]. Гипокалиемия может сопровождать гипонатриемию при использовании диуретиков, тогда как гиперкалиемия больше характерна для первичной надпочечниковой недостаточности. У данной пациентки уровень мочевины был на нижней границе референсного интервала, хотя концентрация креатинина и мочевой кислоты были меньше референсного предела, подтверждая факт увеличения объема внеклеточной жидкости и один из двух диагнозов — СНСАГ или гипокортицизм (болезнь Аддисона). Еще один тест, помогающий отличить гипонатриемию вследствие разведения (за счет задержки воды) или истощения (за счет потери натрия), — оценка ответа на введение изотонического раствора.

Хотя СНСАГ встречается чаще, чем надпочечниковая недостаточность, последствия в случае не диагностирования надпочечниковой недостаточности могут быть тяжелыми [5, 6]. Определение кортизола может быть использовано для диагностики надпочечниковой недостаточности, но концентрация кортизола в диапазоне от 100 до 700 нмоль/л еще не исключает ее [5]. Поэтому лучшим тестом на сегодняшний день является АКТГ-стимулирующий тест. Мы не проводили АКТГ-стимулирующего теста с высокой дозой препарата (250 мкг синтетического АКТГ 1–24 на 1,73 м²). Однако таким же важным является АКТГ-стимулирующий тест с низкой дозой (1 мкг синтетического АКТГ 1–24 на 1,73 м²). Тест с низкой дозой может быть более чувствительным показателем реактивности коры надпочечников, и он был недавно утвержден для диагностики первичной надпочечниковой недостаточности [7]. В обоих тестах назначение синтетического АКТГ должно привести к тому, что у пациентов концентрация кортизола должна быть 500 нмоль/л или выше при нормально функционирующих надпочечниках [7].

Что касается терапевтического применения гидрокортизона, важно подчеркнуть, что гипонатриемию можно быстро скорректировать однократным введением гидрокортизона. Чтобы избежать осмотической демиелинизации, коррекция гипонатриемии должна быть ограничена 8 ммоль/л (гидрокортизона) в сутки [1]. Если увеличение в сыворотке крови натрия превышает этот лимит, следует подумать о применении гипотонических растворов и/или экзогенного вазопрессина [1, 2].

Нетипичное представление о первичной надпочечниковой недостаточности

Soule S. ранее показал, что гипонатриемия, гиперкалиемия, гиперкальциемия, гипогликемия и эозинофилия присутствовали лишь в 78%, 52%, 21%, 18% и 23% среди 50 пациентов с первичной надпочечниковой недостаточностью [6]. Он описал первичную недостаточ-

ность надпочечников как еще одну «великую “обезьяну” в медицине» [6].

Мы предлагаем два возможных объяснения, почему у пациентки, которую мы описываем, не было ни гипотонии, ни гиперкалиемии. Первое — она страдала изолированным гипокортицизмом с достаточной остаточной секрецией альдостерона для предотвращения потери натрия почками и осуществления секреции калия. Второе — возможно, у нее присутствовал дефицит альдостерона, но защитные механизмы препятствовали развитию гипотонии и гиперкалиемии.

Если имел место изолированный гипокортицизм, то возникает следующий вопрос: почему пострадала секреция кортизола, а не альдостерона? Одно из возможных объяснений такое — ангиотензин II является более мощным регулятором, стимулирующим секрецию альдостерона, чем АКТГ — для кортизола. Другая причина состоит в том, что кортизол-продуцирующая пучковая зона была селективно нарушена. Например, можно предположить, что антитела почему-то обладают более высоким сродством к клеткам пучковой зоны, чем к клеткам клубочковой зоны. Патофизиологически дефицит кортизола является причиной гипонатриемии, которая реализуется через различные механизмы, в отличие от дефицита альдостерона. При низкой концентрации кортизола в крови обратная связь кортизола с гипоталамусом теряется. Как следствие, кортикотропин-релизинг гормон (КРГ) больше не подавляется. Высокие концентрации КРГ стимулируют секрецию вазопрессина. КРГ и в меньшей степени вазопрессин являются веществами, увеличивающими секрецию АКТГ, что и объясняет высокую концентрацию АКТГ. Тот факт, что уровень мочевой кислоты в сыворотке был низким и уровень мочевины был близким к нижней границе референсного интервала, может также говорить в пользу возможности изолированного гипокортицизма (табл. 1, см. также выше). Вторая возможная причина (отсутствие

гипотонии и гиперкалиемии) заключается в том, что существовал дефицит альдостерона, но гипотензия и гиперкалиемия были предотвращены дополнительными механизмами. D.Z. Cherney и др. теоретически предположили 3 причины, почему значительный дефицит натрия не обязательно приводит к гемодинамической нестабильности [8]. Во-первых, гипонатриемия вызовет набухание эритроцитов, которое увеличит объем плазмы и, соответственно, фактический циркулирующий объем крови. Во-вторых, надвигающаяся гиповолемия приведет к тяжелому состоянию адренергической системы, которое в свою очередь вызовет венозную вазоконстрикцию, уменьшение размеров сосудистого компонента, а также может увеличить давление при наполнении желудочков. В-третьих, гипонатриемия предполагает набухание клеток, которое увеличит интерстициальное давление и может способствовать смещению объема от интерстициального пространства к внутрисосудистому пространству.

В дополнение к гипотонии, гиперкалиемия по оценкам отсутствует примерно у 30–50% пациентов с первичной надпочечниковой недостаточностью [6, 9]. Возможными провоцирующими факторами являются низкое диетическое потребление калия (потеря аппетита является частой при надпочечниковой недостаточности) и потеря калия при рвоте. Другая возможная причина заключается в наличии циркулирующих катионных белков в контексте аутоиммунного заболевания или опухоли [9]. Эти белки могут активировать кальций-чувствительные рецепторы в толстой восходящей части петли Генле (дистальный прямой канал) [9, 10]. Активация этого рецептора может ингибировать работу фуросемид-чувствительного ко-транспортера ионов натрия, калия и хлора и вызывать мочегонный эффект (петли Генле) с натрийурезом и калийурезом.

Для этой пациентки тяжелая изолированная гипонатриемия была единственным характерным признаком

► NOTA BENE

1. Первичная недостаточность коры надпочечников может протекать без пигментации, ортостатической гипотонии, гиперкалиемии, гипогликемии и гиперкальциемии.
2. Синдром несоответствующего антидиуреза является диагнозом исключения, который может быть поставлен, только если исключаются использование диуретиков, надпочечная и гиповольемическая недостаточности, а также гипотиреоз.
3. Первичная недостаточность коры надпочечников может быть подтверждена низкими концентрациями кортизола, измеренного в любое время суток, но и при нормальных концентрациях кортизола необходимо выполнить АКТГ-стимулирующий тест для ее исключения.
4. Представление о надпочечниковой недостаточности без ортостатической гипотонии и гиперкалиемии может быть связано с изолированным гипокортицизмом или предотвращением этих симптомов защитными механизмами.
5. Дефицит кортизола приводит к гипонатриемии, так как дефицит кортизола стимулирует секрецию кортикотропин-релизинг гормона, который, в свою очередь, стимулирует синтез вазопрессина, тогда как дефицит альдостерона приводит к гипонатриемии из-за потери натрия почками, гиповолемии и опосредованного барорецепторами выхода вазопрессина.

первичной надпочечниковой недостаточности. Надпочечниковая недостаточность всегда должна исключаться у лиц с необъяснимой гипонатриемией, которые имеют высокую концентрацию натрия в моче и ее осмолярность.

Вклад авторов: все авторы подтвердили, что они внесли свой вклад в интеллектуальное содержание этого документа и отвечают трём следующим требованиям: (а) значительный вклад в развитие концепции и дизайна, приобретение данных или их анализ и интерпретация данных; (б) составление или пересмотр статьи интеллектуального содержания и (в) окончательное утверждение для публикации статьи.

Авторское изложение информации, потенциальный конфликт интересов: нет авторов, заявивших о любых потенциальных конфликтах интересов.

Роль спонсора: финансирование организации не играло никакой роли в исследовании, выборе пациентов, в обзоре и интерпретации данных, в подготовке или одобрении рукописи.

Список литературы

1. Hoorn E.J., Zietse R. Hyponatremia revisited: translating physiology to practice // *Nephron. Physiol.*, 2008; 108: 46–59.

2. Lin S.H., Hsu Y.J., Chiu J.S., Chu S.J., Davids M.R., Halperin M.L. Osmotic demyelination syndrome: a potentially avoidable disaster // *QJM*, 2003; 96: 935–947.

3. Fenske W., Störk S., Blechschmidt A., Maier S.G., Morgenthaler N.G., Allolio B. Copeptin in the differential diagnosis of hyponatremia // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2009; 94: 123–129.

4. Decaux G., Musch W. Clinical laboratory evaluation of the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008; 3: 1175–1184.

5. Smith J.C., Siddique H., Corral R.J. Misinterpretation of serum cortisol in a patient with hyponatraemia // *BMJ*, 2004; 328: 215–216.

6. Soule S. Addison's disease in Africa: a teaching hospital experience // *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 1999; 50: 115–120. [CrossRef] [Medline] [Order article via Infotrieve].

7. Pura M., Kreze Jr. A., Kento P., Vauga P. The low-dose (1 mug) cosyntropin test (LDT) for primary adrenocortical insufficiency: defining the normal cortisol response and report on first patients with Addison disease confirmed with LDT // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. [Epub ahead of print 2009 Apr. 8].

8. Cherney D.Z., Davids M.R., Halperin M.L. Acute hyponatraemia and "ecstasy": insights from a quantitative and integrative analysis // *QJM*, 2002; 95: 475–483.

9. Gagnon R.F., Halperin M.L. Possible mechanisms to explain the absence of hyperkalaemia in Addison's disease // *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2001; 16: 1280–1284.

10. Quinn S.J., Kifor O., Trivedi S., Diaz R., Vassilev P., Brown E. Sodium and ionic strength sensing by the calcium receptor // *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 19579–19586.

Комментарий

ГЛЕН А. ХОРТИН*, НИЛ С. ХАРРИС, ВИЛЛИАМ И. ВИНТЕР

Отдел патологии, иммунологии и лабораторной медицины, Университет Флориды, Гайнессвил

*** Адрес для корреспонденции этому автору: Department of Pathology, Immunology, and Laboratory Medicine, University of Florida, Gainesville, FL 32610. E-mail: ghortin@pathology.ufl.edu**

Данный клинический случай иллюстрирует, что наличие лабораторных результатов, характерных для СНСАГ, не исключает другие возможные причины гипонатриемии, такие как гипотиреоз и гипокортизолизм. На сегодняшний день СНСАГ является диагнозом исключения, но прогресс в развитии спектрометрии определяет развитие точного измерения АДГ в будущем.

Когда в результате анализа определяются низкие уровни натрия, необходимо в первую очередь исключить искусственную гипонатриемию. Когда уровень натрия определяется косвенными методами, псевдогипонатриемия появляется в связи с высоким уровнем сывороточных белков или липидов, которые, как правило, не ниже концентрации натрия, описанные в данном случае; однако следует рассматривать другие потенциальные причины больших ошибок в измерении уровня натрия (например, выборочное разведение внутривенной жидкости, хранение образцов крови при пониженной температуре, неполадки прибора, закупорка пробозаборников сгусткам крови, сепараторами геля или криоглобулинами, ошибки при недостаточном количестве образцов или

наличие пузырьков в пробах, или препятствующие вещества) [1–3]. Электроды могут быть загрязнены поверхностно-активными веществами, такими как спирты, или другими компонентами, используемыми в качестве дезинфицирующих веществ для кожи, или поверхностно-активными веществами из других источников, таких как поверхности катетеров [3]. К счастью, хорошо квалифицированные сотрудники лаборатории могут обнаружить многие из этих ошибок перед выдачей результатов с помощью повторения анализа, путём сравнения новых результатов с предыдущими и по оценке других результатов теста того же образца. Может потребоваться новый забор образца. В данном случае очень низкий уровень осмолярности независимо поддерживает серьёзный дефицит электролитов. По уровням альбумина и гемоглобина можно предположить, что никаких существенных разведений образцов не произошло. Рисунок 1 иллюстрирует, что анализ дополнительных параметров исключает искусственную гипонатриемию.

Аутоиммунная полиэндокринопатия 2 типа, чаще встречающаяся у женщин, чем у мужчин, является по-

лигенным расстройством, возникающим в раннем детстве или у молодых взрослых; оно характеризуется первичной надпочечниковой недостаточностью или наличием антител к надпочечникам, а также аутоиммунным заболеванием щитовидной железы или сахарным диабетом 1 типа [4]. Поскольку первичная надпочечниковая недостаточность, как правило, включает разрушение клубочковой и пучковой зоны коры надпочечников, то в данном случае было бы интересно определить уровень ренина и альдостерона.

Вклад авторов: все авторы подтвердили, что они внесли свой вклад в интеллектуальное содержание этого документа и отвечают трём следующим требованиям: (а) значительный вклад в развитие концепции и дизайна, приобретение данных или их анализ и интерпретация данных; (б) составление или пересмотр статьи интеллектуального содержания и (в) окончательное утверждение для публикации статьи.

Авторское изложение информации, потенциальный конфликт интересов: нет авторов, заявивших о любых потенциальных конфликтах интересов.

Роль спонсора: финансирование организации не играло никакой роли в исследовании, выборе пациентов, в обзоре и интерпретации данных, в подготовке или одобрении рукописи.

Список литературы

1. Zweig M.H., Glickman J., Csako G. Analytical interference caused by incompletely clotted specimens // Clin. Chem., 1994; 40: 2325–2326.
2. Narayanan S., Guder W.G. Preanalytical variables and their influence on the quality of laboratory results // J IFCC, 2001; 13: 1–4.
3. Koch T.R., Cook J.D. Benzalkonium interference with test methods for potassium and sodium // Clin. Chem. 1990; 36: 807–808.
4. Eisenbarth G.S., Gottlieb P.A. Autoimmune polyendocrine syndromes // N. Engl. J. Med., 2004; 13: 350: 2068–2079.

Комментарий

РОБЕРТ РИЧАРДСОН*

Больница общего профиля Торонто, Торонто, ON, Канада

* Адрес для корреспонденции этому автору: Toronto General Hospital, 200 Elizabeth St., Toronto, ON, Canada. Fax 416-340-4999; e-mail: robert.richardson@uhn.on.ca

У пациентов, страдающих хронической гипонатриемией, сохраняется действие вазопрессина на почки, что является причиной задержки воды и попадания натрия во внеклеточную жидкость. В ходе обследований госпитализированных пациентов с гипонатриемией стимулом к секреции вазопрессина служит малый фактический циркулирующий объем, действующий через барорецепторы примерно у двух третей больных. Оставшаяся одна треть из них имеет различные стимулы для секреции вазопрессина, включая хирургическое вмешательство, тошноту, гипотиреоз, недостаточность надпочечников и СНСАДГ. Хотя объективное обследование часто чрезвычайно полезно в выявлении признаков измененного фактического циркулирующего объема (таких как отек, асцит, гипотензия, отклоняющееся от нормы яремное венозное давление), медицинский осмотр является ненадежным у значительной части пациентов.

Определение концентрации натрия в моче существенно помогает в дифференциальной диагностике. Концентрация должна быть низкой (менее 30 ммоль/л) со сниженным фактическим циркулирующим объемом, потому что натрий-сохраняющие факторы, включая ангиотензин 2, катехоламины, симпатическую нервную систему и альдостерон, активируются и стимулируются реабсорбцией натрия в почечных канальцах. Когда концентрация натрия в моче высока, как в этом случае, в первую очередь следует подумать о СНСАДГ. Однако это правило имеет два важных исключения. Во-пер-

вых — использование диуретиков, которые могут приводить к выбросу в кровь вазопрессина, опосредованного барорецепторами, вследствие сниженного фактического циркулирующего объема при высокой концентрации в моче натрия. Во-вторых — надпочечниковая недостаточность, при которой дефицит альдостерона или кортизола может приводить к секреции вазопрессина. Содержание натрия в моче высоко вследствие дефицита альдостерона. Надпочечниковая недостаточность всегда должна исключаться в случаях тяжелой гипонатриемии, потому что классические клинические признаки и биохимические показатели могут отсутствовать.

Вклад авторов: все авторы подтвердили, что они внесли свой вклад в интеллектуальное содержание этого документа и отвечают трём следующим требованиям: (а) значительный вклад в развитие концепции и дизайна, приобретение данных или их анализ и интерпретация данных; (б) составление или пересмотр статьи интеллектуального содержания и (в) окончательное утверждение для публикации статьи.

Авторское изложение информации, потенциальный конфликт интересов: нет авторов, заявивших о любых потенциальных конфликтах интересов.

Роль спонсора: финансирование организации не играло никакой роли в исследовании, выборе пациентов, в обзоре и интерпретации данных, в подготовке или одобрении рукописи.

CLINICAL CASE STUDY

SEVERE HYPONATREMIA WITH HIGH URINE SODIUM AND OSMOLALITY

JOOST VAN DER HOEK^{1*}, EWOUT J. HOORN¹, GIJS M.T. DE JONG², EMILE N.W. JANSSENS²,
WOUTER W. DE HERDER¹

¹ Department of Internal Medicine, Erasmus MC Rotterdam, the Netherlands;

² Department of Internal Medicine; Albert Schweitzer Hospital, Dordrecht, the Netherlands

* Address correspondence to this author at: Erasmus Medical Center,

Department of Internal Medicine, P.O. Box 2040, 3000 CA Rotterdam, the Netherlands.

Fax +31-10-7031146; e-mail: j.vanderhoek@erasmusmc.nl

This article has been translated with the permission of AACC. AACC is not responsible for the accuracy of the translation. The views presented are those of the authors and not necessarily those of the AACC or the Journal. Reprinted from Clin.Chem. 2009; 55: 11: 1905–1909, by permission of the publisher. Original copyright © 2009. American Association for Clinical Chemistry, Inc. When citing this article, please refer to the original publication source in the journal, Clinical Chemistry.

CASE

A 49-year-old woman (previous history of childhood asthma, no medication) presented to the emergency department with nausea and vomiting that had occurred for 5 days and slurred speech for 1 day prior to presentation. The patient denied use of alcohol and illicit drugs. Physical examination revealed her blood pressure to be 125/70 mmHg; she had no postural drop and had a regular pulse of 72 beats/min. She had no fever and no signs of contracted extracellular fluid volume. Results of further physical and neurological examination were unremarkable and revealed no goiter, pigmentation, or vitiligo. Her laboratory results are shown in Table 1. Additional diagnostic tests included chest x-ray, abdominal ultrasound, and brain computed tomography, none of which revealed abnormalities. The syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion (SIADH)¹ was suspected. However, fluid restriction (500 mL/day) did not lead to increased serum sodium.

Questions to consider

1. What is the differential diagnosis in a patient with severe hyponatremia and a high urine sodium and osmolality?
2. Name three hormones that, when disturbed, can all independently result in hyponatremia with a high urine sodium and osmolality?
3. What should be excluded before the diagnosis?

DISCUSSION

Because of the lack of response to therapy for SIADH, the diagnosis was reconsidered and hypothyroidism and/or

adrenal insufficiency were suspected, especially because serum glucose was also low. Serum thyroid-stimulating hormone was 63 mU/L (reference interval 0.4–4.0 mU/L) with free thyroxine of 5 pmol/L (reference interval 9–24 pmol/L; to convert pmol/L of free thyroxine to ng/dL, divide by 13). Random cortisol was 151 nmol/L (reference interval 150–700 nmol/L; to convert nmol/L of cortisol to µg/L, divide by 0.0157), and a stimulation test with the 1–24 fragment of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) showed a baseline cortisol of 56 nmol/L, which increased only to 57 nmol/L (normal response >500 nmol/L). Plasma ACTH was 1124 ng/L (reference interval 7–50 ng/L; to convert ng/L of ACTH to pmol/L, multiply by 0.220). These results confirmed the presence of both primary adrenal insufficiency and primary hypothyroidism. Antibodies against the adrenal cortex, thyroid peroxidase, parietal cells, and intrinsic factor were present, establishing the diagnosis of autoimmune polyglandular syndrome type 2. Intravenous hydrocortisone was administered (bolus 100 mg followed by 200 mg/24 h), which corrected serum sodium (Fig. 1). After a sodium concentration within the reference interval was achieved, the patient was switched to oral hydrocortisone (10–5–5 mg daily) and L-thyroxine (50 µg).

This case has 2 salient features. First, it illustrates the diagnostic challenges of severe hyponatremia with high urine sodium and osmolality. Second, it illustrates quite strikingly how atypical the presentation of adrenal insufficiency can be.

APPROACH TO A PATIENT WITH SEVERE HYPONATREMIA

When a clinician is confronted with a case of hyponatremia, the first question should be whether it is acute or chronic [1].

¹ Nonstandard abbreviations: SIADH, syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion; ACTH, adrenocorticotrophic hormone; CRH, corticotrophin-releasing hormone.

In acute hyponatremia the most important risk to address is cerebral edema, because brain cells have too little time to adapt to cell swelling. Conversely, when chronic hyponatremia is treated too fast, the risk is osmotic demyelination (brain cells have adapted and are exposed to sudden changes in tonicity). The presenting symptoms in this case patient already posed a challenge, because nausea and vomiting can be symptoms of both adrenal insufficiency and early cerebral edema. Because symptoms had been present for more than 2 days, the patient was judged to have chronic hyponatremia, and serum sodium was not corrected aggressively. Anecdotal evidence supports this approach, because both primary adrenal insufficiency and malnutrition can be risk factors for osmotic demyelination [2].

Table 1

Laboratory results

	Parameter	Patient	Reference
Serum	Sodium, mmol/L	101	135–145
	Potassium, mmol/L	4.0	3.5–5.0
	Osmolality, mOsm/kg	209	280–300
	Glucose, mmol/L ^a	3.5	4.0–7.6
	Calcium, mmol/L	2.19	2.20–2.65
	Creatinine, μ mol/L	69	75–110
	Urea, mmol/L	2.9	2.5–6.4
	Uric acid, mmol/L	0.19	0.20–0.42
	Hemoglobin, mmol/L	8.8	7.5–9.5
Urine	Albumin, g/L	42	35–50
	Sodium, mmol/L	95	— ^b
	Osmolality, mOsm/kg	812	50–1200

^a To convert nanomoles per liter of glucose to milligrams per deciliter, multiply by 18.

^b There are no reference interval values for urine sodium, because measured values depend on the diet and the clinical circumstances. During hyponatremia, high or low urine sodium concentrations (typically with 20 mmol/L as cutoff) can be used for differential diagnosis.

After the acuity of hyponatremia has been assessed, the next questions should be whether vasopressin (antidiuretic hormone) is acting, and if so, what is the reason for its release [1]. Vasopressin is not measured routinely clinically, although the recent introduction of its stable precursor copeptin may change this protocol [3]. Urine osmolality is a good surrogate marker for the renal actions of vasopressin, and a urine osmolality exceeding serum osmolality nearly always indicates high circulating vasopressin. If the renin-

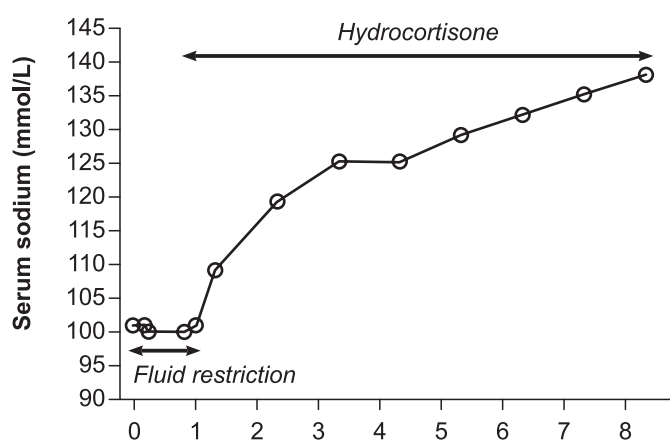


Fig. 1. Serum sodium concentrations on admission, following subsequent treatment with fluid restriction, and hydrocortisone

angiotensin system is also activated, the urine sodium concentration will be low, because aldosterone stimulates sodium reabsorption in the distal nephron. High urine osmolality with low urine sodium occurs with nonrenal sodium loss (as occurs with hypovolemia, diarrhea, and burns), heart failure, and liver cirrhosis. The differential diagnosis of hyponatremia with a high urine sodium and osmolality (as determined in this case) consists of diuretic use, primary or secondary adrenal insufficiency, cerebral salt wasting, salt-wasting nephropathy, and SIADH [1]. Many physicians tend to diagnose SIADH before excluding the other causes. However, according to the criteria, SIADH is a diagnosis of exclusion [1].

Some diagnostic tests are better than others to assist in the differential diagnosis. For example, the clinical assessment of the extracellular fluid volume in patients with hyponatremia has a low diagnostic sensitivity and specificity [1]. Instead, uric acid appears to be a more valuable index to assess the extracellular fluid volume during hyponatremia. During extracellular fluid volume expansion (SIADH, hypocortisolism), uric acid reabsorption in the renal proximal tubule is inhibited, producing a low serum concentration and a high fractional excretion. The opposite is usually true for a contracted extracellular fluid volume (such as occurs with diuretics, primary adrenal insufficiency, and salt-wasting nephropathy), although a caveat is that cerebral and some forms of renal salt wasting can also cause renal uric acid loss. In these instances, it may be useful to also analyze urea (serum concentration close to the upper limit of the reference interval, low fractional excretion) as a measure of extracellular fluid volume contraction. A tendency toward metabolic alkalosis suggests SIADH or diuretic use, whereas metabolic acidosis suggests primary adrenal insufficiency [4]. Hypokalemia may accompany hyponatremia in diuretic use, whereas hyperkalemia is more typical for primary adrenal insufficiency. In this patient, urea was at the low end of the reference interval, whereas creatinine and

uric acid were below the lower limit of the reference interval, supporting the presence of volume expansion and a diagnosis of either SIADH or hypocortisolism. Another test to differentiate dilutional from depletional hyponatremia assessment of the response to isotonic saline.

Although SIADH is more common than adrenal insufficiency, the consequences can be grave when adrenal insufficiency is missed [5, 6]. Random cortisol can be used to diagnose adrenal insufficiency, but concentrations between 100 and 700 nmol/L still do not exclude it [5]. The better test is therefore an ACTH stimulation test. We have not performed the high-dose ACTH stimulation test (250 µg of synthetic ACTH 1–24 per 1.73 m²). Also important, however, is the low-dose ACTH stimulation test (1 µg synthetic ACTH 1–24 per 1.73 m²). The low-dose test may be a more sensitive index of adrenocortical responsiveness, and it was recently validated for primary adrenal insufficiency [7]. In both tests, the administration of synthetic ACTH should lead to cortisol concentrations of 500 nmol/L or higher with normally functioning adrenal glands [7].

Regarding therapeutic administration of hydrocortisone, it is important to emphasize that hyponatremia may correct quickly once hydrocortisone is instituted. To avoid osmotic demyelination, the correction of hyponatremia should be limited to 8 mmol/L per day [1]. If the increase in serum sodium exceeds this limit, the administration of hypotonic fluids and/or exogenous vasopressin should be considered [1, 2].

ATYPICAL PRESENTATION OF PRIMARY ADRENAL INSUFFICIENCY

Soule previously demonstrated that hyponatremia, hyperkalemia, hypercalcemia, hypoglycemia, and eosinophilia were present in only 78%, 52%, 21%, 18%, and 23% of 50 patients with primary adrenal insufficiency [6]. He described primary adrenal insufficiency as another “great mimicker in medicine” [6].

We suggest 2 possible explanations why the patient we describe presented without hypotension and hyperkalemia.

The first is that the patient had isolated hypocortisolism with sufficient aldosterone remaining to prevent renal sodium loss and allow potassium secretion. The second is that there was aldosterone deficiency, but defense mechanisms prevented hypotension and hyperkalemia.

If isolated hypocortisolism were present, the next question would be why the secretion of cortisol but not aldosterone was affected. One possible explanation is that angiotensin II is a more potent or longer-lasting secretagogue for aldosterone than ACTH is for cortisol. Another possibility is that the cortisol-producing zona fasciculata was selectively perturbed. For example, one could hypothesize that autoantibodies somehow have a higher affinity for the zona fasciculata than for the zona glomerulosa. Pathophysiologically, cortisol deficiency causes hyponatremia through a different mechanism than aldosterone deficiency. When cortisol concentrations are low, its feedback to the hypothalamus is lost. As a consequence, corticotrophin-releasing hormone (CRH) is no longer inhibited. High CRH concentrations stimulate the secretion of vasopressin. CRH and to a lesser extent vasopressin are ACTH secretagogues, which may explain the high ACTH concentrations. The fact that serum uric acid was low and urea was close to the lower limit of the reference interval may also favor the possibility of isolated hypocortisolism (Table 1, see also above). The second possibility is that there was a deficiency of aldosterone, but that hypotension and hyperkalemia were prevented by other mechanisms. Cherney et al. postulated 3 reasons why a large sodium deficit does not necessarily result in hemodynamic instability [8]. First, hyponatremia will cause red blood cell swelling, which will increase plasma volume and thus the effective circulating volume. Second, imminent hypovolemia will induce a high adrenergic state, which will cause venous vasoconstriction, diminishing the size of the vascular compartment and allowing better filling pressures. Third, hyponatremia implies cell swelling, which will increase interstitial pressure and may shift volume from the interstitial space to the intravascular space.

► POINTS TO REMEMBER

1. Primary adrenal insufficiency can present without pigmentation, orthostatic hypotension, hyperkalemia, hypoglycaemia, and hypercalcemia.
2. The syndrome of inappropriate antidiuresis is a diagnosis of exclusion that can be established only if diuretic use and adrenal, thyroid, and pituitary insufficiency are excluded.
3. Primary adrenal insufficiency can be confirmed by low random cortisol concentrations, but normal concentrations still require an ACTH stimulation test for exclusion.
4. The presentation of adrenal insufficiency without orthostatic hypotension and hyperkalemia may be due to isolated hypocortisolism or the prevention of these symptoms by defense mechanisms.
5. Cortisol deficiency causes hyponatremia because it increases CRH, which stimulates vasopressin release, whereas aldosterone deficiency causes hyponatremia because of renal sodium loss, hypovolemia, and baroreceptor-mediated vasopressin release.

In addition to hypotension, hyperkalemia is estimated to be absent in approximately 30% to 50% of patients with primary adrenal insufficiency [6, 9]. Possible confounding factors are a low dietary intake of potassium (loss of appetite is common in adrenal insufficiency) and loss of potassium through vomiting. Another interesting possibility is the presence of circulating cationic proteins in the context of autoimmunity or cancer [9]. These proteins can activate the calcium-sensing receptor in the thick ascending limb [9, 10]. This receptor activation can inhibit the sodium-potassium chloride cotransporter and produce a loop-diuretic effect with natriuresis and kaliuresis.

For this patient isolated severe hyponatremia was the only characteristic feature of primary adrenalin sufficiency. Adrenal insufficiency should always be excluded in individuals with unexplained hyponatremia who have high urine sodium and osmolality.

Author Contributions: *All authors confirmed they have contributed to the intellectual content of this paper and have met the following 3 requirements: (a) significant contributions to the conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; (b) drafting or revising the article for intellectual content; and (c) final approval of the published article.*

Authors' Disclosures of Potential Conflicts of Interest: *No authors declared any potential conflicts of interest.*

Role of Sponsor: *The funding organizations played no role in the design of study, choice of enrolled patients, review and interpretation of data, or preparation or approval of manuscript.*

References

1. Hoorn E.J., Zietse R. Hyponatremia revisited: translating physiology to practice // *Nephron. Physiol.*, 2008; 108: 46–59.
2. Lin S.H., Hsu Y.J., Chiu J.S., Chu S.J., Davids M.R., Halperin M.L. Osmotic demyelination syndrome: a potentially avoidable disaster // *QJM*, 2003; 96: 935–947.
3. Fenske W., Stork S., Blechschmidt A., Maier S.G., Morgenthaler N.G., Allolio B. Copeptin in the differential diagnosis of hyponatremia // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2009; 94: 123–129.
4. Decaux G., Musch W. Clinical laboratory evaluation of the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008; 3: 1175–1184.
5. Smith J.C., Siddique H., Corral R.J. Misinterpretation of serum cortisol in a patient with hyponatraemia // *BMJ*, 2004; 328: 215–216.
6. Soule S. Addison's disease in Africa: a teaching hospital experience // *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 1999; 50: 115–120.
7. Pura M., Kreze Jr. A., Kentos P., Varnuga P. The low-dose (1 mug) cosyntropin test (LDT) for primary adrenocortical insufficiency: defining the normal cortisol response and report on first patients with Addison disease confirmed with LDT // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. [Epub ahead of print 2009 Apr 8].
8. Cherney D.Z., Davids M.R., Halperin M.L. Acute hyponatraemia and "ecstasy": insights from a quantitative and integrative analysis // *QJM*, 2002; 95: 475–483.
9. Gagnon R.F., Halperin M.L. Possible mechanisms to explain the absence of hyperkalaemia in Addison's disease // *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2001; 16: 1280–1284.
10. Quinn S.J., Kifor O., Trivedi S., Diaz R., Vassilev P., Brown E. Sodium and ionic strength sensing by the calcium receptor // *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 19579–19586.

Commentary

GLEN L. HORTIN*, NEIL S. HARRIS, WILLIAM E. WINTER

Department of Pathology, Immunology, and Laboratory Medicine, University of Florida, Gainesville

*** Address correspondence to this author at: Department of Pathology, Immunology, and Laboratory Medicine, University of Florida, Gainesville, FL 32610. E-mail: ghortin@pathology.ufl.edu**

This case illustrates that initial laboratory results suggestive of SIADH do not rule out other potential causes of hyponatremia, such as hypothyroidism and hypocortisolism. To date, SIADH has been a diagnosis of exclusion, but advances in mass spectrometry offer prospects for accurately measuring ADH in the future.

When analyzers yield low sodium values, an initial priority is to exclude factitious hyponatremia. When sodium is measured by indirect methods, pseudohyponatremia due to a high serum protein or lipid content does not usually lower the sodium concentration to the degree observed in this case; however, the multiple potential sources of large errors in sodium measurements should be considered (e.g.,

sample dilution by intravenous fluids, storage of blood samples at reduced temperature, instrument failure, plugging of sample probes with clots, separator gel or cryoglobulins, sampling errors from inadequate samples or from bubbles in samples, or interfering substances) [1–3]. Electrode methods can be affected by surfactants such as alcohols or other compounds used as skin disinfectants or by surfactants from other sources, such as catheter surfaces [3]. Fortunately, well-trained laboratory staff can detect many of these errors before the reporting of results by repeating the analyses, by comparing the present value with previous results, and by evaluating other test results for the same sample. Sample recollection maybe required. In this case, the very low

osmolality independently supports a severe electrolyte deficiency. The albumin and hemoglobin values suggest that no substantial sample dilution occurred. Fig. 1 indicates the analysis of additional samples that further rules out factitious hyponatremia.

Affecting women more often than men, autoimmune polyglandular syndrome type 2 is a polygenic disorder with onset in childhood or early adulthood; it is characterized by primary adrenal insufficiency or adrenal autoantibodies plus either autoimmune thyroid disease or type 1 diabetes [4]. Because primary adrenal insufficiency typically involves destruction of the adrenocortical glomerulosa and fasciculata, measurement of renin and aldosterone would have been of interest in this case.

Author Contributions: *All authors confirmed they have contributed to the intellectual content of this paper and have met the following 3 requirements: (a) significant contributions to the conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; (b) drafting or revising the article*

for intellectual content; and (c) final approval of the published article.

Authors' Disclosures of Potential Conflicts of Interest: *No authors declared any potential conflicts of interest.*

Role of Sponsor: *The funding organizations played no role in the design of study, choice of enrolled patients, review and interpretation of data, or preparation or approval of manuscript.*

References

1. Zweig M.H., Glickman J., Csako G. Analytical interference caused by incompletely clotted specimens // Clin. Chem., 1994; 40: 2325–2326.
2. Narayanan S., Guder W.G. Preanalytical variables and their influence on the quality of laboratory results // J IFCC, 2001; 13: 1–4.
3. Koch T.R., Cook J.D. Benzalkonium interference with test methods for potassium and sodium // Clin. Chem., 1990; 36: 807–808.
4. Eisenbarth G.S., Gottlieb P.A. Autoimmune polyendocrine syndromes // N. Engl. J. Med., 2004; 13: 350: 2068–2079.

Commentary

ROBERT RICHARDSON*

Toronto General Hospital, Toronto, ON, Canada

* Address correspondence to the author at: Toronto General Hospital, 200 Elizabeth St., Toronto, ON, Canada. Fax 416-340-4999; e-mail robert.richardson@uhn.on.ca

Patients with chronic hyponatremia have vasopressin acting on the kidney, causing water retention and dilution of the sodium in the extracellular fluid. In surveys of hospitalized patients with hyponatremia, the stimulus for vasopressin secretion is low effective circulating volume via the baroreceptor in about two-thirds of patients. The remaining one-third have a variety of stimuli for vasopressin secretion, including surgery, nausea, hypothyroidism, adrenal insufficiency, and SIADH. Although physical examination is often extremely helpful in detecting signs of altered effective circulating volume (such as edema, ascites, hypotension, and abnormal jugular venous pressure), physical exam is unreliable in a significant proportion of patients.

The urine sodium concentration is a critical diagnostic aid in differential diagnosis. It should be low (<30 mmol/L) with reduced effective circulating volume, because sodium-retaining factors, including angiotensin II, catecholamines, the sympathetic nervous system, and aldosterone, are activated and stimulate renal tubular sodium reabsorption. When the urine sodium concentration is high, as in this case, SIADH should be strongly considered. This rule has 2 important exceptions, however. The first is diuretic use, which

can cause baroreceptor-mediated vasopressin release through reduced effective circulating volume with a high urine sodium concentration. The second is adrenal insufficiency, in which cortisol or aldosterone deficiency can lead to vasopressin secretion. Urine sodium is high because of aldosterone deficiency. Adrenal insufficiency must always be ruled out in cases of severe hyponatremia, because the classic clinical and biochemical features may not be present.

Author Contributions: *All authors confirmed they have contributed to the intellectual content of this paper and have met the following 3 requirements: (a) significant contributions to the conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; (b) drafting or revising the article for intellectual content; and (c) final approval of the published article.*

Authors' Disclosures of Potential Conflicts of Interest: *No authors declared any potential conflicts of interest.*

Role of Sponsor: *The funding organizations played no role in the design of study, choice of enrolled patients, review and interpretation of data, or preparation or approval of manuscript.*

УДК 577.175.6:616-056.7

НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА ПРИ СИНДРОМЕ МИКРОДЕЛЕЦИЙ

Н.В. САВИНА¹, М.П. СМАЛЬ¹, Т.Д. КУЖИР¹, О.М. ХУРС², Т.М. ЕГОРОВА²,
А.Д. ПОЛИТЫКО², Р.И. ГОНЧАРОВА¹

¹ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

² Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Республика Беларусь

Резюме: Исследовано состояние генома у 9 пациентов с синдромом Вильямса методами цитогенетического анализа, FISH и гель-электрофореза одиночных клеток (метод ДНК-комет). Частота и спектр aberrаций хромосом находились в пределах вариабельности значений, типичных для белорусской популяции. У всех пациентов идентифицирована микроделеция 7q11.23. С помощью метода ДНК-комет выявлены признаки дестабилизации генома, обусловленные, по-видимому, понижением эффективности репарации ДНК на начальных этапах.

Ключевые слова: синдром Вильямса (СВ), aberrации хромосом, микроделеция, повреждения ДНК, репарация ДНК, лимфоциты.

GENOMIC INSTABILITY IN THE MICRODELETION SYNDROME

N.V. SAVINA¹, M.P. SMAL¹, T.D. KOUHZIR¹, O.M. HURS², T.M. EGOROVA²,
A.D. POLYTYKO², R.I. GONCHAROVA¹

¹ Institute of Genetics and Cytology, Belorussian National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

² Republican Research and Practical Center "Mother and Child", Minsk, Republic of Belarus

Summary. Genomic integrity in nine patients with Williams syndrome (WS) was studied using cytogenetic analysis, FISH and single cell gel electrophoresis (the comet assay). The frequencies and spectrum of chromosome aberrations were in the range of variability of values typical of the Belarusian population. The microdeletion 7q11.23 was identified in all patients. Using the comet assay, some features of genome destabilization were revealed in association with decreased DNA repair efficiency at the initial stages.

Key words: Williams syndrome (WS), chromosome aberrations, microdeletion, DNA damage, DNA repair, lymphocytes.

Введение

К мультисистемным генетическим заболеваниям относится группа хромосомных болезней, включающая синдромы микроделений. Причиной возникновения данных заболеваний являются локус-специфические делеции генома размером от 1 до 5 Mb [21], которые приводят к утрате группы генов в пределах одного сегмента хромосомы. Размеры таких перестроек не позволяют обнаружить их при стандартном цитогенетическом анализе с использованием дифференциальной GTG-окраски хромосом. Выявление микроделений осуществляется с помощью молекулярно-цитогенетических методов, в том числе флуоресцентной in situ гибридизации (FISH) и ряда новейших технологий с использованием микрочипов [17, 20]. Характерно, что делетируемая область содержит сопредельные, но функционально не связанные гены, что и обуславливает широкий спектр фенотипических признаков при этих синдромах.

Одним из наиболее частых синдромов микроделений является синдром Вильямса (СВ), впервые описанный независимо друг от друга кардиологами J.S. Williams и

A.J. Beuren в 1961–1962 гг. Заболевание характеризуется комплексом пороков развития, включая специфические черепно-лицевые дизморфии («лицо эльфа»), врожденный порок сердца, неонатальную гиперкальциемию, задержку физического, моторного и психоречевого развития, поведенческие особенности. Оно возникает в результате *de novo* микроделеции 7q11.23 размером 1,5–1,8 Mb и встречается с частотой 1 на 7500–20 000 новорожденных [10, 15, 18]. Следует отметить, что указанная критическая для СВ область 7-й хромосомы содержит около 30 генов, однако наиболее характерные фенотипические признаки ассоциированы с утратой гена *ELN*, кодирующего белок тропоэластин [11].

Исследования, проведенные на базе Республиканского научно-практического центра «Мать и дитя» на выборке из 24 пациентов с установленным диагнозом СВ, показали вариабельность фенотипических признаков СВ [4]. Выявлена более тяжелая степень пороков сердечно-сосудистой системы у пациентов мужского пола. Идентифицированная микроделеция у всех пациентов имела размер порядка 1,55Mb, что соответствовало европейским

данным, включала ген *ELN* и как минимум участок критической области между генами *FZD9* и *CYLN2*.

Целью данной работы была оценка состояния генома у пациентов с СВ с помощью цитогенетических методов, FISH и разрабатываемой нами технологии с привлечением метода ДНК-комет.

Материалы и методы

Исследуемая группа сформирована из числа пациентов ГУ РНПЦ «Мать и дитя» с клинически предполагаемым диагнозом СВ. Возраст пациентов от 1 года 4 месяцев до 23 лет; соотношение полов мужской/женский — 6/3. В качестве контроля исследована группа здоровых доноров-волонтеров. Обследование проводилось в соответствии с международными требованиями о добровольном согласии и соблюдении конфиденциальности личной информации.

Объект исследования — лимфоциты периферической венозной крови.

Цитогенетическая диагностика включала стандартное кариотипирование с помощью GTG-метода дифференциального окрашивания метафазных хромосом. Кроме того, проводился анализ частоты и спектра аберраций хромосом, которые регистрировались в соответствии с принципами Международной системы номенклатуры хромосом человека [16]. Для выявления типичного генетического дефекта — микроделеции в критической области длинного плеча хромосомы 7 — выполнялась *FISH-диагностика* на препаратах метафазных хромосом по стандартному протоколу [14] с использованием коммерческих локус-специфических ДНК-проб: LSI Williams-Beuren Region Probe (FZD9, WBSCR10,

TBL2; LIMK1, WBSCR2, D7S613, WBSCR1, RFC2; CYLN2 Direct Red/7q22 LSI control Green) (Q-biogene), а также Williams Region Probe (LSI ELN, LIMK1, D7S613 Spectrum Orange/7q31 LSI D7S486, D7S522 Spectrum Green) (Vysis).

Метод ДНК-комет (*щелочной гель-электрофорез единичных клеток*) применяли для анализа частоты эндогенных и экзогенных повреждений ДНК, а также кинетики репарации ДНК после окислительного стресса в соответствии с известными рекомендациями [7, 19]. Для этого использованы лимфоциты сразу после их выделения из периферической венозной крови центрифугированием в градиенте Histopaque-1077 (ICN). Клеточную суспензию обрабатывали пероксидом водорода (H_2O_2 , 100 мкМ) при 4°С в течение 1 минуты, после чего клетки отмывали от мутагена охлажденным буферным раствором и затем инкубировали при 37°С в течение 3 часов. Для оценки кинетики элиминации повреждений ДНК и эффективности репарации ДНК образцы отбирали на 0, 15, 30, 60, 120 и 180-й минуте после обработки лимфоцитов H_2O_2 . Повреждения ДНК определяли визуально по длине «хвоста кометы» при флуоресцентном микрокопировании препаратов, а уровень поврежденности ДНК рассчитывали по известной формуле и выражали в условных единицах (arbitrary units, а.у.) [5, 8]. Эффективность репарации ДНК (процент элиминированных повреждений ДНК) вычисляли по разности между показателями уровня повреждений ДНК (а.у.) на 0-й минуте и в последующих точках анализа относительно 0-й точки.

Статистический анализ и графическое представление результатов выполнены с помощью программного

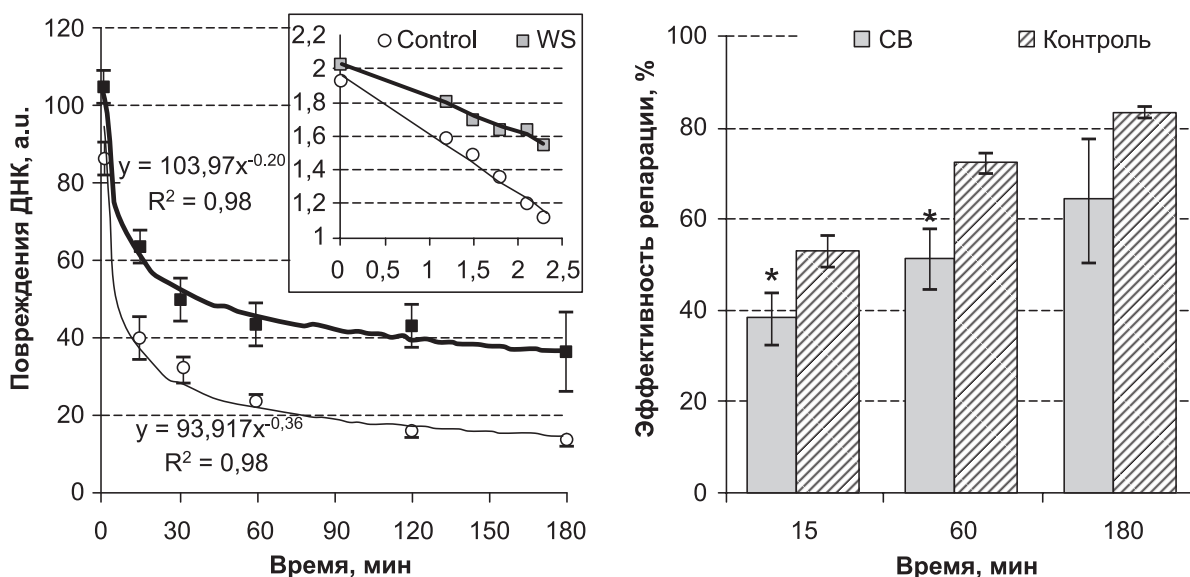


Рисунок 1. Кинетика (а) и эффективность (б) репарации ДНК у пациентов с СВ (WS) по сравнению с контролем (control).

а) Достоверные различия между точками при $P = 0,004$, $P = 0,004$, $P = 0,029$, $P = 0,003$ и $P = 0,006$ соответственно 0, 15, 30, 60, и 120 мин наблюдений; б) достоверные различия при $P < 0,05$ отмечены звездочкой

обеспечения Microsoft Office (Excel-2000). При сравнении частотных показателей по точному критерию Фишера и проведении регрессионного анализа использовали пакет прикладных программ для статистической обработки данных AB-STAT, разработанных в.н.с. Института генетики и цитологии Б.Ю. Анощенко; показатели, полученные с помощью метода ДНК-комет, сравнивали по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

У всех пациентов выявлен нормальный кариотип. Данные цитогенетического обследования пациентов с клинически предполагаемым диагнозом СВ сравнивали с результатами аналогичного исследования в контрольной группе здоровых доноров-волонтеров (табл. 1).

В группе пациентов средняя частота aberrаций хромосом незначительно превышала этот показатель в контрольной группе, но индивидуальные частоты находились в пределах вариабельности, характерной для здоровых представителей белорусской популяции [1, 3].

Соотношение aberrаций хромосом в группе больных детей не отличалось от обычного (сдвиг в пользу aberrаций хроматидного типа). Молекулярно-цитогенетическая диагностика методом FISH выявила микроделецию 7q11.23 у всех 9 пациентов, что позволило подтвердить клинический диагноз.

Параллельно на тех же образцах крови проводился анализ состояния генома с помощью метода ДНК-комет. При этом использован оригинальный экспериментальный дизайн, позволяющий выявлять определенные признаки дестабилизации генома [2]. Уровень эндогенных повреждений ДНК оценивали на 180-й мин инкубации интактных клеток; уровень H₂O₂-индуцированных повреждений ДНК определяли на 0-й мин после обработки клеточной суспензии мутагеном. Кинетику элиминации индуцированных повреждений ДНК и эффективность репарации ДНК анализировали при отборе проб сразу и через 15, 30, 60, 120 и 180 мин после окислительного стресса. Данные этого анализа представлены в таблице 2 и на рисунке 1 (а, б).

Таблица 1. Частота и спектр спонтанных aberrаций хромосом у пациентов с СВ

Номер / код	Количество метафаз	Частота, %		Типы aberrаций, %	
		аберрантных клеток	абerrаций хромосом	хромосомный	хроматидный
Контроль	2000	2,50±0,35	2,50±0,35	0,75±0,19	1,75±0,29
1/495	200	3	3	0,5	2,5
2/564	100	2	2	0	2
3/565	100	3	3	0	3
4/592	100	3	3	1	2
5/601	100	6*	6*	2	4
6/611	100	5	5	0	5
7/644	100	4	4	1	3
8/673	100	4	4	1	3
9/677	100	5	5	2	3
Total	1000	3,50±0,58*	3,50±0,58*	0,80±0,28	3,0±0,54

* Показатели статистически отличаются от контроля при $P < 0,05$ по точному критерию Фишера.

Таблица 2. Уровни эндогенных и экзогенных повреждений ДНК в лимфоцитах пациентов с СВ по сравнению с данными, полученными в контрольной группе здоровых доноров

Группы	Количество обследованных	Эндогенные повреждения ДНК, а.у.	Повреждения ДНК, индуцированные H ₂ O ₂ , а.у.	
		180 мин	0 мин	180 мин
Контроль	37	9,13±0,79	85,63±4,38	13,32±1,07
СВ	9	22,86±5,28*	103,83±4,12*	35,75±10,96

* Существенные различия между группой СВ и контролем при $P < 0,05$ по *t*-критерию Стьюдента.

Видно, что частота эндогенных и экзогенных повреждений ДНК у пациентов с СВ существенно превышает контрольные значения (табл. 2). Кинетика (рис. 1а) и эффективность репарации ДНК (рис. 1б) у пациентов, за исключением конечной точки наблюдений, также достоверно отличается от контроля. Следует отметить, что кинетика элиминации индуцированных повреждений ДНК в течение 3-часовой инкубации клеток после окислительного стресса с высокой точностью описывается уравнением степенной зависимости ($R=0,98$ в обоих случаях). В логарифмических координатах (см. вставку на рис. 1а) соответствующие прямые имеют разные углы наклона, о чем свидетельствует также сравнение коэффициентов линейной регрессии ($-0,204$ для группы пациентов с СВ и $-0,356$ для контрольной группы). Статистически подтвержденные различия (при $P<0,05$) указывают на существенное замедление скорости репарации ДНК при СВ по сравнению с этим процессом в лимфоцитах здоровых доноров.

Результаты, полученные с помощью метода ДНК-комет, выявляют нестабильность генома на уровне ДНК, то есть в какой-то мере противоречат данным анализа частоты aberrаций хромосом и общепринятому мнению, что хромосомная нестабильность не характерна для этого синдрома. Тем не менее, эти результаты находят адекватное объяснение в свете последних данных литературы. Синдром Вильямса развивается на фоне локальной геномной нестабильности, затрагивающей определенный район 7-й хромосомы, которая (благодаря мутационному механизму или неравному кроссинговеру и внутривитомной рекомбинации в процессе мейоза) проявляется в утрате хромосомного материала, содержащего ряд сцепленных генов [6, 18]. Еще в 1998 г. было показано, что в этой области локализован ген *WBSR9* [9, 13], ответственный за специфический транскрипционный фактор, названный Williams syndrome transcription factor (WSTF). Но только недавно обнаружено, что WSTF является ключевым элементом двух независимых ремоделирующих хроматин комплексов (WINAC и WICH), поддерживающих архитектуру нуклеосом в процессе транскрипции, репликации и репарации ДНК. Оказалось, что комплекс WINAC осуществляет транскрипционную регуляцию развития тканей сердечно-сосудистой системы, тогда как WICH преимущественно задействован в репарации ДНК [12, 22]. Участие WSTF через WICH в репарации ДНК доказано экспериментально на эмбриональных фибробластах мышей, дефектных по этому фактору [22]. Таким образом, повышенная чувствительность ДНК к повреждающим факторам эндогенного и экзогенного происхождения в лимфоцитах пациентов с СВ, по-видимому, вызвана замедлением и понижением эффективности репарации ДНК на начальных ее этапах, а компенсация репарационного процесса за счет подключения и активизации других сигнальных путей может в конечном

итоге свести формирование aberrаций хромосом до «нормального» уровня.

Заключение

В рамках данного исследования с помощью нового подхода, основанного на применении метода ДНК-комет, удалось выявить признаки дестабилизации генома у 9 пациентов с подтвержденным диагнозом синдрома Вильямса. Установлены повышенный по сравнению с контролем уровень эндогенных повреждений ДНК и увеличенная чувствительность ДНК к окислительному стрессу, которые, вероятно, вызваны некоторым замедлением и снижением эффективности репарации ДНК на ее начальных этапах. Эти данные, с одной стороны, проливают свет на новые механизмы, вовлеченные в патогенез синдрома Вильямса, а с другой, показывают перспективность описанной технологии для выявления нестабильности генома при этом заболевании.

Литература

1. Гончарова Р.И., Савина Н.В., Смаль М.П., Кузир Т.Д., Политыко А.Д., Егорова Т.М., Хурс О.М. Анализ уровня aberrаций хромосом, эндогенных повреждений ДНК и чувствительности генома к окислительному стрессу в лимфоцитах человека // Вести НАН Беларуси, сер. мед. наук. — 2008а. — № 3. — С. 77–85.
2. Гончарова Р.И., Кузир Т.Д., Савина Н.В., Смаль М.П. Индуцированная геномная нестабильность как фактор заболеваемости. Оценка целостности генома человека методом ДНК-комет // Сборник научных трудов «Молекулярная и прикладная генетика». — 2008б. — Т. 7. — С. 86–93.
3. Егорова Т.М., Политыко А.Д. Динамика частоты aberrаций хромосом у жителей г. Минска // Генетика и селекция на рубеже XXI века: Материалы конференции. — Минск, 1999. — С. 193–195.
4. Хурс О.М., Политыко А.Д., Румянцев Н.В., Исакович Л.В., Кулак В.Д., Егорова Т.М., Наумчик И.В. Синдром Вильямса в Беларуси: молекулярно-цитогенетическое исследование и характеристика вариабельности фенотипических признаков // Сб. науч. трудов: Молекулярная и прикладная генетика. — 2009. — Т. 10. — С. 170–176.
5. Anderson D., Yu T.W., Phillips B.J., Schmeizer P. The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the COMET assay // Mutat. Res. — 1994. — Vol. 307 (1). — P. 261–271.
6. Bayés M., Magano L.F., Rivera N., Flores R., Pérez Jurado L.A. Mutational mechanisms of Williams-Beuren syndrome deletions // Am. J. Hum. Genet. — 2003. — Vol. 73, N 1. — P. 131–151.
7. Collins A.R. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations // Mol. Biotechnol. — 2004. — Vol. 26 (3). — P. 249–261.
8. Collins A.R., Fleming I.M., Gedik C.M. In vitro repair of oxidative and ultraviolet-induced DNA damage in supercoiled nucleoid DNA by human cell extract // Biochim. Biophys. Acta. — 1994. — Vol. 1219 (3). — P. 724–727.
9. Lu X., Meng X., Morris C.A., Keating M.T. A novel human gene, WSTF, is deleted in Williams syndrome // Genomics. — 1998. — Vol. 54 (2). — P. 241–249.
10. Martens M.A., Wilson S.J., Reutens D.C. Williams syndrome: a critical review of the cognitive, behavioral, and neuroanatomical phenotype // J. Child Psychol. Psychiatry. — 2008. — Vol. 49, N 6. — P. 576–608.

11. Nickerson E., Greenberg F., Keating M.T., McCaskill C., Shaffer L. G. Deletions of the elastin gene at 7q11.23 occur in approximately 90% of patients with Williams syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* — 1995. — Vol. 56, N5. — P. 1156–1161.
12. Oya H., Yokoyama A., Yamaoka I., Fujiki R., Yonezawa M., Youn M.Y., Takada I., Kato S., Kitagawa H. Phosphorylation of WSTF by MAPK induces a switching between two distinct chromatin remodeling complexes // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284 (47). — P. 32472–32482.
13. Peoples R.J., Cisco M.J., Kaplan P., Francke U. Identification of the WBSCR9 gene, encoding a novel transcriptional regulator, in the Williams-Beuren syndrome deletion at 7q11.23 // *Cytogenet. Cell Genet.* — 1998. — Vol. 82 (3–4). — P. 238–246.
14. Rautenstrauss B., Liehr T. FISH Technology // *Springer Lab. Manual.* — 2001. — 494 p.
15. Schubert C. The genomic basis of the Williams-Beuren syndrome // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2009 — Vol. 66(7). — P. 1178–1197.
16. Shaffer L.G., Tommerup N. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2005): Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. — Basel, Switzerland: S. Karger, 2005. — 132 p.
17. Stankiewicz P., Lupski J.R. Structural variation in the human genome and its role in disease // *Annu. Rev. Med.* — 2010. — Vol. 61. — P. 437–455.
18. Tassabehji M. Williams-Beuren syndrome: a challenge for genotype-phenotype correlations // *Hum. Mol. Genet.* — 2003. — Vol. 12. — P. 229–237.
19. Tice R.R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartmann A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J.C., Sasaki Y.F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing // *Environ. Mol. Mutagen.* — 2000. — Vol. 35 (3). — P. 206–221.
20. Wilson R.D., Blight C., Langlois S. Diagnosing chromosomal abnormalities from “big” to “small” with molecular cytogenetic technology // *J. Obstet. Gynaecol. Can.* — 2009. — Vol. 31(5). — P. 414–421.
21. Yeshaya J., Amir I., Rimon A., Freedman J., Shohat M., Avivi L. Microdeletion syndromes disclose replication timing alterations of genes unrelated to the missing DNA // *Mol. Cytogenet.* — 2009. — Vol. 2. — P. 11 (<http://www.molecularcytogenetics.org/content/2/1/11>).
22. Yoshimura K., Kitagawa H., Fujiki R., Tanabe M., Takezawa S., Takada I., Yamaoka I., Yonezawa M., Kondo T., Furutani Y., Yagi H., Yoshinaga S., Masuda T., Fukuda T., Yamamoto Y., Ebihara K., Li D.Y., Matsuoka R., Takeuchi J.K., Matsumoto T., Kato S. Distinct function of 2 chromatin remodeling complexes that share a common subunit, Williams syndrome transcription factor (WSTF) // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2009. — Vol. 106 (23). — P. 9280–9285.

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ
КОНСИЛИУМ**

ПО ВОПРОСАМ СОТРУДНИЧЕСТВА И РАЗМЕЩЕНИЯ РЕКЛАМЫ

в научно-практическом журнале
«Клинико-лабораторный консилиум»
просим обращаться в редакцию:

Эмануэль Владимир Леонидович
e-mail: vladimirem1@gmail.com

моб. тел. **8-905-229-60-22**

Чередниченко Денис Владимирович
e-mail: cheredni1@gmail.com

тел./факс **(812) 233-97-26**

УДК 576.312.35/381:616-056.7(477)

СИНДРОМ НИЙМЕГЕН В УКРАИНЕ

Г.Р. АКОПЯН, Г.В. МАКУХ, А.В. КОСТЮЧЕНКО, Н.В. МАРКЕВИЧ

ГУ «Институт наследственной патологии АМН Украины», г. Львов, Украина

Резюме. Исследованы клинико-генетические особенности синдрома Ниймеген (NBS) у украинских пациентов. Разработаны диагностика и врачебная тактика. Определена частота мутации 657del5 гена NBN в популяции Львовской области Украины.

Ключевые слова: синдром Ниймеген, NBS, мутация 657del5 гена NBN.

NIJMEGEN BREAKAGE SYNDROME IN UKRAINE

H.R. AKOPYAN, G.V. MAKUKH, L.V. KOSTYUCHENKO, N.V. MARKEYYCH

Institute of Hereditary Pathology of Academy of Medical Science of Ukraine, Lviv, Ukraine

Summary. Clinical-genetic peculiarities of Ukrainian patients with Nijmegen Breakage Syndrome (NBS) were determined. The diagnostics and medical care were worked up. The frequency of 657del5 NBN gene mutation was estimated in Lvivska region of Ukraine.

Key words: Nijmegen Breakage Syndrome, NBS, NBN gene, 657del5.

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 [8, 16, 17].

Для NBS свойственны врожденная прогрессирующая микроцефалия, умеренный дисморфизм лица, задержка роста и физического развития, хромосомная нестабильность, высокая чувствительность к ионизирующей радиации, комбинированный Т/В иммунодефицит, повышенная склонность к рецидивирующим воспалительным процессам и развитию В-клеточных неходжкинских злокачественных лимфом [4–8, 13, 16]. Прогноз неблагоприятный: большинство пациентов погибают до пубертатного периода от опухолевых или инфекционных осложнений врожденного иммунодефицита. Гетерозиготные носители мутации отличаются повышенной чувствительностью к ионизирующей радиации и склонностью к развитию солидных злокачественных новообразований [2, 14, 15].

NBS наиболее распространен в чешской и польской популяциях и практически не встречается среди представителей «неславянских» народов (в Германии — 1 на 3 млн [3]). В Российской Федерации его исследования связаны с именем профессора И.Б. Резника [10, 11] и резюмированы в работе [7]. Целью нашей работы было охарактеризовать типичные клинико-генетические особенности NBS у украинских пациентов и определить его распространенность в Украине.

Материал и методы исследования

Мутацию 657del5 гена *NBN* определяли путем амплификации с использованием специфических праймеров. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в автоматическом режиме (термоциклеры «AMPLY-4» и «Терцик», Российская Федерация) с использованием эндонуклеаз рестрикции, олигонуклеотидных праймеров и термостабильной Taq-полимеразы («MBI Fermentas», Литва). Электрофорез продуктов ПЦР проводили в 10% полиакриламидном геле в аппарате для вертикального электрофореза («ХЕЛИКОН», Российская Федерация). Аномальная миграция ПЦР-фрагментов свидетельствовала о гомозиготном носительстве мутации 657del5 гена *NBN*, наличие гетеродуплексных фрагментов — о гетерозиготном носительстве.

Результаты и их обсуждение

Исследования NBS в Украине начались в 1999 г. в рамках Международного проекта, направленного на определение частоты типичной мутации 657del5 гена *NBN* среди новорожденных в трех славянских популяциях: чешской, польской и украинской (львовской) [18]. Начиная с 2004 г., силами Института наследственной патологии был развернут селективный скрининг NBS в Украине, чему способствовало внедрение в практику генетического тестирования типичной мутации и цитогенетической идентификации специфических перестроек 7-й и 14-й хромосом.

Объектом селективного скрининга были случаи микроцефалии (МЦ), ассоциированной с NBS-подобным фенотипом. Пробанды высокого риска активно направлялись из 13 областей Украины и АР Крым, чему

способствовала активная просветительская работа среди врачей. В львовской популяции скринингом были охвачены контингенты пациентов Львовского межобластного медико-генетического центра (ЛММГЦ), а также специализированных детских отделений (гематологического, неврологического, общепедиатрического профиля) Львовской областной детской специализированной клинической больницы и других лечебных учреждений. Кроме того, проанализированы сообщения о регистрации МЦ у новорожденных из львовской популяции за 19-летний период. Определены районы с наивысшими показателями регистрации МЦ (3 на 10 000 новорожденных), причем, как оказалось, именно из них происходили 14 из 15 «львовских» случаев NBS. Это указывает на эффективность регистрации МЦ в родовспомогательных учреждениях для ранней диагностики синдрома Ниймеген.

При анализе за 5 лет документации кабинетов пренатального ультразвукового скрининга беременных установлено, что ежегодно в Львовской области пренатально диагностируются 4–8 случаев МЦ, преимущественно после 28 недель беременности. МЦ, ассоциированная с NBS, пренатально выявлена лишь у 3 из 30 украинских пробандов. Это указывает на потребность повышения генетической настороженности врачей пренатальной УЗД и необходимость своевременного информирования врачей-генетиков о каждом случае МЦ у плода.

Как показали результаты селективного скрининга МЦ на постнатальном этапе, у 70% пациентов она сочеталась с умственной отсталостью и неврологической симптоматикой (диффузная мышечная гипотония, спастический тетрапарез, судорожный синдром). В группу риска синдрома Ниймеген для генетического тестирования отобраны 104 (30% исследованных случаев МЦ) пробанда с NBS-подобным фенотипом, отсутствием неврологических нарушений и задержкой физического развития. 30 из 104, или 28,8% пробандов группы риска оказались гомозиготными носителями типичной мутации гена NBN. Частота верифицированных случаев синдрома Ниймеген в контингенте детей с МЦ оказалась вдвое выше, чем в чешской популяции [12].

Проведенные клинико-генетические исследования позволили установить типичные проявления NBS у украинских пациентов [1, 8]. Все дети родились доношенными, но в 83,3% случаев со сниженными показателями массы и длины тела. Все дети имели МЦ с окружностью головы 27–33 см, которая с возрастом прогрессировала (–6,3 SD от нормальных возрастных показателей) и сопровождалась дефицитом массы тела и роста (–3,7 SD и –4,2 SD соответственно). Формирование моторных навыков соответствовало возрастной норме. Уровень интеллектуального развития расценен как нормальный у 14 из 30 (46,7%), приближенный к норме — у 16 (53,3%) детей, что соответствует данным Международного реестра NBS [9].

Во всех 30 случаях наблюдались типичные черты фенотипа синдрома Ниймеген: микроцефалия, скошенный лоб, выдвинутая вперед средняя часть лица с длинным носом и увеличенным фильтром, гипоплазия нижней челюсти, большие уши с диспластическими завитками. При этом у украинских пациентов часто наблюдались монголоидный разрез глаз, гипертелоризм и короткая шея, что не отмечено в европейских публикациях. По сравнению с данными литературы, у украинских пациентов значительно реже встречались пигментные пятна «кофе с молоком» (85 и 29,2% соответственно), витилиго (66 и 25%) и бульбарные телеангиэктазии (32–40 и 12,5%) при относительно повышенной частоте кожных телеангиэктазий на спине (29,2 и 9% соответственно) [9, 16]. В трети исследованных случаев находили клинодактилию мизинцев и/или парциальную синдактилию пальцев кистей и стоп, что соответствует европейским данным. У украинских пациентов вдвое чаще встречались аномалии почек (гипоплазия, агенезия одной почки, тазовая дистопия подковообразной почки), тогда как в Международном реестре NBS преобладают случаи гидронефроза.

У 26 из 30 (86,7%) пациентов в 2–3-летнем возрасте отмечалась манифестация рецидивирующих респираторных инфекций (5–6 и больше эпизодов в году). Бронхиты и пневмонии отличались затяжным хроническим течением и требовали нескольких курсов антибиотикотерапии. По сравнению с данными Международного реестра NBS, значительно меньшей оказалась частота развития отита (50 и 20% соответственно) и воспалительных процессов мочевой системы (6,7 и до 65% соответственно) [9]. Во всех случаях находили изменения иммунограммы: выразительную либо умеренную лейкопению и лимфопению, дефицит CD4⁺, CD3⁺ и CD19⁺ лимфоцитов (91,6, 66,6, 41,6% случаев соответственно), существенное снижение хелперно-супрессорного индекса; увеличение абсолютного и относительного содержания CD16/56⁺ лимфоцитов (явление «экспансии натуральных киллеров») у 66,6% пациентов. У 83,3% пробандов наблюдался низкий уровень Ig A, у 58,3% — снижение Ig G, которое в трети случаев достигало критических значений (< 3 г/л) и требовало заместительной терапии внутривенными иммуноглобулинами (IVIg). Показатели иммунограммы украинских пациентов с NBS в целом согласуются с европейскими данными, но требуют расширения панели с исследованием экспрессии CD45RA⁺, CD45RO⁺ и уровня продукции альфа/бета и гамма/дельта рецепторов Т-клеток.

Одной из потенциальных угроз иммунодефицита является повышение риска онкогенной клеточной трансформации, что в случае синдрома Ниймеген усугубляется функциональным дефектом остановки клеточного цикла и повышенной радиочувствительностью NBS1-дефицитных лимфоцитов. Не случайно рентгеновское и радиоизотопное исследования, а также использование радиомиметиков в терапевтических схемах категориче-

ски запрещено. По частоте онкологических осложнений NBS опережает все другие онкогенные наследственные заболевания, и его спецификой является ранняя манифестация неходжкинских злокачественных В-линейных лимфом [4–8, 13, 16]. У 8 из 30 украинских пробандов в возрасте 5–12 лет развились опухолевые процессы: у 7 — неходжкинские злокачественные В-лимфомы, у 1 — гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз. 6 из 8 детей умерли в возрасте 5–9 лет, двое в возрасте 18 и 19 лет находятся в длительной ремиссии (10 и 6 лет соответственно). Структура онкологических осложнений NBS у украинских пациентов соответствует данным мировой литературы, хотя и демонстрирует единственный известный в мире случай ассоциации NBS с гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом. Несколько меньшим оказался возраст манифестации онкологических процессов (медиана — 7,2 г. при 9 г. по средневропейским данным) и значительно ниже — их частота: 26,7% всех случаев NBS при 40–53% по данным Международного и Польского реестров [6, 9]. Возможно, это связано с относительно меньшим возрастом обследованных нами пациентов, а возможно, является эффектом своевременной диспансеризации и адекватной тактики лечения.

В целом, на конец 2009 г. в Украине диагностировано 34 случая NBS в 30 семьях (32 ребенка, 2 плодов). Пациенты происходили из 12 областей: Львовской (15 детей, 2 плодов), Волынской (3), Тернопольской (3), Ровенской (2), Закарпатской (2), Ивано-Франковской (1), Хмельницкой (1), Запорожской (1), Донецкой (1), Одесской (1), Херсонской (1) и Киевской (1). 5 случаев пренатальной диагностики в семьях высокого риска позволили своевременно диагностировать NBS у 2 плодов и получить 3 здоровых детей в семьях, где до того не было здорового потомства.

Основная часть украинских случаев синдрома Ниймеген оказалась западноукраинского происхождения (27 из 32 пациентов) и практически половина из них (15) принадлежала к львовской популяции. Репрезентативное число пробандов с NBS в Львовской области Украины позволило рассчитать частоту гомо- и гетерозиготного носительства типичной мутации в этой популяции. Упомянутые 15 случаев NBS появились в течение 1989–2008 гг., и за этот период в области родилось 511 598 детей. Частота синдрома Ниймеген составила 1 на 34 106, гетерозиготных носителей мутации 657del5 гена NBN — 1 на 95 новорожденных. В течение 10 лет появлялись 1–2 случая ежегодно, и если ограничиться этим периодом, то частота гомозиготных и гетерозиготных носителей мутации возрастает до 1 на 13 640–27 648 и 1 на 58–83 новорожденных соответственно. Полученные нами данные существенно превышают результаты генетического тестирования новорожденных из львовской популяции в исследовании [18] (1 на 133 000 и 1 на 182 соответственно) и согласуются с результатами исследования отдельных польских субпопуляций (1 на 76–77 [19]) и, в частности, местности Новый Сонч, тер-

риториально приближенной ко Львовщине (1 на 90 [18]). Полученные нами результаты выдвигают синдром Ниймеген на позиции распространенной наследственной патологии в львовской популяции и позволяют предположить вероятный эффект гетерозиготного носительства мутации гена NBN в структуре причин онкологической заболеваемости в регионе.

Выводы

1. Высокая частота синдрома Ниймеген в львовской популяции и верификация случаев в 12 областях западного, южного и восточного регионов подтверждают целесообразность селективного скрининга NBS в Украине.
2. 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.
3. Отработан экономичный и эффективный метод молекулярно-генетической верификации диагноза в постнатальный и пренатальный период.
4. Принадлежность носителей мутаций гена NBN к группе риска «онкогенных» и «радиационно чувствительных» заболеваний требует повышенной настороженности врачей и специальной тактики диспансеризации семей высокого риска, что в Украине приобретает особое значение вследствие радиационного загрязнения части территории после аварии на ЧАЭС.

Литература

1. Костюченко Л.В., Акопян Г.Р., Макух Г.В. [и др.]. Современное состояние диагностики и лечения синдрома Ниймеген в Украине // Педиатрия, акушерство и гинекология (Укр.). — 2009. — Т. 79, № 5. — С. 5–12.
2. Bogdanova N., Feshchenko S., Schürmann P. [et al.]. Nijmegen Breakage Syndrome mutations and risk of breast cancer // Int. J. Cancer. — 2008. — Vol. 122, N4. — P. 802–806.
3. Carlomagno F., Chang-Claude J., Dunning A.M. [et al.]. Determination of the frequency of the common 675del5 Nijmegen breakage syndrome mutation in the German population: no association with risk of breast cancer // Genes. Chromosomes. Cancer. — 1999. — Vol. 25, N4. — P. 393–395.
4. Crzanowska K., Krajewska-Walasek M., Bernatowska E. Zespół Nijmegen — diagnostyka kliniczna, cytogenetyczna i molekularna // Pediatr. Polska. — 1999. — N6. — P. 254–256.
5. Dembowska-Baginska B., Perek D., Brozyna A. [et al.]. Non-Hodgkin lymphoma (NHL) in children with Nijmegen Breakage syndrome (NBS) // Pediatr. Blood Cancer. — 2009. — Vol. 52, N2. — P. 186–90.
6. Gładkowska-Dura M., Dzierzanowska-Fangrat K., Dura W.T. [et al.]. Unique morphological spectrum of lymphomas in Nijmegen breakage syndrome (NBS) patients with high frequency of consecutive lymphoma formation // J. Pathol. — 2008. — Vol. 216, N3. — P. 337–344.

7. Kondratenko I., Paschenko O., Polyakov A. [et al.]. Nijmegen breakage syndrome // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2007. — Vol. 601. — P. 61–67.
8. Kostyuchenko L., Kitsera N., Makukh H. [et al.]. Nijmegen breakage syndrome in Ukraine: diagnostics and follow-up // *Central European Journal of Immunology*. — 2009. — Vol. 34, N 1. — P. 47–52.
9. Nijmegen breakage syndrome / The International Nijmegen Breakage Syndrome Study Group // *Arch. Dis. Child.* — 2000. — Vol. 82, N 5. — P. 400–406, 600–606.
10. Resnick I. B., Kondratenko I., Togoev O. [et al.]. Nijmegen breakage syndrome: clinical characteristics and mutation analysis in eight unrelated Russian // *J. Pediatr.* — 2002. — Vol. 140, N 3. — P. 355–361.
11. Resnick I.B., Kondratenko I., Pashanov E. [et al.]. 657del5 mutation in the gene for Nijmegen breakage syndrome (NBS1) in a cohort of Russian children with lymphoid tissue malignancies and controls // *Am. J. Med. Genet.* — 2003. — Vol. 120A, N 2. — P. 174–179.
12. Seeman P., Gebertová K., Paderová K. [et al.]. Nijmegen breakage syndrome in 13% of age-matched Czech children with primary microcephaly // *Pediatr. Neurol.* — 2004. — Vol. 30, N 3. — P. 195–200.
13. Seemanova E., Seeman P., Jarolim P. Chromosome instability syndromes // *Cas. Lek. Cesk.* — 2002. — Vol. 141, N 1. — P. 16–22.
14. Seemanová E., Jarolim P., Seeman P. [et al.]. Cancer risk of heterozygotes with the NBN founder mutation // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2007. — Vol. 99, N 24. — P. 1875–1880.
15. Steffen J., Maneva G., Popławska L. [et al.]. Increased risk of gastrointestinal lymphoma in carriers of the 657del5 NBS1 gene mutation // *Int. J. Cancer.* — 2006. — Vol. 119, N 12. — P. 2970–2973.
16. Van der Burgt I., Chrzanowska K.H., Smeets D. [et al.]. Nijmegen breakage syndrome // *J. Med. Genet.* — 1996. — Vol. 33, N 2. — P. 153–156.
17. Varon R., Vissinga C., Platzer M. [et al.]. Nibrin, a novel DNA double-strand break repair protein, is mutated in Nijmegen breakage syndrome // *Cell.* — 1998. — Vol. 93, N 3. — P. 467–476.
18. Varon R., Seemanova E., Chrzanowska K. [et al.]. Clinical ascertainment of Nijmegen breakage syndrome (NBS) and prevalence of the major mutation, 657del5, in three Slav populations // *Eur. J. Hum. Genet.* — 2000. — Vol. 8, N 11. — P. 900–902.
19. Ziolkowska I., Mosor M., Nowak J. Regional distribution of heterozygous 657del5 mutation carriers of the NBS1 gene in Wielkopolska province (Poland) // *J. Appl. Genet.* — 2006. — Vol. 47, N 3. — P. 269–272.

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

V. Cirigliano^{1, 2}, G. Voglino³, A. Marongiu³, E. Ordocez^{1, 2}, L. Rueda^{1, 2}, A. Plaja¹, C. Fuster²

¹ General Lab, Barcelona, Spain

² Biologia 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.

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.

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. Euro-Gentest 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.

HUMAN CHIMERA AND TWINS IN CURRENT REPRODUCTIVE CYTOGENETICS

M.D. Golubovsky

Dept 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, bipa-

rental 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/biparental 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 chi-

meric 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 accord-

ance 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.

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).

USING ARRAY-CGH IN PGD FOR CARRIERS OF BALANCED TRANSLOCATIONS

M. Kremensky

Clinic of Reproductive Medicine "Nadiya"

Carriers of the balanced translocations are generally phenotypically normal and 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 the production of genetically-unbalanced gametes. When the member of a couple carries a balanced translocation, they are at an increased risk for 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.

NEW DEVELOPMENTS IN PRENATAL DIAGNOSIS

Mats Nilsson

Department of Genetics and Pathology, Rudbeck Laboratory, Uppsala University

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.
- Jarvis, 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**: 1609–1618.

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 multiplex-

ing 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.

ИЗУЧЕНИЕ МАРКЕРОВ СТАРЕНИЯ В ФИБРОБЛАСТАХ МЫШЕЙ ЛИНИИ SHR, ПОЛУЧАВШИХ МЕТФОРМИН В ТЕЧЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

А.В. Аркадьева, И.М. Спивак

Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Метформин — бигуанид, используемый как противодиабетический препарат. В опытах, проведенных в лаборатории В.Н. Анисимова Института онкологии РАМН на экспериментальных животных, обнаружили, что длительный прием метформина приводит к резкому повышению средней и максимальной продолжительности жизни. Для изучения действия метформина на клеточном уровне мы получили первичные фибробласты из кончиков хвостов контрольных мышей и опытных мышей линии SHR, получавших метформин в течение жизни с питьевой водой в дозе 1200 мг/л ежедневно. Мы исследовали мышей в возрасте 11, 16, 19 и 23 месяцев. Было изучено две группы животных: мыши, получавшие метформин с третьего месяца жизни (группа М1), и мыши, получавшие метформин с девятого месяца жизни (группа М2). В полученных фибробластах мы исследовали площадь ядер, активность SA-β-галактозидазы, количество в ядрах клеток особых гетерохроматиновых структур — SAHF и наличие в ядрах фосфорилированной формы гистона H2AX (γH2AX). У каждого живот-

ного на каждый маркер старения было проанализировано по 100 клеток. При анализе активности SA-β-галактозидазы в клетках мышей опытных групп нами было выявлено значительно меньшее количество положительных по β-галактозидазе клеток (8,5% vs 22%) (по сравнению с контролем того же возраста). При анализе таких параметров как количество SAHF в ядрах фибробластов, площадь ядер и наличие в ядрах клеток гистона γH2AX мы не получили различий по среднему арифметическому значению между контролем и опытом одного возраста. Однако нами были показаны различия по данным параметрам в максимальном значении, значениях 25-го и 75-го перцентиля и медиане распределения. По всем трем параметрам с помощью непараметрических критериев Крускала—Уоллиса, Манна—Уитни и Смирнова ($p < 0,05$) было показано, что метформин способствует накоплению «усредненных» клеток и препятствует появлению клеток с большим количеством маркеров старения, замедляет сдвиг распределения вправо, в сторону больших значений.

КАТАМНЕЗ 34 СЕМЕЙ С АУТОСОМНО-ДОМИНАНТНЫМ ПОЛИКИСТОЗОМ ПОЧЕК

С.С. АРУТЮНЯН, Э.Ф. АНДРЕЕВА, В.И. ЛАРИОНОВА, Н.Д. САВЕНКОВА

Санкт-Петербургская Государственная медицинская педиатрическая академия, Россия, Санкт-Петербург

Цель исследования: изучение катамнеза семей с аутосомно-доминантным поликистозом почек (АДПП) для выявления особенностей начальных проявлений, течения, исхода у детей и подростков, их родственников I и II степеней родства.

Материал и методы: АДПП диагностировали у проба́нда при выявлении кист в обеих почках при УЗИ и наличии подтверждения поликистоза почек у родственников I и/или II степеней родства. Обследовано 84 пациента из 34 семей с АДПП: 48 детей и подростков (25 мальчиков и 23 девочки) в возрасте от 1 до 18 лет и 36 взрослых (24 женщины и 12 мужчин) в возрасте от 25 до 50 лет.

Результаты: из 48 детей и подростков с АДПП 24 унаследовали заболевание от матери, 21 — от отца и 3 (из одной семьи) — от обоих родителей. Средний возраст 48 детей и подростков на момент выявления кист при УЗИ составил $8,8 \pm 3,9$ лет, из них в 4,2% случаев проведена пренатальная диагностика кист при УЗИ. Кисты в других органах выявлены у 4 (8,4%) из 48 детей и подростков с АДПП, из них в 4,2% кисты печени, в 4,2% кисты яичников, и у 19 (52,8%) из 36 взрослых пациентов, из них в 33,3% — в печени, в 11,1% — в головном мозге, в 5,6% — в яичниках, в 2,8% — в поджелудочной железе. Синдром артериальной гипертензии (АГ) выявлен у 15 (31,3%), пиелонефрит — у 15 (31,3%) из 48 детей

и подростков. У 18 (37,5%) из 48 детей и подростков обнаружена сопутствующая патология глаз. Прогрессирование в хроническую почечную недостаточность (ХПН) среди 48 детей и подростков с АДПП отмечено в 4,2% в школьном возрасте. Синдром АГ установлен у 28 (77,8%), хронический пиелонефрит — у 31 (86,1%) из 36 взрослых пациентов. У взрослых пациентов стар-

ше 40 лет с АДПП исход в ХПН установлен в 90% случаев. Летальный исход констатирован у 5 взрослых пациентов (4 мужчин и 1 женщина) в возрасте с 32 до 45 лет.

Вывод: АДПП у взрослых пациентов имеет серьезный прогноз, однако в детском возрасте прогрессирование в ХПН констатировано в 4,2% случаев.

СВЯЗЬ НЕКОТОРЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В ФОРМИРОВАНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

А.Д. Богомазов, А.А. Дедков, В.П. Иванов

**Курский государственный медицинский университет
Кафедра биологии, медицинской генетики и экологии**

В настоящее время бронхиальная астма (БА) представляет собой одно из самых распространенных заболеваний среди аллергической патологии у детей. Кроме того, БА относится к заболеваниям с наследственной предрасположенностью и чаще всего встречается у детей, в семейном анамнезе которых имеются больные с аллергией любого генеза. Наследование данной патологии или предрасположенности к ней, как и любого мультифакториального заболевания является полигенным. Основной задачей на сегодняшний день является определение хромосомной локализации и описания полиморфизма кандидатных генов, ответственных за формирование того или иного предрасполагающего фактора, которые в определенных условиях могут стать пусковым механизмом. Но не стоит забывать про гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков, играющие важную роль в риске развития заболевания, особенно у лиц, прожи-

вающих в регионах с неблагоприятной экологической обстановкой. Решение этой проблемы требует проведения полномасштабного исследования с большой выборкой и использованием кандидатного и позиционного картирования.

Анализ 150 историй болезни детей, находившихся на лечении в Областной детской клинической больнице г. Курска с диагнозом бронхиальная астма в период с 2005 по 2009 г., показал преобладание в структуре заболеваемости лиц мужского пола (68%). Исследование возрастной структуры установило, что большую часть заболевших среди мальчиков составили дети в возрасте 12–15 (48,2%) и девочек — в возрасте 7–12 лет (61,3%).

Таким образом, дальнейшее изучение генетических аспектов развития БА необходимо для поиска новых путей лечения и профилактики данного заболевания.

НЕКОТОРЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ФОРМИРОВАНИИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У ДЕТЕЙ

А.Д. Богомазов, А.А. Дедков, В.П. Иванов

**Курский государственный медицинский университет
Кафедра биологии, медицинской генетики и экологии**

В связи с ростом распространенности аллергических болезней и тенденцией к более тяжелому их течению проблема аллергической патологии является одной из важнейших в современной клинической медицине. В структуре аллергических заболеваний у детей значительный удельный вес имеют аллергические болезни кожи, среди которых преобладает atopический дерматит. Распространенность atopического дерматита среди детей экономически развитых стран составляет от 10 до 28% (при этом доля atopического дерматита в структуре аллергических заболеваний до 50–75%).

Атопический дерматит (АД) — хроническое рецидивирующее заболевание, в основе которого лежит IgE зависимое воспаление кожи и её гиперреактивность, нарушающие естественную реакцию кожи на внешние и внутренние раздражители. Атопический дерматит развивается у лиц с генетической предрасположенностью к atopии под действием факторов внешней и внутренней среды и является, как правило, самым ранним клиническим проявлением atopии. 60% детей, родители которых болеют АД, также страдают этим заболеванием. АД развивается у 81% детей, если больны оба родителя.

АД развивается обычно в первые месяцы жизни, приобретая затем рецидивирующее течение с возможностью полной или неполной ремиссии различной частоты и длительности. Гены, кодирующие развитие АД, пока не выявлены. Наряду с поиском генов, кодирующих отдель-

ные звенья патогенеза, такие как уровень специфического IgE, гены IL-4, IL-5, которые отвечают за преобладание Th2 — пути иммунного ответа, необходимо изучить гены детоксикации, которые могут играть роль пусковых механизмов развития заболевания.

СВЯЗЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РАЗВИТИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА У ДЕТЕЙ

А.Д. Богомазов, А.А. Дедков, В.П. Иванов

**Курский государственный медицинский университет
Кафедра биологии, медицинской генетики и экологии**

Аллергический ринит (АР) — это хроническое рецидивирующее заболевание, проявляющееся назальными (ринорея, зуд, чихание) и неназальными (покраснение глаз, зуд, отечность) симптомами разной степени выраженности. Значение АР возрастает в связи с быстрым увеличением его распространенности.

Анализ 150 историй болезни детей, находившихся на лечении в Областной детской клинической больнице г. Курска с диагнозом аллергический ринит в период с 2005 по 2009 г., показал преобладание в структуре заболеваемости лиц мужского пола (62,4%). Исследование возрастной структуры установило, что большую часть заболевших среди мальчиков составили дети в возрасте 7–12 (45,2%) и девочек — в возрасте 12–15 лет (52,7%).

АР развивается в результате попадания аэроаллергенов на слизистую оболочку носа или другие участки,

происходит синтез и высвобождение цитокинов Th2 лимфоцитов, таких как IL-4, IL-5, реагирующих на аллергены окружающей среды, что приводит к формированию IgE-опосредованной аллергической реакции с последующим развитием аллергического воспаления и гиперреактивности слизистой оболочки носа. Кроме высокого уровня сенсибилизации к экзогенным аллергенам, важным фактором риска возникновения АР у детей является наличие наследственной предрасположенности к аллергическим заболеваниям и наличие в семейном анамнезе больных аллергией, при этом риск заболевания АР возрастает в 5–6 раз. Изучение механизмов развития АР имеет определенное значение в тактике его лечения, а также профилактике развития бронхиальной астмы, одним из факторов риска которой является АР.

ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЕ МЕТОДЫ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

Н.М. Борисов, Н.Б. Безродная, Н.С. Боговалова, Ж.Ж. Галяутдинова, А.В. Зяблицин

Федеральный медицинский биофизический центр, Москва, Россия

В настоящее время в фармакотерапии злокачественных опухолей отмечается тенденция к переходу от неспецифических цитостатиков к таргетным препаратам: моноклональным антителам (мабам), ингибиторам киназ (нибам) и т.д. Такие препараты избирательно воздействуют на молекулярные механизмы, которые заставляют злокачественную клетку бесконтрольно делиться. Митогенетические сигнальные пути включают десятки белков и генов, поэтому на стадии испытаний находятся десятки потенциальных таргетных препаратов.

На этапе разработки и тестирования препаратов чисто экспериментальные методы исследований могут не дать полной информации о деталях воздействия препарата из-за чрезвычайно большого числа состояний белков и генов, которые требуется измерить. С другой стороны, расчетные методы исследований в системной биологии могут помочь понять общую картину и отдель-

ные критические детали формирования митогенетических сигналов.

Ранее наша исследовательская группа построила и экспериментально проверила сложную количественную модель митогенетического и антиапоптозного сигнала, инициированного стимуляцией клетки эпидермальным фактором роста, херегулином и инсулином. В настоящее время мы разрабатываем подходы к эффективной параметрической оптимизации многомерного вектора свободных параметров в подобных математических моделях. Для такой оптимизации необходим анализ чувствительности, погрешности неопределенности в сложных моделях биохимических процессов. Разрабатываемые нами методы будут протестированы на анализе сочетанной активации митогенетических/антиапоптозных/цитокينوподобных сигнальных каскадов.

ПРИМЕНЕНИЕ ПЕПТИДНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ В ПАРОДОНТОЛОГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПОЖИЛЫХ БОЛЬНЫХ

С.К. Боярова

Тарховский военный санаторий, Санкт-Петербург, Россия

Из литературы по вопросам старения мы видим, что большое внимание уделяется свободнорадикальной теории старения. Необходимость коррекции механизмов биорегуляции организма человека и улучшения состояния его иммунной системы в пожилом возрасте решается путем применения препаратов, синтезированных на основе эндогенных пептидов — пептидных биорегуляторов. В настоящее время считается, что в развитии заболеваний тканей пародонта основным является нарушение иммунного ответа на чужеродный агент в виде микробной флоры полости рта на фоне общих заболеваний внутренних органов человека. Функциональные нарушения зубочелюстной системы в пожилом возрасте связаны, в частности, с изменениями структуры соединительной ткани опорно-удерживающих тканей. Основная цель лечения пародонтита у пожилых пациентов — устранение воспалительных явлений пародонта с увеличением периода ремиссии — направлена на сохранение зубов и поддержание их оптимальной функции. Деятельность Международной ассоциации по геронтологии (IAG) способствует тому, что в последние годы наука о лечении зубочелюстной системы людей пожилого и старческого возраста выделена в отдельную дисциплину. Определены задачи амбулаторного лечения людей пожилого и старческого возраста, решение которых приведет к повышению качества оказания стоматологической помощи.

Большое значение в лечении пожилых больных имеет выбор комплекса мероприятий, направленных на устранение и коррекцию этиологических факторов патогенеза пародонтита. Однако на практике лечение пародонтитов часто исключает применение лекарственных средств, направленных на стимуляцию защитных механизмов всего организма, и ограничивается местным лечением пародонта. В связи с последними исследованиями по вопросам старения большое значение приобретает использование препаратов, основным направле-

нием которых является коррекция показателей иммунного дисбаланса всего организма в целом, его общей и местной неспецифической реактивности, а также одновременно усиливающих регенерацию поврежденных тканей слизистой оболочки десневого края и эпителиального зубодесневого прикрепления. В качестве такого средства в стоматологии нашел применение синтетический пептидный биорегулятор — вилон, который обладает иммуномодулирующим, антиоксидантным действием и участвует в механизмах нейрогуморальной регуляции гомеостаза.

Клиническое изучение применения препарата вилонна в качестве стимулятора репаративных процессов в пародонте и средства, коррегирующего показатели иммунитета при хроническом генерализованном пародонтите у людей пожилого и старческого возраста, нами было проведено на базе Тарховского военного санатория. Лечение больных хроническим генерализованным пародонтитом (176 человек) проводилось двумя методами: пациенты контрольной группы получали общепринятое лечение, а пациентам основной группы дополнительно к общепринятому лечению назначали вилон.

Таким образом, выявлено, что в группе больных, получавших вилон, лечение пародонтита проходило в более короткие сроки, больные отмечали как значительное улучшение в полости рта, так и улучшение общего своего состояния. В составе комплексной терапии этого заболевания у людей старших возрастных групп целесообразно применение препарата вилонна, который способствует нормализации регенерации поврежденных тканей, устранению воспалительных явлений в пародонте, улучшению результатов и сокращению сроков лечения. Клинически мы получили результаты, подтверждающие, что вилон оптимизирует процессы репаративной регенерации тканей пародонта при хроническом генерализованном пародонтите у больных пожилого и старческого возраста.

ОСОБЕННОСТИ ФИНИШНОЙ ОБРАБОТКИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ РЕСТАВРАЦИОННЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ТКАНЕЙ ЗУБА

Е.Е. Васенев, В.И. Польшина

Волгоградский Государственный медицинский университет, Волгоград

В эстетической стоматологии для получения результата, который бы удовлетворил требования как специалиста, так и пациента, используются высокотехнологич-

ные композиты. Среди последних наибольшее распространение получили две группы: микрогибридные и нанокомпозиты.

Заключительным этапом, благодаря которому работа приобретает свой завершенный вид, является полировка реставрации. В связи с изложенным, целью исследования явился анализ поверхностных повреждений при стандартной полировке двух типов композитов. Для решения поставленной задачи нами были исследованы образцы двух групп композиционных материалов: нанокомпозита (Opalis) и микрогибридного композита (Charisma opal). Из двух групп материалов одной цветовой шкалы были изготовлены диски диаметром 1 см, на которых был проведен заключительный этап реставрационной работы. Оба образца подверглись двум различным методам полировки — сухому и влажному, — которые были осуществлены шлифовочно-полировочными дисками фирмы 3М. Далее, оба образца были изучены в электронном микроскопе под X20, 100 увеличением, получены микрофотографии.

На микрофотографиях было выявлено, что образец из нанокомпозита дает более ровную поверхность при полировании влажным методом — менее выражены микроцарапины при обработке материала, тогда как микрогибридный материал менее подвержен повреждениям при сухом полировании. При анализе полученных результатов можно сделать вывод, что заключительный этап обработки композитов двух групп дал схожие параметры — материалы хорошо подвергаются обработке. Однако при детальном рассмотрении, было выявлено, что для каждого из материалов лучше применять свой метод полирования для достижения наилучшего результата, и как следствие — долговечности выполненной реставрации и ее эстетичности.

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

М.В. Вахарловская¹, М.А. Петрова¹, Т.Э. Ивашенко²

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

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 изучен полиморфизм гена NOS-1, представляющий собой наличие разного числа тринуклеотидных ААТ повторов в 20-м интроне гена.

Известно, что полиморфизм гена NOS-1 <12 ассоциирован с повышенным образованием оксида азота в выдыхаемом воздухе, что может быть ассоциировано с развитием БА и, в частности, гиперреактивностью 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 детей, имела генотип по гену NOS-1 <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-й группы (75%), а во второй группе у 9 детей (60%). БА к 5 годам сформировалась в 1-й группе у 7 детей (27%), а во второй — всего у 2 детей (13,3%).

Таким образом, у детей при носительстве аллеля <12 гена NOS-1 проявления атопических заболеваний встречаются несколько чаще, чем у детей с благоприятным генотипом (>12/>12). У детей с генотипом по гену NOS-1 <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 NOS-1 может явиться генетическим маркером выделения детей в группу риска по формированию БА.

Литература

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

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. et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene // J. Biol. Chem. — 1993. — Vol. 268. — P. 17478–17488.

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

В.Г. Вахарловский¹, Г.Ю. Железнякова¹, А.В. Киселёв¹, В.Н. Команцев², А.А. Егорова¹, Т.Н. Сезнева³, Р.Г. Юрьева³, М.В. Вахарловская⁴, А.Н. Баранов¹, В.С. Баранов¹

¹ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург

² НИИ детских инфекций МЗ РФ

³ Городской центр восстановительного лечения детей с психоневрологическими нарушениями

⁴ НИИ 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 карнитинсодержащим элькаром. В докладе суммированы результаты длительного (2–6 лет) наблюдения за 38 больными СМА: из них 4 — I типа, 28 — II и 6 — III. 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 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.

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

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

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 значи-

мость 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 прогрессиро-

вания 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.

РОЛЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОЦЕНКЕ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ЧЕЛОВЕКА

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

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

В настоящее время ионизирующее излучение стало глобальным экологическим фактором. Оно воздействует на человека в низких дозах, что затрудняет оценку риска отдаленных медико-биологических последствий с помощью эпидемиологических наблюдений. Изучение радиационных нарушений в клетках позволяет понять начальные этапы развития отдаленной лучевой патологии. С 1986 г. нами обследуются ликвидаторы последствий аварии на ЧАЭС и их дети; лица, эвакуированные с радиационно загрязненных 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, GPA- и HPRT-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. Таким образом, частота ХА может служить прогностическим признаком развития некоторых видов соматической патологии и являться показателем биологического возраста.

Для биологической реконструкции поглощенной человеком дозы обычно используются 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.

ОПЫТ ПРЕПОДАВАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ В СПбГПМА

В.Н. Горбунова, Е.Н. Имянитов

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

Кафедра медицинской генетики была организована в Ленинградском педиатрическом институте в 1989 г. в составе научно-учебного комплекса, включавшего 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 методически-

ми 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.

ОПУХОЛИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В СТРУКТУРЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В.Н. Горбунова

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

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 ангиома-

тоз, 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 шваницом 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 факотомозов, 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.

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

Э.В. Земцовский

**ФГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. Алмазова,
Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия**

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, были сформированы 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 пер-

вого 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 термином 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

Т.И. Кадурина¹, В.Н. Горбунова²

¹ Медицинская академия последипломного образования

² Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

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 антагонисты, 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-инстру-

ментальная 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.

ТРУДНОСТИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ГИПЕРКИНЕТИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Е.Г. Ключева, В.В. Голдобин

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

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 скинтиграфия 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 гепатocereбральной дистрофии. Обращала на себя 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, обсуж-

дался 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.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ КАРДИОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-го ТИПА

А.В. Кулешова¹, Р.М. Бицадзе¹, А.Г. Обрезан¹, И.М. Спивак²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, медицинский факультет, кафедра госпитальной терапии, Санкт-Петербург, Россия

² Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

В России 5% населения страдают СД 2-го типа. Главными причинами смерти и преждевременной инвалидизации больных СД 2-го типа являются сердечно-сосудистые осложнения. Мы изучали влияние генетического полиморфизма генов ангиотензин-превращающего фермента ACE и ангиотензиногена AGT на формирование кардиологической патологии у больных СД 2-го типа. Были обследованы 102 пациента с СД 2-го типа и 46 пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы без диабета. Возраст больных составил $58,9 \pm 9,6$ лет, длительность заболевания — $9,2 \pm 9$ лет. У больных зарегистрированы следующие сопутствующие заболевания: ГБ — 96,1 и 100%, ИБС — 83,3 и 80,4%, ОИМ — 6,9 и 2,2%, ОНМК — 30,4 и 39,1%, ХСН — 84 и 81,5% соответственно. Генотипирование проводилось методом ПЦР и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Наличие аллеля D гена ACE можно считать одним из predisposing факторов для развития

сердечной патологии у мужчин ($p = 0,05$). Обнаружена тенденция к возникновению ИБС ($p = 0,05$) и ХСН ($p = 0,03$) у пациентов-носителей аллеля D гена ACE с СД 2-го типа. Аллель I достоверно чаще встречалась в группе пациентов с СД 2-го типа без ХСН ($p = 0,04$). Выявлена тенденция к появлению нефропатии у пациентов-носителей аллеля D гена ACE в обеих группах. Аллель D гена ACE обнаруживает связь с ОНМК в анамнезе в обеих исследуемых группах ($p = 0,05$). Обнаружена тенденция к проявлению протекторного действия в отношении развития ИБС и ХСН ($p = 0,03$) у пациентов-носителей полиморфизма 235T гена AGT вне зависимости от наличия СД 2-го типа. Наличие полиморфизма M235 также обнаруживает связь ($p = 0,04$) с ОНМК в анамнезе у пациентов в обеих группах. Полученные данные можно учитывать в прогнозировании и лечении.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ АТАКСИЕЙ-ТЕЛЕАНГИЭКТАЗИЕЙ

М.А. Куранова, Н.М. Плещак, В.К. Михельсон, И.М. Спивак

Институт цитологии РАН, лаборатория радиационной цитологии

В настоящее время внимание исследователей приковано к эпигенетическим изменениям хроматина и их роли в процессах канцерогенеза и процессах старения. В клетках больных атаксией-телеангиэктазией существует 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 AT8 и AT6, ранее подробно описанные в нашей лаборатории. При определении интенсивности флюоресценции триметилированного по K27 гистона H3 нами было обнаружено его че-

тырехкратное 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 програм-

мы трансформации над программой клеточного старения по данному маркеру может служить серьезным прогностическим признаком.

Интенсивность флюоресценции триметилированного по К27 НЗ 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 3меК9НЗ на 25%, количество обоих исследованных маркеров не отличается от клеток здорового донора.

КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ ПРИ МИОДИСТРОФИИ ДЮШЕННА/БЕККЕРА

Т.А. Ледашева

ГУЗ Диагностический центр (медико-генетический), Санкт-Петербург

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.

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

Е.В. Линде¹, И.И. Ахметов², З.Г. Орджоникидзе³

¹ **Российский государственный университет физической культуры, спорта и туризма, Москва**

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*, *NEATC4*, *PPARA* и *PPARD* с помощью ПЦР.

В результате исследований было выявлено участие аллелей полиморфных генов системы PAAC (*D-ACE*), аллелей генов-регуляторов жирового обмена (*C-PPARA*; *C-PPARD*), генов-регуляторов гипертрофического ответа (*D-CNB*) и NFAT (*Ala160 NEATC4*), 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* отмечались 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.

ТИПЫ ДИСЛИПИДЕМИЙ, ИХ КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ И ВЛИЯНИЕ НА РАЗВИТИЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Б.М. Липовешкий

Институт мозга человека РАН, Санкт-Петербург, Россия

Цель сообщения — обзор существующих классификаций нарушения липидного состава крови и клиническая оценка их проявлений.

Гиперлипидемии (ГЛП) могут быть симптомом внутренних заболеваний (цирроз печени, нефрозо-нефрит, гипотиреоз) и тогда рассматриваются как вторичные, но чаще они первичны, т. е. генетически детерминированы. Первичные ГЛП разделяют на моногенные и полигенные. Термин «гиперлипидемия» сейчас стали заменять более емким термином «дислипидемия» (ДЛП), который включает такую форму нарушения липидного состава крови, когда нет повышения уровня липидов, но есть снижение содержания антиатерогенной фракции — липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), что также чревато развитием главного осложнения этих состояний — атеросклероза. До настоящего времени распространена классификация ГЛП Фредриксона и Лиса, предложенная в середине прошлого века, основанная на соотношениях между общим холестерином (ХС) крови и триглицеридами (ТГ) с учетом наличия хиломикронов (ХМ). Согласно этой классификации различают: I тип ГЛП — гиперхиломикронемия (возникающую с раннего детского возраста); IIa тип — гиперхолестеринемия (ГХС); IIb тип — сочетание ГХС и гипертриглицеридемии (ГТГ); III тип ГЛП, с особенно высокими уровнями как ХС, так и ТГ; IV тип с высоким содержанием ТГ при умеренно повышенном уровне ХС; V тип ГЛП, близкий I типу, но развивается он у взрослых и сопровождается сахарным диабетом II типа. В настоящее время эта классификация должна быть дополнена еще одним типом ДЛП, который характеризуется избирательным сниже-

нием содержания ЛПВП. Все эти формы ДЛП генетически детерминированы, некоторые из них могут быть моногенными, другие — полигенными. Моногенная ГЛП связана с дефектом в одном из «главных» генов, регулирующих липидный обмен, например, в гене, контролирующем синтез рецепторов липопротеидов низкой плотности. Если количество этих рецепторов в печеночных клетках снижается, то захват липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) из крови падает, развивается ГХС. Если дефект имеет характер доминантного, он проявится у гетерозиготных носителей, если дефект рецессивный, его проявления развернутся только у гомозиготных носителей. В регуляции липидного обмена участвуют около 200 генов, в которых нередко происходят однонуклеотидные замены — нуклеотидные полиморфизмы, которые можно рассматривать как гены предрасположенности к ДЛП. Они начинают себя проявлять лишь к 40-летнему возрасту при наличии других неблагоприятных факторов риска. Создаются условия для развития полигенных ДЛП. Клиническими проявлениями моногенных ДЛП являются липоидные дуги роговицы, ксантелазмы, ксантомы. Однако главными осложнениями всех видов атерогенных ДЛП является атеросклероз аорты и ее ветвей с такими проявлениями, как инфаркты миокарда, мозговые инсульты, перемежающаяся хромота, аневризмы аорты и др. С конца XX столетия появились новые препараты — статины и фибраты, которые позволили значительно улучшить прогноз при ДЛП, но радикально устранить проявления генетически обусловленных ДЛП когда-нибудь сможет лишь генная инженерия.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОСТЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПИРАЗИНОВ С КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНОЙ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

А.А. Мамонов¹, Б.Ф. Шеголев², В.Е. Стефанов¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

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

Алкилпроизводные пиразина представляют собой класс широко распространенных в природе гетероциклических соединений, обладающих разнообразным действием на половую и кровеносную системы органов млекопитающих. Один из представителей этого класса, тетраметилпиразин, входит в состав лигустазина, препарата, применяющегося в традиционной китайской медицине. В данной работе было произведено сравнительное молекулярно-динамическое моделирование процесса взаимодействия растворенных в водной среде простых алкилпиразинов с модельной фосфолипидной мембраной. Для сравнения было отобрано пять алкилпиразиновых молекул: пиразин, 2-метил-, 2,3-диметил-, 2,5-диметил- и тетраметилпиразин, структурно отличающихся лишь числом, типом и расположением заместителей при общем ароматическом кольце. Процесс взаи-

модействия мембраны с каждым из пяти соединений моделировался в течение 6000 пс с помощью программного пакета GROMACS 3.3. В ходе моделирования наблюдалось проникновение молекул пиразинов из водной фазы в бислои и активная латеральная диффузия в нем. Были измерены коэффициенты диффузии молекул алкилпиразинов в бислое, а также структурные параметры бислоя, оценен характер их изменения при диффузии молекул алкилпиразинов. Молекулы рассматриваемых соединений сильно различались по скорости диффузии и влиянию на структуру бислоя, в зависимости от их симметрии. Полученные данные, при дальнейшем уточнении, могут быть учтены для оптимизации мембранотропности при рациональном дизайне лекарственных препаратов на основе аналогов алкилпиразина.

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

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

ФГУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии

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 решения 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 aberrациями 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*-ITD⁺/*NPM1*⁺; $p = 0,076$. Полученные результаты в совокупности с данными литературы позволяют выделять больных с генотипом *FLT3*-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 пациента 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 паци-

ентов (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.

МОСКОВСКАЯ ГОРОДСКАЯ ПРОГРАММА СКРИНИНГА БОЛЬНЫХ С СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ — ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

А.Н. Мешков, А.И. Ершова, П.П. Малышев, Т.А. Рожкова, В.В. Кухарчук, С.А. Бойцов

Институт клинической кардиологии им. А.А. Мясникова ФГУ «РКНПК Росмедтехнологий», г. Москва

Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) — наследственное аутосомно-доминантное нарушение метаболизма липопротеинов, характеризующееся высоким содержанием в плазме крови липопротеинов низкой плотности, наличием сухожильных ксантом и высоким риском раннего развития ИБС. СГХС — одно из немногих генетических заболеваний, которое соответствует всем критериям, одобренным ВОЗ для проведения крупномасштабных скрининговых программ среди населения с целью своевременного выявления заболевания и назначения оптимального лечения.

Цель: проведение скрининга среди населения Западного административного округа (ЗАО) г. Москвы для активного выявления пациентов с СГХС как категории лиц с очень высоким сердечно-сосудистым риском и создание автоматизированной информационной системы регистрации больных с СГХС.

Материалы и методы. Скрининг пациентов с СГХС был проведен в ЗАО г. Москвы. Основные направления скрининга для выявления пациентов с СГХС: среди пациентов с ГХС, направляемых из поликлиник для консультаций в РКНПК; среди лиц, имеющих высокий

уровень ХС плазмы крови по данным клиничко-биохимической лаборатории ЗАО г. Москвы; каскадный генетический и клиничко-биохимический скрининг в семьях пациентов с СГХС.

Результаты. За 6 месяцев реализации программы скрининга обследовано 828 человека — выявлено 408 пациентов с гетерозиготной формой СГХС. Разработан

макетный образец программного средства информационной системы регистрации и оценки качества проведения лечебно-профилактических мероприятий у больных с семейной гиперхолестеринемией.

Заключение. Используемые подходы к скринингу больных с СГХС показали свою эффективность в условиях г. Москвы.

КЛЮЧЕВЫЕ БЕЛКИ ОБРАТНОГО ТРАНСПОРТА ХОЛЕСТЕРИНА И АТЕРОСКЛЕРОЗ

**В.В. Мирошникова¹, Е.П. Демина¹, Т.И. Родыгина¹, П.С. Курьянов², В.Н. Вавилов²,
С.А. Уразгильдеева⁴, В.С. Гуревич⁴, А.Г. Виноградов³, А.Д. Денисенко³, А.А. Шварцман¹**

¹ **Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН**

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

³ **Институт экспериментальной медицины СЗО РАМН**

⁴ **Центр атеросклероза и нарушений липидного обмена Клинической больницы №122
Санкт-Петербурга**

Обратный транспорт холестерина (ОТХ) — это процесс элиминации холестерина из периферических тканей и его последующей транспортировки в печень. Ключевыми белками ОТХ являются апопротеин А-1, транспортеры ABCA1 и ABCG1. Генетические аномалии этих белков приводят к нарушениям липидного обмена и развитию атеросклероза. Мы предположили, что уровень экспрессии генов *APOA1*, *ABCA1* и *ABCG1* является фактором, определяющим развитие атеросклероза.

Для исследования ассоциации уровня экспрессии генов *ABCA1* и *ABCG1* с развитием атеросклероза были созданы банки кДНК макрофагов: 1) 15 пациентов с атеросклерозом, подтвержденным при ангиографическом исследовании; 2) 10 лиц без сердечно-сосудистой патологии. Уровни мРНК генов *ABCA1* и *ABCG1* измеряли методом ПЦР в реальном времени. Уровень мРНК *ABCA1* в макрофагах больных атеросклерозом оказался выше, чем в контрольной группе ($1,32 \pm 0,11$ и $0,90 \pm 0,16$ соответственно, $p = 0,014$). В то же время выявлена тенденция к снижению уровня мРНК гена *ABCG1* в макрофагах пациентов по сравнению с контрольной группой:

средние уровни мРНК гена *ABCG1* составили $0,87 \pm 0,66$ и $1,26 \pm 0,55$ соответственно ($p = 0,076$). Также обнаружена положительная корреляция между уровнем мРНК гена *ABCG1* в макрофагах и уровнем холестерина ЛПВП ($R > 0,65$, $p < 0,02$).

Также нами были изучены генетические вариации в регуляторной области гена *APOA1*. Частоты полиморфных вариантов $(-75)G/A$ и $83C/T$ были определены методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом: 1) в группе пациентов с атеросклерозом (177 человек); 2) в контрольной группе (229 человек). Различий в частотах вариантов $(-75)G/A$ гена *APOA1* между группой пациентов и контрольной группой выявлено не было. В то же время частота аллеля $83T$ гена *APOA1* в группе пациентов с атеросклерозом была ниже по сравнению с контрольной группой (0,025 и 0,065 соответственно) ($p = 0,005$). Таким образом, носительство аллеля $83T$ гена *APOA1* ассоциировано со снижением риска развития атеросклероза ($RR((TT + CT)vsCC) = 0,39$).

Исследование поддержано грантами РФФИ № 06-04-49609 и № 10-04-01151.

МЕДИЦИНСКИЕ И СОЦИАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ ПОТЕРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Н.О. Могеладзе¹, В.А. Холодков¹, В.А. Шуков²

¹ **МУ Курганская городская больница №2**

² **ФГУ РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова**

Среди причин потери беременности важнейшей считается нарушение числа и структуры хромосом. Генетические аномалии плода в поздние сроки беременности

проявляются при условии сочетания их наличия с нарушением здоровья беременных, в том числе определяемых снижением качества жизни. Нами проведено ком-

плексное обследование 2600 рожениц и их детей за период с 1989 по 2009 год (ежегодно по 100 и более человек, родивших в июне месяце). Кроме того, обследовано 95 женщин с потерей беременности, поступивших на лечение за последние 5 лет.

К 1994 году материальное положение семей рожениц существенно ухудшилось и расценивалось на уровне 45% от показателей 1989 года. Соответственно этой цифре, по данным городского роддома, уменьшилось число родов. Выявлена тесная обратная корреляционная взаимосвязь между количеством родов и процентом детей, родившихся недоношенными ($r = -0,88$). Среди женщин с родоразрешением в нормальные сроки 87% были замужем, в то время как при потере беременности число замужних женщин составило 43%. Материальное положение семей таких женщин оценивалось как неудовлетворительное в $53\% \pm 5$, против $41\% \pm 5$ в группе женщин с нормальным родоразрешением. При этом продольные размеры тела и обхват головы у недоношенных достигал 75% от уровня нормы, а масса тела — 47%. Эти показатели также зависели от материального положения беременных. С увеличением роста плода соотношение размеров головы и длины тела должно снижаться, так как на каждый сантиметр прироста длины тела обхват головы возрастает лишь на 0,715 см. У женщин с начальным образованием доношенные новорожденные имели соотношение обхвата головы и роста тела $0,70 \pm 0,01$, в то

время как у женщин высшим образованием — $0,66 \pm 0,01$.

Уровень функциональной зрелости новорожденных снижался с 1988 по 1998 год и имел тенденцию к нормализации в последние 10 лет. Представление о том, что отставание функциональной зрелости в дальнейшем компенсируется наверстывающими темпами развития, не подтвердилось. Например, уровень интеллектуального развития детей оставался ниже нормы и к периоду начала обучения в школе. При разделении женщин с невыношенной беременностью на 4 группы по уровню их образования и социально-экономического положения, выявлена взаимосвязь этого показателя и сроков наступления полового созревания, антропометрических показателей пациенток, уровня артериального давления, уровня гемоглобина крови и степени недоразвития плода (S , продольные размеры тела плода в % от нормы) к моменту прерывания беременности: $S = 8,2 \times d + 6,5$; $r = 0,868$. Предпринятые социальные и медицинские меры привели к тому, что к 2008 году младенческая смертность снизилась с 22% до 12%, произошло повышение рождаемости до 91% от уровня 1989 года.

Важнейшим условием профилактики потери беременности и повышения рождаемости является не столько строительство новых перинатальных центров, сколько улучшение качества жизни населения страны, в частности беременных женщин.

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

Е.А. Мозговой

Санкт-Петербургский академический университет — научно-образовательный центр
нанотехнологий РАН

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 меж-

клеточных 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.

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

М.В. Москаленко¹, И.С. Мартынкевич¹, В.Ю. Аксенова¹, Л.С. Мартыненко¹, М.П. Иванова¹,
Н.Ю. Цыбакова¹, В.Ю. Удальева¹, Е.И. Усачева¹, Е.В. Карягина², Т.В. Шнейдер³, К.М. Абдулкадыров¹

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 у 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%) пациентов определен нормальный кариотип. А у 6 из 127 (4,7%) больных выявлялись клональные хромосомные aberrации: 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.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ И ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

О.С. Панкратова¹, А.Б. Чухловин², Ю.А. Эйсмонт³, С.Н. Ширяев¹,
Л.С. Зубаровская¹, Б.В. Афанасьев¹

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

¹ Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой

² Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины

³ Центр клинической микробиологии

Цитостатическая кондиционирующая терапия с последующей трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) сопровождается развитием тяжелого иммунодефицита, что часто приводит к различным инфекционным осложнениям 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 НИИДГиТ 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 (менее 21 г.) 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 введен 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.

ДИАГНОСТИКА ХРОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ: ПОДХОДЫ, МЕТОДЫ, РЕЗУЛЬТАТЫ

Н.Б. Рубцов

Институт цитологии и генетики СО РАН,
Новосибирский государственный университет

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 специфичных 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 позволял 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.

АНАЛИЗ АБЕРРАЦИЙ В МЕТАФАЗНЫХ ХРОМОСОМАХ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖИТЕЛЕЙ ЙЕМЕНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (г. ТАИЗ)

Ареф Даил САИД, В.П. ИВАНОВ, И.А. МАНДРИК, А.Н. БОРКОВ

ГОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Росздрава,
ГОУ ВПО Курский государственный университет, НИЛ «Генетика»

Целью исследования явилось выявление уровня спонтанного мутагенеза у здоровой популяции жителей Йеменской республики (г. Таиз) через анализ aberrаций метафазных хромосом лимфоцитов периферической крови. Был обследован 51 человек (26 женщин и 25 мужчин). Возраст обследованных варьировал в пределах 24–52 лет.

Материалом для исследования являлась цельная периферическая кровь, которую забирали у доноров в асептических условиях, с немедленным помещением в гепаринизированный флакон (0,5% раствор гепарина). Посев культур проводили в течение суток после взятия крови.

Для анализа хромосом осуществляли подготовку препаратов с использованием стандартного полумикрометода культивирования лимфоцитов. Для оценки цитогенетических эффектов определяли общее количество aberrаций и их качественный спектр на 100 проанализированных метафаз от каждого донора. Статистическую обработку фактического материала проводили с использованием программы “STATISTICA 6.0”.

В ходе цитогенетического исследования изменения со стороны хромосомного аппарата были выявлены в $1,04\% \pm 0,14$ клеток периферической крови доноров.

При кариотипировании клеток были выявлены следующие типы хромосомных aberrаций: одиночные ($66,67\% \pm 0,66$) и парные ($33,33\% \pm 0,66$) ацентрические фрагменты. У мужчин данные показатели приняли следующие значения: одиночные фрагменты — $37,25\% \pm 0,68$, парные — $19,60\% \pm 0,56$. У женщин показатели равнялись $29,42\% \pm 0,64$ для одиночных фрагментов и $13,73\% \pm 0,48$ для парных. Обращало на себя внимание отсутствие в метафазных хромосомах исследуемых таких типов aberrаций как хроматидные и хромосомные обмены.

Исследуемые показатели почти полностью совпадают с таковыми у жителей Российской Федерации, по данным исследований, проведенных Институтом медицинской генетики РАМН. Данный факт может говорить о существовании сходной нормы реакции жителей двух стран на фоновое воздействие мутагенов окружающей среды на генетический аппарат популяций клеток.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И КЛИНИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ МИОПАТИЙ

А.А. Сайкова, В.Г. Пустозеров

Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург

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, MERRE, 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 предполагаемой митохондриальной патологии, проходящими лечение в клинике неврологии СПбМАПО. С целью получения новых данных о патогенезе, улучшения диа-

гностики и разработки новых методов лечения в 2001–2010 гг. 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 В.Б. Васильевым, В.А. Соколовой).

У 8 больных предполагалась энцефалокардиомиопатия Kearns—Sayre. Они характеризовались: дебютом заболевания в возрасте 6–19 лет; прогрессирующей

наружной офтальмоплегией (100%); пигментным ретином (75%), дегенерацией сетчатки (62,5 %); атаксией, интенционным тремором (50%), кардиомиопатией, атриовентрикулярной блокадой сердца (87,5%), «рваными» красными волокнами в биоптатах мышечной ткани (75%), которые идентифицировались по активности миофибриллярной АТФ синтетазы как волокна I типа. Также для этой группы больных были характерны 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.

РОЛЬ ПАРАМЕТРОВ ФЕРРОКИНЕТИКИ НА ЭТАПЕ ПОДГОТОВКИ К ХИРУРГИЧЕСКОМУ ВМЕШАТЕЛЬСТВУ ДЕТЕЙ С ТЯЖЕЛЫМИ ДЕФОРМАЦИЯМИ ПОЗВОНОЧНИКА

Н.В. Саура, М.Н. Лебедева

ФГУ НИИ травматологии и ортопедии Росмедтехнологий, Новосибирск, Россия

В настоящее время большое значение уделяется вопросам железодефицитных состояний и их коррекции в акушерской, гинекологической практике, онкологии и других областях медицины. Значение показателей феррокинетики при реализации программы аутодонорства в педиатрической практике мало изучено. Учитывая широкую распространенность железодефицитных состояний у детей и подростков, актуально их выявление и коррекция этих состояний при предоперационной подготовке к операции коррекции деформации позвоночника с применением аутодонорства.

Целью нашего исследования являлось изучение процессов обмена железа на предоперационном этапе у 102 пациентов отделения детской ортопедии и установление корреляции между состоянием обмена железа и эффективностью гемопоэза в процессе реализации методик аутодонорства.

В результате наших исследований определены на предоперационном этапе показатели железа сыворотки,

общая железосвязывающая способность сыворотки, латентная железосвязывающая способность сыворотки, коэффициент насыщения трансферрина, ферритин сыворотки, трансферрин. Проведен анализ динамики этих показателей в ходе донаций аутокрови. Установлена зависимость эффективности эритропоэза и резервирования крови от состояния феррокинетики. Доказана необходимость диагностики железодефицитных состояний и их коррекции на догоспитальном этапе при подготовке пациента к предстоящему оперативному вмешательству и сопровождения программы аутодонорства введением препаратов железа для обеспечения эффективного эритропоэза в процессе неоднократных эксфузий собственной крови пациентов.

Таким образом, подготовка пациента к предстоящему оперативному вмешательству с возможностью резервирования собственной крови должна включать обязательное исследование состояния феррокинетики и коррекцию выявленных нарушений.

ЗНАЧЕНИЕ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ ГЕНА BRAF В ДООПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Д.Ю. Семенов¹, М.И. Зарайский², М.Е. Борискова¹, И.Ю. Сабурова²,
П.А. Панкова¹, Н.С. Фешенко¹, В.Г. Чаусова¹, У.В. Фарафонова¹, О.П. Пестерова²

¹ Кафедра общей хирургии ГОУ ВПО «СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»

² Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины ГОУ ВПО «СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова»

Введение: в настоящее время вопрос о дооперационной диагностике рака щитовидной железы (РЩЖ) не решен, т. к. частота неинформативных результатов ТАБ доходит до 30%.

Цель: выявление значимости наличия мутации V600E гена BRAF в дооперационной диагностике РЩЖ.

Материалы и методы: в исследование включено 46 пациентов с узловыми образованиями ЩЖ, которым была проведена тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ). ДНК выделялась сорбентным методом из материала ТАБ. Выявление мутации гена BRAF проводилось с помощью ПЦР с праймерами, характерными для дикого и мутантного типа гена.

Результаты: по результатам цитологического исследования все пациенты были разделены на 3 группы: пациенты с узловым коллоидным зобом (УКЗ) (9), папиллярным раком (ПР) (19) и пациенты с неопределенными результатами ТАБ (18). В группе пациентов с ПР все диагнозы были подтверждены гистологически, и мутация гена BRAF была выявлена у 15 (79%) пациентов. В группе с неопределенным цитологическим диагнозом только у одного пациента определена мутация гена BRAF и при гистологическом исследовании был

диагностирован фолликулярный рак. У 16 пациентов с гистологическим диагнозом фолликулярная аденома, девяти пациентов с УКЗ и одного пациента с фолликулярным раком мутации BRAFV600E выявлено не было. Таким образом, мы получили следующие критерии достоверности метода: чувствительность — 76%, специфичность — 100% и диагностическая точность — 89%.

Выводы: выявление мутации BRAFV600E может быть использовано в качестве дополнительного метода дооперационной диагностики РЩЖ.

ДИНАМИКА ОБЩЕГО БЕЛКА В ЭПИТЕЛИОЦИТАХ ПРОКСИМАЛЬНОГО КАНАЛА НЕФРОНА

А.Г. Сентюрова, О.Г. Ганина

ГОУ ВПО АГМА Росздрава, г. Астрахань, Россия

Интерес к хронобиологии почек обусловлен тем, что определение некоторых экскретируемых почками веществ позволяет получить представление о ритмической организации различных регуляторных систем. При конкретизации темы было учтено, что важнейшим местом в организме по расщеплению белка являются почки, белки реабсорбируются преимущественно в проксимальном канале из-за синтеза мегалина и клубина [1, 2].

Цель: изучить временную организацию белкового метаболизма в эпителиоцитах проксимального канальца нефрона на разных стадиях постнатального развития млекопитающих.

Методика: исследования были выполнены на 36 интактных крысах. Пробы брали на 1-е, 7-е, 14-е и 28-е сутки в 16:00 у наркозирванных животных. Заливали в парафин, окрашивали прочным зеленым по стандартной методике. Анализ содержания общего белка проводился с помощью программы «Морфолог».

При анализе результатов исследования было установлено, что у млекопитающих в постнатальный период

топография распределения общего белка однотипна. Он распределен по всей клетке в виде диффузной окраски цитоплазмы. На этот период наблюдения ни в одном из возрастов не наблюдалось глыбообразного скопления белка. Но при количественной оценке общего содержания белка была обнаружена заметная динамика. Так в 1-е сутки количество белка составляло 423 у.е., на 7-е сутки — 803 у.е., 14-е сутки — 650 у.е., а далее количество общего белка практически стабилизировалось.

Таким образом, результаты исследования показали, что процессы синтеза белка в эпителиоцитах проксимального отдела нефрона характеризуются возрастными особенностями.

1. Нефрология: Руководство для врачей / Под ред. И.Е. Таревой. — М.: Медицина, 2000.

2. Verroust P.J., Birn H., Nielsen R., Kozyraki R., Christensen E.I. The tandem endocytic receptors megalin and cubilin are important proteins in renal pathology // Kidney International, 2002.

АТАКСИЯ-ТЕЛЕАНГИЭКТАЗИЯ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ УСКОРЕННОГО СТАРЕНИЯ И ПОВЫШЕННОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

И.М. Спивак, Е.А. Полуботко, В.М. Михельсон

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Тяжелое нейродегенеративное наследственное заболевание атаксия-телеангиэктазия (АТ) является наиболее изученным синдромом повышенной радиочувствительности и хромосомной нестабильности. Одновременно у таких больных как на организменном, так и на клеточном уровне выявляются признаки ускоренного старения. Частота этого заболевания 1:40 000–1:200 000

в разных популяциях, но количество АТ-гетерозигот гораздо выше — от 4% до 10%. В первичных фибробlastах 2 больных и их кровных родственников исследовали активность SA- β -gal (senescence associated β -galactosidase), присутствие в ядрах клеток фокусов γ -H2AX, сниженный уровень гетерохроматинового белка HP1- γ , образование SAHF (senescence associated heterochromatin

focus), нарушение структуры ядерной ламина и актинового цитоскелета в интактных фибробластах. Для выявления радиочувствительности и активности процессов репарации ДНК в ответ на действие рентгеновского облучения исследовали динамику фокусов 53BP1 и γ -H2AX и белка P21, образование и воссоединение двуниевых разрывов ДНК, формирование чекпойнтов клеточного цикла. Клетки больных АТ и их кровных родственников (носителей заболевания) демонстриро-

вали выраженные признаки как повышенной радиочувствительности, так и преждевременного старения по сравнению с клетками здорового донора, причем у гетерозиготных носителей заболевания выраженность этих признаков была промежуточной между больными АТ и здоровыми донорами.

Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН «Биологические науки — медицине».

АНТИТЕЛА К КОЛЛАГЕНУ КАК МАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С ВЫСОКИМ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМ РИСКОМ

А.А. Тарасов, Т.А. Безбородова, С.И. Давыдов

Волгоградский государственный медицинский университет, кафедра факультетской терапии, РФ

Коллаген как один из основных матриксных белков сосудистой стенки в норме обладает слабыми антигенными свойствами. В условиях повышенной активности матричных металлопротеаз при сахарном диабете (СД) и ишемической болезни сердца (ИБС) синтезируется структурно и функционально модифицированный коллаген, содержащий антигенные детерминанты, что сопровождается продукцией специфических антител.

Целью исследования явилась сравнительная оценка уровня антител к коллагену у больных с хроническими формами ИБС и у больных без клинических проявлений ИБС, соответствующих критериям синдрома хронического системного воспаления (СХСВ, L. Fabbri, K. Robe, 2007), имеющими в качестве одного из диагностических критериев СД 2 типа.

Материалы и методы исследования. В исследование включено 98 человек (32 больных хроническими формами ИБС, 36 лиц без ИБС, соответствующих критериям СХСВ, страдающих СД 2 типа, и 30 человек —

контрольная группа — без ИБС и СД). Сывороточный уровень антител к коллагену определяли методом ИФА.

Результаты. В группе больных с ХИБС повышенный уровень антител к коллагену отмечен в 34,4% случаев, в группе больных без ИБС, соответствующих критериям СХСВ и имеющих СД 2 типа, — в 30,6%, в контрольной группе — в 6,7% случаев. Уровни антител к коллагену в основных группах достоверно между собой не отличались, но в то же время достоверно ($p < 0,05$) превышали таковой в контрольной группе.

Выводы. Уровень антител к коллагену отражает повреждение сосудистой стенки как при атеросклеротической, так и при диабетической ангиопатии. Исследование уровня антител к коллагену при наличии СХСВ и СД 2 типа может быть полезным в плане ранней диагностики коронарного атеросклероза, а также для оценки прогноза его клинической манифестации у лиц с СД.

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

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

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

Целью исследования явилось сопоставление показателей АД, липидного и углеводного обменов с аллельным состоянием генов APOCIII, LPA, APOE, 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 (ACE), 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 AGT, 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.

ПЕРЕСТРОЙКИ ГЕНА MLL У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ

**Г.А. Цаур^{1, 2, 3}, А.М. Попов^{1, 2, 3}, Т.В. Наседкина⁴, А.М. Кустанович⁵, О.В. Каленник⁴,
С.Ю. Ковалев⁶, Т.О. Ригер^{1, 2}, Е.Р. Семенихина^{1, 2}, А.С. Иванова^{1, 2, 3}, Ю.А. Яковлева^{1, 2, 3},
А.Е. Друй^{1, 3}, Е.В. Шориков^{1, 2}, О.В. Стренева^{1, 2}, О.М. Плеханова¹, М.В. Стригалева¹,
О.В. Алейникова⁵, С. Meyer⁷, R. Marschalek⁷, Л.И. Савельев^{1, 2, 3}, Л.Г. Фечина^{1, 2}**

¹ Областная детская клиническая больница №1, Екатеринбург, Россия

² Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия

³ Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург, Россия

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

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

⁶ Уральский государственный университет, Екатеринбург, Россия

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

Нами обследовано 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 молеку-

лярной 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 — вошло 14 пациентов, которые достигли молекулярной ремиссии к ТН4. В данной группе произошло 2 рецидива. Во вторую группу было отнесено 4 пациента, не достигших молекулярной ремиссии к ТН4. Среди пациентов второй группы было

зафиксировано 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, выявление перестроек гена *MLL* особую ценность приобретает в свете того, что они представляют собой удобную мишень для мониторингирования минимальной остаточной болезни методом ПЦР.

ПОЛИМОРФИЗМ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ЕГО РОЛЬ В СОСТОЯНИЯХ, СВЯЗАННЫХ С РЕМОДЕЛИНГОМ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

А.Б. Чухловин

Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины
СПбГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Известно более 20 видов матриксных металлопротеиназ (ММР) — цинк-содержащих протеаз, которые разрушают коллаген, эластин и ряд других стабильных белков межклеточного матрикса в процессе тканевой дифференцировки, в очагах воспаления, зонах опухолевого роста, при развитии тканевого фиброза. Имея, в целом, сходную структуру молекул, энзимы ММР-1, -8 и -13 осуществляют первичную деградацию нативных молекул коллагена (тип I и III), тогда как ММР-2, ММР-3, ММР-9 и др. (желатиназы, стромелизин и т. д.) разрушают фрагменты коллагена и другие белки матрикса (фибронектин, ламинин и др). Индукция генов ММР происходит под влиянием провоспалительных факторов (цитокинов, компонентов циклооксигеназной системы и т. д.), и существуют аллельные варианты генов ММР, различающихся по уровням их индукции под влиянием указанных факторов. Одним из наиболее изученных генных полиморфизмов системы ММР является гиперактивный генотип 2G/2G-1607 ММР-1, характеризующийся высоким уровнем транскрипции и повышенной продукцией проколлагеназы. По данным литературы, имеется ассоциация между некоторыми гипериндуцибельными вариантами генов ММР и предрасположенностью к ряду онкологических заболеваний.

В частности, мы исследовали роль промоторных полиморфизмов генов ММР-1 и ММР-3 при доброкачественных новообразованиях репродуктивной сферы у женщин. Так, при обследовании больных лейомиомой матки (170 чел.) было показано, что носительство гиперактивного аллеля 2G гена ММР-1 связано с усилением темпа роста опухоли, увеличением числа и размера опухолевых узлов, развитием аденомиоза. В другой

группе больных с гиперплазией эндометрия была обнаружена достоверная ассоциация между носительством более активных функциональных аллелей генов ММР-1 и ММР-3 и развитием полипоза эндометрия у женщин.

Клеточные механизмы биологических эффектов гиперактивного аллеля 2G гена ММР-1 могут быть проиллюстрированы результатами генотипирования больных с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (140 случаев). При анализе посттрансплантационных осложнений мы выявили повышенный риск развития острой реакции «трансплантат против хозяина» (ОРТПХ) и более высокую частоту реактивации вируса простого герпеса среди больных с генотипом 2G/2G гена ММР-1.

Таким образом, наличие гиперактивных (индуцибельных) вариантов генов ММР (в частности, ММР-1) коррелирует с риском и клиническими проявлениями целого ряда опухолевых заболеваний и иммунопатологических состояний.

Предлагаемая нами модель взаимодействий продуктов генов матриксных металлопротеиназ, факторов антисвертывающей системы (например, PAI-1) и генов мембранного транспорта (MDR-1) позволяет предположить, что частые связи активных промоторных вариантов с гиперпластическими процессами, вероятно, обусловлены усилением деградации межклеточного матрикса и повышением проницаемости этих структур для клеток-продуцентов матриксных металлопротеиназ. Полученные данные подтверждают потенциальную возможность разработки методов адьювантной противопухолевой терапии с помощью малотоксичных ингибиторов ММР.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

М.А. Чухловина

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

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 Е, 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 IIb/IIIa (GpIIb/IIIa), 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 GpIIb/IIIa, 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.

ГИПЕРФЕНИЛАЛАНИНЕМИИ: ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ДЕФЕКТОВ

А.М. Шапошников¹, С.Е. Хальчицкий², И.А. Булычева³

¹ Многопрофильная фирма «КМ-Альянс»

² ЛОГУЗ «Детская клиническая больница»

³ Межрайонный наркологический диспансер, Санкт-Петербург

В 2009 году исполнилось 75 лет с того времени, когда А. Fölling в 1934 году открыл и впервые описал заболевание, сопровождающееся гиперфенилаланинемией (ГФА), получившее впоследствии название фенилкетонурии (ФКУ). В 1965 году 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 больных активность ФАГ отсутствовала как без, так и с добавлением ВН₄. У 9 больных активность ФАГ составляла от 3 до 12% по сравнению с контролем, у 4 —

ставляла 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 родителей и сибсов больных ФКУ детей показала, что они являются гетерозиготными носителями (ГЗ), т.к. скорость гидроксилирования 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-

4α-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.

ВОЗМОЖНОСТИ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

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

ФГУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Росмедтехнологий»

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. Таким образом, информационные технологии позволяют запускать механизмы самоорганизации от молекулярного до организменного уровня, что профилактирует осложнения и способствует реализации противоопухолевой терапии и функциональной реабилитации онкологических больных.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕНОВ *BRCA1/2* ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИЯ

В.П. Шубин¹, А.Н. Логинова¹, Н.И. Поспехова¹, О.В. Волкова², А.В. Карпухин¹

¹ Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

² Республиканский онкологический диспансер, Республика Мордовия

В работе был проведен анализ спектра и частот мутаций в генах *BRCA1/2* среди 50 больных раком яичников (РЯ) в Республике Мордовия, титульное население которой относится к финно-угорской группе.

Частота мутаций в гене *BRCA1* составила 30% (15/50). Такая частота является наиболее высокой среди европейских популяций. В спектре преобладали 2 мутации — 3819del5, с частотой 40%, и 5382insC — 20%. Остальную часть спектра составили 4 мутации: C61G (13%), R1347G (13%), 4154delA (6%), R841N (6%). По-

лученные характеристики спектра в целом отличаются от спектра мутаций, выявленного в центральной части России. Частота преобладающей в центральной части России мутации 5382insC, составляющая 60% при РЯ, достоверно выше частоты этой же мутации в Мордовии ($p = 0,03$). Мутация 3819del5 при раке яичников в центральной России и финно-угорских национальных группах (финны, венгры и эстонцы) найдена не была. Мутация 5382insC является общей для европейских стран и с разной частотой встречается у финно-угров. Следова-

тельно, генетическая общность финно-угров по мутациям в гене *BRCA1* отсутствует. Встречавшиеся среди других финно-угров мутации в гене *BRCA2* среди мордвы нами выявлены не были. В Европе мутация 3819del5 с наибольшей частотой (15%) встречается в Чехии, хотя это ниже частоты в 40%, обнаруженной в Мордовии ($p = 0,03$). При генотипировании мордовских пациентов с мутацией 3819del5 по 4 микросателлитным маркерам

гена *BRCA1* обнаружен общий гаплотип, что свидетельствует об её распространении в Мордовии вследствие эффекта основателя. Обнаружение двух мутаций, охватывающих 60% спектра, и высокая частота мутаций в гене *BRCA1* создают возможность скрининга наследственной предрасположенности среди мордовских больных РЯ.

ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ И СЕРОТОНИНОВОЙ СИСТЕМ С АКТИВНЫМ ДОЛГОЛЕТИЕМ В ПОПУЛЯЦИИ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ

Г.С. Якупова¹, Т.Ю. Смирнова¹, А.Г. Захарчук², Д.Л. Спивак³, И.М. Спивак¹

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

² Городской геронтологический медико-социальный центр Санкт-Петербурга им. Э.С. Пушкин, Санкт-Петербург

³ Институт мозга человека РАН

На сегодняшний день выявлено много генов, полиморфизмы которых связаны с мультифакторными болезнями, влияющими и на продолжительность жизни, и на процесс старения. По данным литературы, С102Т полиморфизм серотонинового рецептора 5HTR2A связывают с различными психическими заболеваниями и поведенческими реакциями, а ренин-ангиотензиновая система и ее основной компонент — ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) играют важную роль в развитии сердечно-сосудистой патологии.

Наше исследование было направлено на выявление возможной ассоциации I/D полиморфизма гена АПФ и С102Т полиморфизма гена серотонинового рецептора 5HTR2A с активным долгожительством. В исследуемую группу, состоящую из 118 человек, вошли пациенты Санкт-Петербургского городского гериатрического центра им. Э.С. Пушкин старше 70 лет. Генетическое исследование включало в себя выделение ДНК из клеток

крови по стандартной методике и генотипирование методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в различных модификациях. Фрагменты ДНК разделяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Достоверных различий в частотах аллелей гена АПФ между долгожителями и лицами молодого возраста не выявлено. В группе долгожителей обнаружено небольшое, но достоверное увеличение частоты генотипа II. Также у долгожителей отмечено достоверное увеличение генотипа А2А2 и частоты аллеля А2 гена серотонинового рецептора 5HTR2A. При сравнении с данными литературы были обнаружены существенные отличия частот аллелей гена серотонинового рецептора 5HTR2A в популяции Северо-Запада России и США, 0,398 (А1) и 0,602 (А2) и 0,615 (А1) и 0,385 (А2) соответственно.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 09-06-00012а, и программы президиума РАН «Биологические науки — медицине».

РАЗНОЕ

УДК 616.711-007.55-089.22

О НЕУДОВЛЕТВОРИТЕЛЬНЫХ ИСХОДАХ ТРАНСПЕДИКУЛЯРНОЙ ФИКСАЦИИ ПОЗВОНОЧНИКА АППАРАТОМ ВНЕШНЕЙ ФИКСАЦИИ

К.А. БЕРДЮГИН, С.М. КУТЕПОВ, О.В. БЕРДЮГИНА, И.А. ЦЫБУЛЬКО

ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрав», Екатеринбург, Россия

Резюме. Статья посвящена изучению осложнений, возникающих при лечении патологии позвоночника методом остеосинтеза аппаратом внешней фиксации. Произведён анализ структуры и частоты ошибок и неудовлетворительных результатов оперативного лечения у 192 пациента с неосложненными переломами грудного и поясничного отделов позвоночника. Сформулированы рекомендации по профилактике и лечению возникающих осложнений.

Ключевые слова: патология позвоночника; остеосинтез аппаратом внешней фиксации; осложнения.

SIDE EFFECTS AND NEGATIVE OUTCOMES OF THE USE OF TRANSPEDICULAR FIXATION OF SPINE BY EXTERNAL FIXATION APPARATUS IN PATIENTS WITH VERTEBRAL DISEASES

K.A. BERDUGIN, S.M. KUTEPOV, O.V. BERDUGINA, I.A. TSIBULKO

State Educational Institution of Higher Professional Education "Ural State Medical Academy. Federal Agency of Health Care and Social Development", Ekaterinburg, Russia

Summary. The article is devoted to the complications of the use of transpedicular fixation of spine by external fixation apparatus in patients with vertebral diseases. Analysis of structure and frequency of mistakes and negative outcomes of the operative treatment is performed in 192 patients with uncomplicated fractures of thoracic and lumbar regions of spine. The recommendations concerning prevention and treatment of complications are given.

Key words: vertebral diseases; osteosynthesis by external fixation apparatus; complications.

Введение. Остеосинтез позвоночника аппаратом внешней фиксации, предложенный W. Dick в 1984 году и активно примененный Magerl'ом, стал широко распространяться по странам Западной Европы в 90-х годах XX века. Ряд авторов (Arnold W., 1985 [8], 1986 [9]; Kluger G. et al., 1986 [10]; Steffe A.D. et al., 1993 [12]) опубликовали данные о результатах лечения пациентов с неосложненными переломами позвоночника. Именно в этих работах впервые была поднята проблема возможных осложнений и неудовлетворительных исходов лечения. Учитывая недостатки имевшихся конструкций, авторы стали применять собственные модификации аппаратов (Kporf W., 1989 [11]). Одним из возможных вариантов фиксации позвоночника стал аппарат внешней фиксации «Краб», предложенный группой авторов (А.М. Лавруков, А.Б. Томилов, Д.И. Глазырин) из Уральского НИИ травматологии и ортопедии под руководством профессора С.М. Кутепова. Этим же авторам принадлежит целый ряд работ о результатах оперативного лечения заболеваний и повреждений позвоночника (Лавруков А.М. с соавт., 1999–2005; Томилов А.Б. с соавт., 1996–2008 [3, 4, 5]), где подробно описаны методики остеосинтеза позвоночника оригинальным аппаратом внешней фиксации и их результаты. Так, А.Б. Томилов и Ю.В. Химич (2008) [7], проанализировав результаты лечения 90 пациентов, отмечают, что вертикальный

размер тела не восстановлен у 24,5% больных, подвывих не устранен у 40%, смещение сломанного позвонка сохранилось в 33,3% случаев. Об эффективном применении аппаратов внешней фиксации при лечении переломов позвонков в поздние сроки после травмы и при наличии грубых деформаций позвоночника сообщал А.А. Афаунов (2008) [1], причем продолжительность этапа внешнего остеосинтеза составляла всего 6–14 дней. А.С. Жупанов с соавт. (2009) [2] во всех случаях применения аппаратов внешней фиксации достигали полного восстановления нормальных анатомических взаимоотношений в измененном позвоночном двигательном сегменте и считают, что наиболее эффективным является широкое комбинирование методов внутренней и внешней фиксации. К недостаткам аппарата внешней фиксации авторами относятся сложность ухода за больным и его последующей реабилитации.

Вместе с тем, О.Г. Прудникова с соавт. (2008) [6] отмечали, что из 280 прооперированных пациентов у 12 (4,4%) возникли переломы стержней, у 6 (2,2%) — обнаружилось воспаление мягких тканей, у 6 (2,2%) — появлялся кифоз после демонтажа аппарата. Всего осложнения были зафиксированы у 24 (8,8%) больных. При этом, переломы 4 стержней связаны с их неправильным проведением, 8 — с нарушением пациентами ортопедического режима. Причинами появления кифоза в 2 слу-

чаях стало неправильное планирование оперативного приема, в 4 — несоблюдение пациентами рекомендаций (отказ носить корсет).

Вместе с тем, сообщения о достигнутых успехах встречаются в литературе значительно чаще, чем работы об ошибках и осложнениях.

Целью исследования стал анализ структуры и частоты ошибок и неудовлетворительных результатов транспедикулярного остеосинтеза позвоночника при лечении неосложненных переломов грудных и поясничных позвонков аппаратами внешней фиксации.

Материал и методы исследования. В группу исследования вошли 192 пациента с неосложненными переломами грудного и поясничного отделов позвоночника, из них мужчин — 122, женщин — 70. Всем больным произведено клиническое, рентгенологическое исследование, компьютерная или магнитно-резонансная томография, 111 из них — иммунологическое исследование.

Уровни повреждения позвоночника распределились следующим образом: Th6 — 1 больной (0,6%); Th8 — 1 (0,6%); Th9 — 4 (2,3%); Th10 — 4 (2,3%); Th11 — 3 (1,6%); Th12 — 18 (9,4%); L1 — 69 (35%); L2 — 42 (21,8%); L3 — 21 (11%); L4 — 7 (3,6%); L5 — 4 (2,3%); повреждения 2 и более позвонков — 18 (9,3%). Распределение переломов позвонков по классификации АО представлено в таблице 1.

На момент получения травмы возраст больных составлял от 15 до 62 лет.

Всем больным (192 пациента) первым этапом произведен остеосинтез позвоночника аппаратом внешней фиксации по описанной ранее методике, а 109 из них после этого произведен второй этап оперативного лечения — передний или передне-боковой спондилодез.

Результаты исследования. По итогам обследования пациентов в сроки от 1 до 11 лет полученные результаты можно разделить следующим образом:

- переломы стержней конструкции с неудаленными фрагментами фиксатора — 52 случая (27%);
- замедленная консолидация отмечалась у 33 больных (17%);
- воспаление мягких тканей, носившее поверхностный характер, однако повлекшее за собой удаление стержня — 28 (14,5%);
- проведение стержней вне анатомических ориентиров (мальпозиция) — 11 (5,5%);
- наличие кифотической деформации, значительно влияющей на изменение оси позвоночника в боковой проекции — 10 (5,2%);
- поверхностное воспаление мягких тканей — 6 (3%).

Из 52 больных с переломами стержней у 36 пациентов был сломан 1 стержень; у 13 — 2; у 3 — 3.

Из них у 15 (29% от общего числа пациентов со сломанными стержнями; 7,8% от общего числа пациентов) пациентов проведено одноэтапное оперативное лечение (рис. 1, 2), у 37 (71% от общего числа пациентов со сломанными стержнями; 19,2% от общего числа пациентов) — вторым этапом произведен передний спондилодез.

Таким образом, обращает на себя внимание тот факт, что в группе пациентов с выполненным спондилодезом число переломов стержней значительно больше, чем в группе одноэтапного лечения. Интересно, что из трех пациентов с переломами 3 стержней у двоих был выполнен спондилодез.

Наличие кифотической деформации позвоночника за счет клиновидной деформации сломанного позвонка (рис. 4–6) отмечено у 10 больных (5% от общего числа пациентов). При этом в группе одноэтапного лечения данное осложнение отмечено у 7 пациентов (3,6% от общего числа пациентов; 8,6% от числа пациентов в группе

Таблица 1. Распределение переломов позвонков по классификации АО

Повреждения типа А		Повреждения типа В		Повреждения типа С	
Тип	Количество пациентов	Тип	Количество пациентов	Тип	Количество пациентов
A.1.1	4	B.1.1.1	30	C.1.3.1	20
A.1.2	8	B.1.2.1	5	—	—
A.1.3	3	B.2.1	5	—	—
A.2.1	5	B.2.2.1	4	—	—
A.2.2	7	B.2.3.1	5	—	—
A.2.3	67	B.3.1.1	4	—	—
A.3.1.1	8	B.3.2	2	—	—
A.3.2.1	5	—	—	—	—
A.3.3.1	3	—	—	—	—
A.3.3.3	7	—	—	—	—



Рис. 1. Клиновидная деформация позвонка, кифотическая деформация переходного отдела позвоночника



Рис. 2. Определяется перелом 3 резьбовых стержней в аппарате внешней фиксации, деформация не устранена



Рис. 3. Оскольчатый перелом позвонка, кифотическая деформация позвоночника



Рис. 4. Произведен остеосинтез позвоночника аппаратом внешней фиксации, передний спондилодез. Все виды деформаций устранены



Рис. 5. Демонтаж аппарата внешней фиксации, имеется перелом 1 резьбового стержня. Достигнутая коррекция деформации сохраняется



Рис. 6. Результат лечения через 1 год. Произошло рассасывание трансплантата, рецидив деформации позвоночника на уровне сломанного позвонка

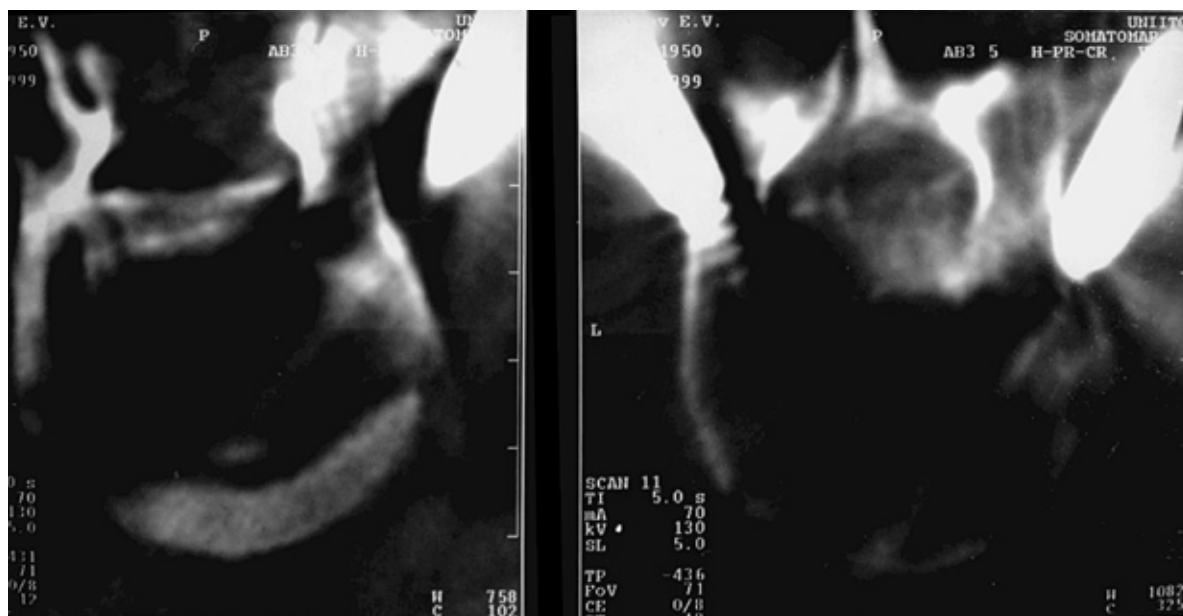


Рис. 7. Резьбовые стержни проведены экстрапедикулярно

одноэтапного оперативного лечения): у 4 — переломы стержней, у 3 — конструкция была стабильной.

В группе двухэтапного лечения — у 3 пациентов (1,5% от общего числа пациентов; 2,75% от числа пациентов в группе двухэтапного оперативного лечения) — у 2 — переломы стержней, у 1 — конструкция была стабильной.

Таким образом, обращает на себя внимание тот факт, что в группе пациентов с выполненным спондилодезом число кифотических деформаций меньше, чем в группе одноэтапного лечения.

Женщин среди пациентов с переломами конструкций — 18 (35%), мужчин 34 (65%), причем все три пациента с переломами 3 стержней — мужчины. Сочетание перелома стержней с кифотической деформацией, значимо влияющей на изменение оси позвоночника в боковой проекции, обнаружено у 6 пациентов. У всех пациентов замедленная консолидация сочеталась с воспалением (поверхностным или глубоким) в области аппарата внешней фиксации.

У 11 пациентов (5,5% от общего числа больных) резьбовые стержни были проведены мимо анатомических ориентиров (рис. 7).

Воспаление мягких тканей, носившее поверхностный характер, не приведшее к развитию спондилита отмечено в 3% случаев. Кажется, что данный показатель можно рассматривать как весьма оптимистичный, так как полученные показатели можно сравнивать с данными иностранной и отечественной литературы. Однако при работе с историями болезни пациентов складывается впечатление, что в ряде случаев нагноение послеоперационной раны, наличие свища не выносятся в диагноз, и, соответственно, не может быть документированно отнесено к данной категории осложнений. Тем не менее,

наличие записей о ежедневных перевязках, длительное применение антибиотиков широкого спектра действия, результаты посевов, данные осмотра области операции свидетельствуют об обратном.

Обсуждение результатов исследования. Для осмысления причин неудовлетворительных результатов следует классифицировать все возможные ошибки и осложнения. К тактическим ошибкам относятся: недооценка плотности фиксируемого (-ых) позвонка (-ов); отступление от биомеханически обоснованного варианта компоновки устройства, недоучтенные индивидуальные особенности позвонка. К техническим ошибкам относятся: проведение резьбовых стержней вне дужек позвонков и выход их за пределы тела позвонка; использование резьбовых стержней, не соответствующих (как в сторону увеличения, так и уменьшения) максимальному поперечному размеру ножек дужек позвонка; многократное формирование канала для резьбового стержня. Также следует выделять воспалительные осложнения — в мягких тканях (свищ, абсцесс, флегмона); спондилит, менингит и миелиты.

Переломы стержней конструкции с неудаленными фрагментами фиксатора стали наиболее частым осложнением — 52 случая (27%). Во избежание ситуаций, связанных с техническими недостатками металлоконструкций, предлагается применение только сертифицированной и лицензированной продукции. Профилактика переломов конструкции заключается в широком использовании переднего спондилодеза. Показанием к нему является наличие клиновидной деформации сломанного позвонка при неэффективном закрытом лигаментотаксисе в сочетании с вертебро-медуллярным конфликтом 2 и более степеней. Тем не менее, тот факт, что у пациентов с выполненным передним спондилоде-

зом переломы стержней конструкции встречаются чаще, чем без спондилодеза, требует тщательного осмысления. Эту ситуацию невозможно объяснить длительной фиксацией позвоночника аппаратом, так как сроки фиксации при проведенном спондилодезе практически в два раза меньше таковых в группе одноэтапного лечения. Возможно лишь одно объяснение данной ситуации — это менее строгий ортопедический режим у данной категории пациентов. Вместе с этим осложнением следует рассматривать и формирование вторичной послеоперационной кифотической деформации, значимо влияющей на изменение оси позвоночника в боковой проекции, встретившееся в исследовании в 5,2% случаев. Тот факт, что кифотическая деформация преобладала в группе пациентов, получивших одноэтапное оперативное лечение, укладывается в общепринятую концепцию 360° С спондилодеза как наиболее эффективного способа фиксации позвоночника.

Замедленная консолидация отмечалась у 33 больных (17%), и в ее основе лежат особенности иммунологической реактивности организма. Нами предложен «Способ прогнозирования послеоперационных осложнений в травматологии и ортопедии» (Патент Российской Федерации 2331888), позволяющий снижать риск возникновения или предупреждать развитие данного вида осложнения.

Проведение стержней мимо анатомических ориентиров, встретившееся в 5,5% случаев, нами расценивается как погрешность оперативного приема и профилактируются путем тщательного планирования оперативного лечения каждого пациента не по стандартным схемам, а с учетом анатомо-физиологических особенностей поврежденного позвоночного двигательного сегмента. Так, нами предложены «Устройство для введения винтов для транспедикулярной фиксации позвонков» (Патент Российской Федерации на полезную модель 84212) и «Устройство для проведения резьбовых винтов при транспедикулярной фиксации позвонков» (Патент Российской Федерации на полезную модель 92611). Применение данных устройств позволяет избежать мальпозиции стержней.

Для профилактики воспаления мягких тканей, встретившегося в общей сложности в 17,5% случаев, нами предложен «Способ прогнозирования воспалительных осложнений при операциях, связанных с введением металлических конструкций в костную ткань» (Патент Российской Федерации 2314538), что позволяет снизить риск развития воспалительных осложнений.

На наш взгляд, ведение пациента в послеоперационном периоде должно быть индивидуализировано, начало нагрузок должно быть связано не со средними стандартными сроками наступления консолидации, а с особенностями пластических процессов в каждом отдельном случае. Несанкционированные же лечащим врачом попытки ходьбы, сидения, прекращения фиксации корсе-

том и выполнения физических нагрузок должны быть предупреждаемы четкими инструкциями лечащего врача, зафиксированными в медицинской документации.

Таким образом, исходя из полученных данных, следует, что для оптимизации исходов оперативного лечения неосложненных переломов позвоночника методом внеочагового остеосинтеза (как одно-, так и двухэтапным) необходимо применять комплекс мер, направленных на прогнозирование вероятных осложнений и их организационную и хирургическую профилактику.

Выводы

1. При сохранении клиновидной деформации позвонка в условиях остеосинтеза позвоночника аппаратом внешней фиксации необходимо проведение переднего спондилодеза.
2. Применение второго этапа оперативного лечения — переднего спондилодеза позволяет эффективно профилактировать возникновение вторичной кифотической деформации.
3. Для профилактики замедленной консолидации и воспаления мягких тканей необходимым является широкое применение иммунологического мониторинга.

Литература

1. Афаунов А.А. Хирургическое лечение посттравматических деформаций грудного и поясничного отделов позвоночника / А.А. Афаунов, А.И. Афаунов, А.В. Кузьменко [и др.] // Травматология и ортопедия России. — 2008. — № 3 (49). — С. 73–74.
2. Жупанов А.С. Применение малоинвазивных методик хирургического лечения неосложненных переломов позвонков нижнегрудной и поясничной локализации / А.С. Жупанов, К.С. Сергеев, Р.В. Паськов, А.Ю. Базаров, А.О. Фарйон, В.В. Гусев // Актуальные проблемы травматологии и ортопедии: материалы третьего Западно-Сибирского симпозиума, посвященного 5-летию образования центра травматологии и ортопедии при ОКБ №2 г. Тюмени / Под ред. проф. К.С. Сергеева, 22–23 сентября 2009 года. — Тюмень: Изд-во ООО «Печатник», 2009. — С. 31–32.
3. Лавруков А.М. Возможности внеочагового остеосинтеза у больных с повреждениями и заболеваниями позвоночника / А.М. Лавруков, Д.И. Глазырин, А.Б. Томилов // Проблемы хирургии позвоночника и спинного мозга: тезисы Всероссийской научно-практической конференции / Под ред. Н.Г. Фомичева. — Новосибирск, 1996. — С. 32–33.
4. Система оперативного лечения повреждений позвоночника с применением технологий Уральского НИИ травматологии и ортопедии / А.М. Лавруков, А.Б. Томилов, Е.В. Плахин, К.А. Бердюгин // Научно-исследовательская работа Уральского НИИ травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина, 2001–2005: сборник статей. — Екатеринбург: Издательский дом «Автограф», 2006. — С. 45–50.
5. Лавруков А.М. Остеосинтез аппаратом внешней фиксации у больных с повреждениями и заболеваниями позвоночника / А.М. Лавруков, А.Б. Томилов. — Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2002. — 206 с.
6. Прудникова О.Г. Осложнения наружного транспедикулярного остеосинтеза при коррекции посттравматических деформаций поз-

воночника / О.Г. Прудникова, А.Т. Худяев, П.И. Коваленко // Травматология и ортопедия России. — 2008. — № 3 (49). — С. 105–106.

7. Томилов А.Б. Транспедикулярный спондилодез в системе лечения повреждений позвоночника и спинного мозга / А.Б. Томилов, Ю.В. Химич // Травматология и ортопедия России. — 2008. — № 3 (49). — С. 116–117.

8. Arnold W. Operative fruhbehandlung mit dem fixateur externe bei traumatischer querschnittslamungen / W. Arnold // Beitr. Orthop. Traum. — 1985. — N 32. — S. 6–14.

9. Arnold W. Zur Anwendung des Fixateur externe / W. Arnold, U. Geissler // Beitr. Orthop. Traum. — Berlin-33. — 1986. — N 6. — S. 277–286.

10. Kluger G. Das mehanische Prinzip des Fixateur externe zur dorsalen Stabilisierung der Burst- und Lendenwirbelsaule / G. Kluger, H.J. Gerner // Unfallchir. — 1986. — Bd. 12, N 2. — S. 68–79.

11. Knopf W. Der Fixateur externe als definitive Behandlungsmethode fur instable thorakolumbale Wirbelbruche unter Notfallbedingungen. Technische Modification und klinische Erfahrungen / W. Knopf, N. Paech, R. Klotzer // Beitr. Orthop. Traum. — Berlin-36. — 1989. — N 3. — S. 96–103.

12. Steffee A.D. The variable screw placement spinal fixation system / A.D. Steffee, J.W. Brantigan // Spine. — 1993. — Vol. 18, N 9. — P. 1160–1172.

ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО

Всероссийская школа «Проточная цитометрия в клинической лабораторной диагностике», Санкт-Петербург, с 14 по 19 марта 2011 года

Дорогие коллеги!

Приглашаем вас принять участие в работе пятого заседания всероссийской школы «Проточная цитометрия в клинической лабораторной диагностике».

Лекции и практические занятия организованы в форме повышения квалификации врачей клинической лабораторной диагностики, аллергологов-иммунологов, гематологов, а также врачей других специальностей, научных сотрудников, аспирантов, ординаторов и студентов

В программу включены:

- Лекции по диагностической и клинической иммунологии.
- Практическая работа на проточных цитометрах компании Beckman Coulter FC-500.
- Клинические разборы типичных и спорных случаев.

Организаторы Школы:

- Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова.
- Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины.
- Центр лабораторной диагностики.
- **Лаборатория клинической иммунологии и молекулярной диагностики.**
- Российская Ассоциация Медицинской Лабораторной Диагностики Компания Beckman Coulter.

Место проведения:

Центр лабораторной диагностики Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, 197089, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6/8, immunology.spbgmu@gmail.com, yekaterina.zueva@gmail.com

Вся информация имеется на сайте www.immunologica.ru

Оргкомитет ответит на любые Ваши вопросы

тел. 8-812-234-3407, факс 8-812-233-9726, моб. 8921-866-6373.

Русанова Екатерина Борисовна, к.б.н.,

Горчакова Маргарита Валерьевна, Слободнюк Константин Юрьевич,

Зуева Екатерина Евгеньевна, д.м.н., профессор, зав. лабораторией клинической иммунологии и молекулярной диагностики СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Проблема безопасности клинического персонала, а также качества лабораторной диагностики во многом зависит от правильности выполнения так называемого преаналитического этапа лабораторного анализа и, прежде всего, забора крови и сбора иных биологических материалов. Отрадно отметить, что понимание важности этого звена диагностики привело к повсеместному переходу на применение одноразовых вакуумных систем для взятия крови, использование иных одноразовых изделий для сбора биоматериала (моча, кал и т. д.) и выполнения непосредственно лабораторного анализа. Однако широкое применение одноразовых материалов, контактирующих с биологическим материалом, делает их потенциально опасными с точки зрения инфектологии и, неизбежно, порождает новые проблемы для организаторов здравоохранения.

Редакция журнала предоставляет вниманию читателей методические указания, утвержденные и введенные в действие Главным государственным санитарным врачом Омской области, руководителем Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Омской области А.С. Кригой 01.06.2009 г. По мнению редколлегии журнала, данный опыт может быть с успехом использован повсеместно в учреждениях здравоохранения нашей страны.

Редколлегия просит читателей высказаться о целесообразности утверждения предоставляемого для обсуждения нормативного документа. (С авторским коллективом МУ согласовано.)

Отзывы просим присылать по адресу:
ejvcons@mail.ru

УДК 615.471: 616.15-074-7

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ, ПОРЯДОК ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ И УТИЛИЗАЦИИ ОДНОРАЗОВЫХ ВАКУУМНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ВЗЯТИЯ ПРОБ КРОВИ И ЛАБОРАТОРНОГО РАСХОДНОГО ПЛАСТИКА ОДНОКРАТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Т.И. ДОЛГИХ¹, В.А. СТАСЕНКО¹, П.А. УСКОВ², М.А. ВАЙТОВИЧ², М.Ф. ЕРОФЕЕВА²,
Т.А. СЕМЕНОВА², Ю.В. ЕРОФЕЕВ³, А.А. КИШКУН⁴

¹ ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

² Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Омской области

³ Министерство здравоохранения Омской области

⁴ ГОУ ДПУ Российской медицинской академии последипломного образования

Резюме. В настоящем документе изложены рекомендации по использованию современных технологий взятия проб крови с применением закрытых систем (вакутейнеров) и лабораторного пластика однократного применения для эпидемиологических, профилактических, диагностических, научно-исследовательских и учебных целей, а также их сбору, транспортировке, обеззараживанию и утилизации в учреждениях здравоохранения любых организационно-правовых форм собственности, в центрах гигиены и эпидемиологии, в научно-исследовательских институтах и лабораториях, в медицинских вузах.

Ключевые слова: одноразовые вакуумные системы, лабораторный расходный пластик, рекомендации по дезинфекции и утилизации.

WAY OF USE, DISINFECTION AND UTILIZATION OF SINGLE USE VACUUM SYSTEMS FOR BLOOD SAMPLES AND SINGLE USE LABORATORY PLASTICS

T.I. DOLGIH¹, V.L. STASENKO¹, P.A. USKOV², M.A. VAITOVICH², M.F. EROFEEVA²,
T.A. SEMENOVA², JU.V. EROFEEV³, A.A. KISHKUN⁴

¹ State Educational Institution of Higher Professional Education "Omsk State Medical Academy, Federal Agency for Health Care and Social Development"

² Department of Federal Service for customer's right and people's wellbeing supervision in Omsk District

³ Ministry of Health Care of Omsk district

⁴ State Educational Institution of Additional Professional Education "Russian Medical Academy of Postgraduate Education"

Summary. *Present document presents recommendations concerning the modern technologies of blood samples obtaining with the use of closed systems (vacuteiners) and single use laboratory plastics for epidemiological, preventional, diagnostic, scientific and educational purposes. As well, the article discusses the rules of collection, transport, disinfection and utilization of these systems and single use laboratory plastic. These recommendations and rules should be used in all health care institutions, independently on their property, as well as in hygiene and epidemiology centers, scientific research institutes and laboratories and in medical higher educational institutions.*

Key words: *single use laboratory plastic; vacuum systems; rules of disinfection and utilization.*

1. Область применения

1.1. В настоящем документе изложены рекомендации по использованию современных технологий взятия проб крови с применением закрытых систем (вакутейнеров) и лабораторного пластика однократного применения для эпидемиологических, профилактических, диагностических, научно-исследовательских и учебных целей, а также их сбору, транспортировке, обеззараживанию и утилизации в учреждениях здравоохранения любых организационно-правовых форм собственности, в центрах гигиены и эпидемиологии, в научно-исследовательских институтах и лабораториях, в медицинских вузах.

1.2. Методические указания направлены на стандартизацию лабораторных исследований, на обеспечение безопасности пациентов, медицинских работников, научных сотрудников, преподавательского состава и обучающегося контингента при взятии проб крови и проведении анализа, а также персонала, занимающегося сбором, временным хранением, транспортированием, обеззараживанием, уничтожением, утилизацией (переработкой) инфицированных медицинских отходов, на обеспечение защиты окружающей среды.

1.3. Предназначены для физических и юридических лиц, независимо от организационно-правовых форм собственности и ведомственной принадлежности, использующих в своей деятельности одноразовые вакуумные системы и ланцеты для взятия крови, расходный пластик однократного применения на этапах пробоподготовки и выполнения анализов, а также занимающихся сбором, транспортированием, обеззараживанием и утилизацией медицинских отходов.

1.4. Методические указания рекомендуются для лабораторий любых категорий: *клинико-диагностических; экспресс-лабораторий; серологических; иммунологических; микробиологических (бактериологические, микологические); паразитологических; вирусологических; лабораторий, занимающихся диагностикой ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов; ПЦР-лабораторий; научных и учебных лабораторий, использующих в своей деятельности кровь и иной потенциально опасный биологический материал.*

Они могут быть использованы органами, осуществляющими государственный санитарно-эпидемиологический надзор.

1.5. В методических указаниях изложены меры по снижению риска инфицирования как пациента при за-

боре крови, так и медицинского персонала, научных сотрудников, лаборантов-исследователей, преподавательского состава и обучающегося контингента (врачи, средний медицинский персонал, студенты) — при взятии проб крови, сборе и транспортировании биоматериала в лаборатории внутри учреждения и в централизованные лаборатории, при проведении исследований с применением рутинных методов и автоматизированных систем анализа, а также по выполнению основных правил по технике безопасности при обращении с биоматериалом и расходным лабораторным пластиком, по соблюдению порядка действий при аварийных ситуациях.

2. Общие положения

2.1. В целях предупреждения возникновения, распространения инфекционных заболеваний человека и исключения возможности заражения пациента и медицинского персонала в процессе взятия проб крови, а также медицинского персонала и иного контингента при транспортировании и на этапах выполнения лабораторных исследований (*преаналитическом, аналитическом и постаналитическом*) необходимо своевременно и в полном объеме проводить санитарно-противоэпидемические (профилактические) мероприятия, регламентированные соответствующими нормативными и методическими документами.

2.2. Внедрение в работу учреждений здравоохранения, центров гигиены и эпидемиологии, НИИ, специализированных центров и медицинских вузов автоматизированных систем анализа (*гематологических, биохимических, иммуноферментных и иммунохимических анализаторов, автоматов-коагулометров, проточных цитофлюориметров, анализаторов белков, газов крови и микроэлементов, микробиологических анализаторов и др.*) и широкое использование высокочувствительных методов (иммуноферментного анализа — ИФА; иммунохимического анализа; полимеразной цепной реакции — ПЦР; иммунофлюоресценции на основе биочиповых технологий, иммуноблотинга и др.) диктует необходимость использования пробирок и иного расходного пластика однократного применения, что обеспечивает наряду с безопасностью персонала стандартизацию преаналитического этапа, повышает достоверность анализа.

2.3. Для взятия проб венозной крови следует использовать закрытые вакуумные системы (*вакутейнеры*),

а для капиллярной крови — ланцеты. Для обследования новорожденных рекомендуется забор крови из пятки с помощью нетравматичных скарификаторов — ланцетов.

2.4. В лабораторной практике в качестве одноразовых изделий медицинского назначения используются: *вакуумные и иные пластиковые пробирки для доставки крови в лаборатории и проведения анализа, иммунологические планшеты, кюветы, наконечники для пипеточных дозаторов, пробирки Эппендорфа, коллекторы и контейнеры для сбора различного биоматериала, шпатели и др.*

Любой расходный пластик однократного применения, использованный при взятии проб крови и проведении лабораторных исследований, контактирующий с биоматериалом (*цельной кровью, сывороткой, плазмой, фракциями крови, ликвором и др.*), принадлежит к медицинским отходам, потенциально опасным в отношении возникновения и распространения инфекционных заболеваний, и относится к медицинским отходам класса Б или В.

2.5. Мероприятия по обеззараживанию и утилизации одноразовых вакуумных систем для взятия крови и иного расходного пластика должны проводиться в соответствии с требованиями санитарных правил и иных нормативных правовых актов Российской Федерации.

2.6. Контроль соблюдения мероприятий по обеззараживанию и утилизации одноразовых вакуумных систем для взятия крови и иного лабораторного расходного пластика осуществляют органы государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

3. Характеристика одноразовых вакуумных систем для взятия крови.

Организация работы в процедурном кабинете

3.1. Одноразовые вакуумные системы для взятия крови являются изделиями медицинского назначения, обеспечивающими проведение манипуляций по забору крови для лабораторных исследований. Они состоят из двусторонней иглы, закрытой защитными колпачками, держателя и стерильных одноразовых пробирок с дозированным содержанием вакуума и различными химическими реактивами-наполнителями. Перед началом процедуры игла вкручивается в держатель, после чего проводится венепункция, затем на второй конец иглы, находящийся в держателе, насаживаются поочередно вакуумные пробирки.

3.2. Для взятия венозной крови с тыльной стороны кисти и иных труднодоступных мест рекомендуется использовать иглы-«бабочки» в комплекте с адаптером и катетером.

3.3. Для каждого пациента следует использовать новую одноразовую вакуумную систему или ланцет для взятия крови, при этом проверяют срок годности и целостность упаковки системы. При выявлении наруше-

ний непригодная система использованию не подлежит, её помещают в емкость «Для отходов класса А».

3.4. В процедурном кабинете выделяют асептическую, рабочую, хозяйственную зоны и обеспечивают исключение перекреста чистого и «грязного» потоков.

3.4.1. Забор крови и заполнение медицинской документации осуществляется в рабочей зоне. На манипуляционном столе размещается набор для забора крови из периферической вены пациента: лоток для использованных материалов; вакуумные шприцы — контейнеры; упаковка с 2 стерильными салфетками или шариками; кожный антисептик; жгут; ножницы; перчатки.

3.4.2. В хозяйственной зоне располагается раковина, тумбочка с дезинфицирующими средствами. Необходимо иметь 2 емкости с дезинфицирующими растворами «Для поверхностей», «Для дезинфекции инструментов многократного использования», «Для дезинфекции отходов класса Б» и контейнер «Для сбора колющих и режущих инструментов», мягкую упаковку (одноразовый пакет), закрепленную на специальной стойке (тележке), желтого цвета для сбора обеззараженных отходов класса Б. Многоразовая емкость или одноразовый пакет белого цвета для сбора отходов класса А.

3.4.3. Медицинский персонал при заборе крови использует защитную одежду: медицинский халат или костюм; шапочку или косынку; обувь, подлежащую дезинфекции; маску однократного применения; разовые перчатки; пластиковые очки или лицевую маску «Барьер».

3.4.4. После окончания процедуры взятия крови одноразовая игла, защитный колпачок и одноразовый держатель остаются на месте проведения манипуляции по забору крови (процедурный кабинет, реанимационная палата и т. п.). И использованные иглы и держатели помещают в контейнер «Для сбора колющих и режущих инструментов».

Защитный колпачок, отработанные салфетки, перчатки помещают в контейнер «Для дезинфекции отходов класса Б». Можно использовать контейнер с вложенным пластиковым мешком с отверстиями для слива раствора (желтого цвета для сбора отходов класса Б), предназначенного для дезинфекции. В этом случае после экспозиции и слива раствора его помещают в дополнительный одноразовый, герметичный пакет для герметизации и транспортирования.

Лоток для использованных материалов помещают в емкость «Для дезинфекции инструментов».

Неинфицированные бумагу, упаковочный материал помещают в многоразовую емкость с одноразовым пакетом белого цвета, для сбора отходов класса А.

Пробирки с кровью помещают в штативы в контейнерах с закрытыми крышками и транспортируют к месту исследования.

3.4.5. Перед каждым пациентом рабочие горизонтальные поверхности протираются салфеткой, смоченной в дезинфицирующем растворе в емкости «Для поверхностей». Руки персонал моет с мылом, обрабатывает антисептиком, надевает разовые перчатки.

3.5. Техника проведения манипуляции с использованием одноразовых вакуумных систем для взятия крови требует определенных навыков, в связи с чем медицинским работникам необходимо предварительное обучение в соответствии с инструкцией по применению.

3.6. Применение одноразовых вакуумных систем для взятия крови обеспечивает безопасность медицинского персонала за счет исключения контакта с кровью пациентов, соблюдение асептических условий для предотвращения инфицирования пациентов в процессе выполнения манипуляций по взятию крови, повышение качества результатов лабораторных исследований, снижение затрат на повторное исследование ввиду получения некорректного результата и дезинфекцию.

3.7. Положительными факторами при использовании одноразовых вакуумных систем являются:

- стандартизация условий взятия крови;
- быстрота и удобство отбора проб;
- возможность визуального контроля тока крови при использовании игл с прозрачной камерой;
- снижение болевых ощущений у пациента в связи с применением сверхострых игл;
- снижение частоты гемолиза на этапе взятия крови;
- стандартизация пробоподготовки и сокращение числа операций по подготовке образца крови для лабораторных исследований;
- безопасный процесс транспортирования и центрифугирования за счет применения небьющихся пластиковых пробирок и плотно прилегающих крышек, исключающих выброс аэрозоля в окружающую среду;
- возможность прямого использования в качестве первичной пробирки в целом ряде автоматических анализаторов за счет их совместимости с приборами;
- снижение ошибок при лабораторных исследованиях за счет специальной конструкции пробирок и их наполнения;
- уменьшение риска профессионального инфицирования (исключается контакт медперсонала с кровью на всех этапах взятия крови и ее транспортировки, использование игл с дополнительным защитным колпачком практически исключает риск случайной травмы от укола иглой),

- невозможность повторного применения вакуум содержащих систем,
- сокращение затрат на мойку, дезинфекцию и стерилизацию пробирок,
- возможность сбора на рабочих местах закрытых вакуумных пробирок с отработанным биоматериалом в одноразовые пакеты для медицинских отходов класса Б или В и в контейнеры для хранения и дезинфекции,
- возможность дезинфекции с применением СВЧ-технологии, автоклавирования или утилизации путем сжигания и исключения химического способа дезинфекции и последующего негативного влияния дезинфектантов на здоровье персонала лабораторий.

4. Порядок сбора, обеззараживания, временного хранения, транспортирования, уничтожения, утилизации (переработки) одноразовых вакуумных систем для взятия крови и расходного лабораторного пластика

4.1. Сбор, временное хранение, транспортирование, уничтожение и утилизацию (переработку) использованных одноразовых вакуумных систем, ланцетов и иного расходного пластика осуществляют в соответствии с санитарными правилами и нормами «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений», СанПиН 2.1.7.728-99.

4.2. Для обеззараживания вакуумных систем и иного расходного материала однократного применения рекомендуются физический и химический методы. Следует отдать предпочтение физическому (термическому) методу дезинфекции (автоклавирование, СВЧ-технология). Для дезинфекции пробирок с разделительным гелем следует применять только физический метод дезинфекции ввиду сложности отделения геля и сгустка крови.

4.3. Для дезинфекции игл используется исключительно физический метод, в связи с отсутствием безопасного способа заполнения канала иглы дезинфицирующим раствором после использования одноразовой вакуумной системы для взятия крови. После взятия пробы крови у пациента иглу следует сбросить в контейнер для использованных острых предметов, не вынимая иглу из держателя и не надевая на нее защитный колпачок, которым она была закрыта до начала процедуры. В целях безопасности запрещается разбирать иглу и держатель в руках. Поскольку повторное использование держателя требует отсоединения потенциально контаминированной иглы, медицинский персонал, проводящий манипуляцию, подвергается риску случайного укола и заражения гемоконтактными инфекциями. Вследствие этого в целях безопасности применение многоразовых держателей рекомендуется исключить.

4.4. Для безопасного и удобного хранения, транспортирования и последующего обеззараживания использованных игл и держателей вакуумных систем рекомендуется использовать непрокальваемые, водостойкие безопасные контейнеры на 50, 100 и более игл, разрешенные к применению для этих целей в Российской Федерации.

4.5. Физические методы обеззараживания.

4.5.1. Метод обеззараживания пластмассовых изделий однократного применения, в том числе игл, насыщенным водяным паром в паровых стерилизаторах (автоклавах) применяют в соответствии с «Методическими указаниями по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» от 30.12.1998 МУ № 287-113.

4.5.2. Разрешается использование централизованной автоклавной, предназначенной для дезинфекции, и/или СВЧ-печи в учреждении при условии транспортировки биксов или контейнеров с отработанными системами (пробирками) в безопасных условиях из процедурных кабинетов, отделений, лабораторий и других подразделений учреждения.

4.5.3. При использовании данного метода обеззараживания медицинские отходы класса Б и В помещают в специальный паропроницаемый пакет однократного применения, устойчивый к воздействию высокой температуры и предназначенный для стерилизации изделий медицинского назначения. Данный пакет закрепляют на стойке-тележке внутри пакета однократного применения, предназначенного для сбора отходов с соответствующей классу опасности Б и В цветовой и текстовой маркировкой, или надевают на емкость (контейнер с крышкой) однократного применения с соответствующей классу отходов Б и В цветовой и текстовой маркировкой. После заполнения пакета на 3/4 объема его герметизируют и доставляют в емкости (контейнере) с закрытой крышкой или в пакете, предназначенном для сбора медицинских отходов, соответствующей цветовой маркировки, с помощью стойки-тележки к месту обеззараживания.

После доставки к месту обеззараживания паропроницаемый пакет извлекают из емкости (контейнера) или наружного пакета, предназначенного для сбора, транспортирования и временного хранения медицинских отходов классов Б и В, помещают в автоклав.

4.5.4. Контейнеры с необеззараженными иглами (иглосъемники, иглоотсекатели) после их заполнения на 3/4 объема закрывают крышкой и доставляют с помощью стойки-тележки к месту обеззараживания. Для обеззараживания контей-

неры с иглами помещают в автоклав, предварительно приоткрыв крышки для того, чтобы пар мог проникнуть внутрь емкости. После проведенного цикла дезинфекции контейнеры (иглосъемники, иглоотсекатели) плотно закрывают крышками (герметизируют), упаковывают в наружный пакет однократного применения, предназначенный для сбора отходов с соответствующей классу опасности Б и В цветовой и текстовой маркировкой, герметизируют и доставляют посредством стойки-тележки в помещение временного хранения отходов (в мини-контейнер) до окончания времени рабочей смены с целью последующего транспортирования к месту уничтожения или утилизации.

4.5.5. Режимы обеззараживания одноразовых вакуумных систем для взятия крови и других медицинских отходов класса Б и В методом автоклавирования в паровых стерилизаторах (автоклавах) следующие: при $126 \pm 2^\circ \text{C}$ и давлении $1,5 \text{ кгс/см}^2$ ($0,15 \text{ МПа}$) в течение 60 минут или при $132 \pm 2^\circ \text{C}$ и давлении $2,0 \text{ кгс/см}^2$ ($0,2 \text{ МПа}$) в течение 45 минут в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

4.5.6. Метод обеззараживания пластмассовых изделий однократного применения в установке УОМО-01/150 (УОМО-02/90) путем воздействия электромагнитного излучения сверхвысокой частоты и влажного пара (при температуре 100°C в течение 60 мин.) применяют в соответствии с методическими рекомендациями «Использование электромагнитного излучения сверхвысокой частоты для обеззараживания инфицированных медицинских отходов», утвержденными ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора от 06.05.06 N 02.007.06.

При использовании данного метода обеззараживания медицинские отходы класса Б или В помещают в пакет однократного применения, закрепленный на емкости (контейнере) однократного применения или стойке-тележке и предназначенный для сбора отходов с соответствующей классу опасности Б и В цветовой и текстовой маркировкой. По заполнении пакета на 3/4 объема его герметизируют и доставляют посредством стойки-тележки непосредственно к месту обеззараживания. Медицинские отходы в пакетах однократного применения помещают в специальный полипропиленовый бак, который придается к установке УОМО-01/150 (УОМО-02/90), с предварительно вставленным в него полипропиленовым пакетом. В полипропилено-

вый пакет добавляется 2 л специального сенсibiliзирующего раствора.

Иглосъемники (емкости иглоотсекателей) со снятыми (отсеченными) необеззараженными иглами после их заполнения на 3/4 объема закрывают крышками и доставляют посредством стойки-тележки к месту обеззараживания.

Иглосъемники (емкости иглоотсекателей) со снятыми (отсеченными) необеззараженными иглами помещают в центре бака над пакетами с одноразовыми шприцами без игл. Перед помещением иглосъемников (емкостей иглоотсекателей) с иглами в бак, в них добавляют сенсibiliзирующий раствор так, чтобы иглы были полностью погружены в раствор.

- 4.5.7. После проведенного цикла обеззараживания одноразовые изделия, пробирки, иглосъемники (емкости иглоотсекателей), находящиеся в полипропиленовом пакете, упаковывают в наружный пакет однократного применения, предназначенный для сбора отходов с соответствующей классу опасности Б и В цветовой и текстовой маркировкой, который затем герметизируют и доставляют посредством стойки-тележки в помещение временного хранения отходов (в мини-контейнер) до окончания времени рабочей смены с целью последующего транспортирования к месту уничтожения или утилизации.

4.6. Автоклавирование проводится персоналом, имеющим свидетельство об окончании специальных курсов. Контроль работы паровых стерилизаторов, используемых для обеззараживания материалов, проводят согласно действующим инструктивно-распорядительным и методическим документам физическим, химическим и биологическим методами.

4.7. Для контроля качества дезинфекции при термическом обеззараживании используют термохимические индикаторы, максимальные термометры, биологические тесты в соответствии с требованиями. Контроль эффективности обеззараживания паром осуществляется при каждом цикле обеззараживания с применением термохимических индикаторов, соответствующих режимам обеззараживания.

4.8. Бактериологический контроль работы стерилизаторов проводят после монтажа и ремонта аппаратуры, а также в процессе эксплуатации (плановый — 2 раза в год и при получении неудовлетворительных результатов контроля).

4.9. Контроль качества обеззараживания пластмассовых изделий однократного применения осуществляют в соответствии с программой производственного контроля ЛПУ.

4.10. Химический метод.

4.10.1. При отсутствии возможности дезинфекции физическим методом альтернативным методом обеззараживания пластмассовых изделий одно-

кратного применения, за исключением пробирок с разделительным гелем, может быть химический метод.

4.10.2. Медицинские отходы класса Б и В должны быть подвергнуты обязательной дезинфекции перед сбором в одноразовую упаковку непосредственно на местах первичного сбора отходов методом погружения в дезинфицирующий раствор, подготовленный в специально выделенной для этой цели емкости. Если в лаборатории невозможно организовать обеззараживание на рабочем месте, то все медицинские отходы передаются в моечную для проведения дезинфекционных мероприятий.

4.10.3. Дезинфекция отходов классов Б и В производится в соответствии с действующими нормативными документами. Для дезинфекции пластмассовых изделий однократного применения используют дезинфицирующие средства, имеющие свидетельство о государственной регистрации, сертификат соответствия и методические указания (инструкции) по их применению. Концентрацию дезинфицирующего средства и время экспозиции определяют в соответствии с методическими указаниями (инструкцией) по его применению с учетом режима, эффективного в отношении возбудителей инфекционных заболеваний, на которые ориентировано учреждение здравоохранения, и режимов, рекомендуемых для дезинфекции изделий медицинского назначения при вирусных инфекциях.

Дезинфицирующий раствор в емкостях меняют по окончании смены работы. Периодичность смены раствора в емкостях может быть определена в соответствии с методическими указаниями (инструкцией) по применению дезинфицирующего средства.

На емкости для хранения дезинфицирующего раствора должно быть указано его название, концентрация, назначение и дата приготовления.

4.10.4. Для дезинфекции изделий разрешены к применению дезинфицирующие средства отечественного и зарубежного производства из следующих основных химических групп соединений: катионных поверхностно-активных веществ (ПАВ), окислителей, хлорсодержащих средств, средств на основе перекиси водорода, спиртов, альдегидов. В лаборатории в обязательном порядке должны быть в наличии копия регистрационного удостоверения на дезсредство, сертификат соответствия, методические указания или инструкция по применению дезсредства.

4.10.5. Пробирки и флаконы со сгустками крови обеззараживаются только с использованием дезинфицирующего раствора. При погружении

в дезинфицирующий раствор емкостей со сгустками крови необходимо соблюдать осторожность. Запрещается удалять необеззараженные сгустки крови из пробирок, флаконов встряхиванием, сливать жидкие отходы (инфицированные жидкости, исследуемый материал и т. д.) в канализацию без предварительного обеззараживания.

- 4.10.6. Посуду, соприкасающуюся с кровью или сывороткой и не предназначенную для контакта с пациентом, после дезинфекции промывают проточной водопроводной водой для полного удаления дезинфектанта и проводят необходимую технологическую обработку.
- 4.10.7. Блоки кювет анализатора ФП, кюветы измерительной аппаратуры обеззараживают только 6% раствором перекиси водорода и промывают проточной водой.
- 4.10.8. Тара для сбора и последующего обеззараживания использованных вакуумных пробирок должна быть непрокальваемой и устойчивой к вытеканию жидкостей во время хранения и транспортирования пробирок. Одноразовая тара для сбора опасных отходов (безопасные контейнеры, одноразовые пакеты) должна отвечать медико-техническим требованиям к данной продукции и иметь свидетельство о государственной регистрации, разрешающее ее применение в медицинской практике.
- 4.10.9. Все медицинские отходы, образующиеся в лабораториях, после дезинфекции собираются в одноразовую упаковку с маркировкой по цвету. После заполнения пакета примерно на 3/4 из него удаляется воздух, и сотрудник, ответственный за сбор отходов в данном медицинском подразделении, осуществляет его герметизацию. Удаление воздуха и герметизация одноразового пакета производится в марлевой повязке и резиновых перчатках. Транспортирование всех видов отходов вне пределов медицинского подразделения осуществляется только в одноразовой упаковке после ее герметизации.
- 4.10.10. В установленных местах загерметизированные одноразовые емкости (баки, пакеты) помещаются в (меж)корпусные контейнеры, предназначенные для сбора медицинских отходов.
- 4.10.11. Временное хранение (накопление) обеззараженных и упакованных в специальные контейнеры и пакеты деталей одноразовых вакуумных систем для взятия крови осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений».
- 4.10.12. При сборе, упаковке, временном хранении и транспортировании отходов, связанных с взяти-

ем проб крови для лабораторного исследования и его проведением, персоналу рекомендуется применять средства защиты (резиновые перчатки, спецодежду) и соблюдать правила техники безопасности.

5. Требования к медицинскому персоналу по обеспечению техники безопасности при сборе, временном хранении, транспортировании, уничтожении и подготовке к утилизации (переработке) одноразовых вакуумных систем для взятия крови

5.1. К работам, связанным со сбором, обеззараживанием, временным хранением и транспортированием медицинских отходов, не допускаются лица, не достигшие 18-летнего возраста и не прошедшие предварительного обучения. Персонал, занимающийся сбором и транспортированием медицинских отходов, должен проходить предварительный при поступлении на работу и периодические медицинские осмотры в соответствии с действующими нормативными документами.

5.2. Персонал не должен иметь медицинских противопоказаний к вакцинации, лечению специфическими препаратами и к работе в средствах индивидуальной защиты. Специалисты должны иметь профилактические прививки в соответствии с требованиями и записью в амбулаторной карте № 025/у, прививочном сертификате и личной медицинской книжке. Сотрудники, работающие с кровью (сывороткой, плазмой крови), должны быть иммунизированы против вирусных гепатитов, а выполняющие исследования на энтеровирусы — против полиомиелита.

5.3. У сотрудников лабораторий, проводящих серологические исследования на ВИЧ-инфекцию и гепатиты В и С, ежегодно проводятся контрольные исследования на наличие соответствующих антигенов (антител) в сыворотке крови.

5.4. Персонал, осуществляющий сбор, обеззараживание, временное хранение и транспортирование использованных деталей одноразовых вакуумных систем для взятия крови, пробирок и иного расходного лабораторного материала, должен проходить обучение технике безопасности, иметь допуск для работы с патогенным биологическим материалом, уметь применять специальное оборудование и дезинфицирующие средства в соответствии с инструкциями по их использованию.

5.5. К работе с паровыми стерилизаторами (автоклавами) допускаются лица, прошедшие специальную подготовку и имеющие удостоверение установленного образца на право обслуживания сосудов, работающих под давлением.

5.6. Медицинскому персоналу, осуществляющему сбор, обеззараживание, временное хранение, транспортирование медицинских отходов, категорически запрещается:

- пересыпать собранные детали одноразовых вакуумных систем для взятия крови из одной тары в другую;
- размещать ёмкости для сбора деталей одноразовых вакуумных систем для взятия крови вблизи электронагревательных приборов (как в местах образования, так и в помещениях временного накопления);
- утилизировать руками использованные детали одноразовых вакуумных систем для взятия крови;
- осуществлять сбор медицинских отходов, в том числе деталей одноразовых вакуумных систем для взятия крови, без резиновых перчаток и санитарной одежды.

5.7. За обучение персонала правилам безопасного обращения с медицинскими отходами несет ответственность руководитель учреждения здравоохранения.

5.8. Персонал, занимающийся обеззараживанием, сбором и транспортированием использованных одноразовых вакуумных систем для взятия крови и иного лабораторного пластика, должен быть обеспечен санитарной одеждой (халатами, шапочками или косынками, масками, сменной обувью) и средствами индивидуальной защиты (респираторами, резиновыми перчатками, герметичными очками, непромокаемыми фартуками), которые применяют в соответствии с инструкциями.

5.9. При получении работником травмы в результате обращения с медицинскими отходами класса Б и В по отношению к нему принимают меры экстренной профилактики в соответствии с действующими инструктивно-методическими документами.

5.10. На рабочем месте персонала, занимающегося сбором и транспортированием отходов, должна быть аптечка первой помощи (5% спиртовая настойка йода,

70% этиловый спирт, навески перманганата калия, вода для растворения навесок марганцовокислого калия в соотношении 1 : 100 000, стерильные салфетки или бинты, лейкопластырь).

5.11. При повреждении кожных покровов необходимо немедленно обработать перчатки дезинфицирующим раствором и снять их, выдавить кровь из ранки в дезинфицирующий раствор. На место ранения поставить на 4–5 минут компресс из дезинфицирующего раствора или 70% этилового спирта, затем под проточной водой тщательно вымыть руки с мылом, обработать их 70% этиловым спиртом, смазать ранку 5% йодом. (Санитарно-эпидемиологические правила «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. СП 1.2.2322-08», пункт 3.3.3.)

5.12. При попадании биологических жидкостей на слизистые оболочки и повреждения кожных покровов при использовании, обеззараживании, сборе и транспортировании деталей одноразовых вакуумных систем для взятия крови и иного пластика однократного применения работник должен немедленно воспользоваться аптечкой первой помощи в соответствии с инструкцией, информировать непосредственного руководителя и руководителя подразделения. Аварийную ситуацию зарегистрировать в журнале регистрации аварий с указанием даты, времени, места и характера аварии, фамилии, имени, отчества пострадавшего, а также проведенных мероприятий с последующим лабораторным обследованием при необходимости.

5.13. В случае появления у сотрудника симптомов, характерных для инфекционного заболевания, он должен поставить об этом в известность руководителя подразделения.

Нормативные ссылки

1. Федеральный закон от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» (с изменениями от 22 августа 2004 г. № 122-ФЗ).
2. Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан от 2 июня 1993 г. № 5487-1.
3. Федеральный закон от 24 июня 1998 г. № 89-ФЗ «Об отходах производства и потребления».
4. ОСТ 42-21-2-85 «Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения. Методы, средства и режимы».
5. СанПиН 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений».
6. СП 3.1.958-99 «Профилактика вирусных гепатитов. Общие требования к эпидемиологическому надзору за вирусными гепатитами».
7. СП 1.1.1058-01 «Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».
8. СП 3.5.1378-03 «Санитарно-эпидемиологические требования к организации и осуществлению дезинфекционной деятельности».
9. СП 3.1/3.2.1379-03 «Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных болезней».
10. «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории». Методические указания МУ 4.2.2039-05. от 23.12.05.

11. «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения». Методические указания № 287-113 от 30.12.98 г.

12. «Требования к обеззараживанию, уничтожению и утилизации шприцев инъекционных однократного применения». Методические указания МУ 3.1.2313-08 от 15.01.2008 г.

13. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

14. СП 1.3.1318-03 «Порядок выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I–IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами». СП 1.2.1318-03, утвержденные Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 24 апреля 2003 г.

15. Федеральный закон «О лицензировании отдельных видов деятельности» № 128-ФЗ от 8 августа 2001 г.

16. Постановление Правительства РФ № 825 от 15 июля 1999 г. «Об утверждении перечня работ, выполнение которых связано с высоким риском заболевания инфекционными болезнями и требует обязательного проведения профилактических прививок».



Мы сделаем Вашу рукопись книгой!

Издательско-полиграфическая компания "КОСТА"
(812) 445-1002 www.kostaprint.ru

Издательско-полиграфический отдел фирмы "КОСТА" с 1993 года занимается подготовкой и изданием книг.

За эти годы мы приобрели большой опыт подготовки специальной и, в частности, медицинской литературы.

Среди подготовленных нами книг — работы в области кардиологии, неврологии, хирургии, генетики и других областях медицины.

Мы будем рады помочь Вам подготовить к печати юбилейный сборник, монографию, брошюру, методические рекомендации, автореферат.

Собственная полиграфическая база позволяет оперативно отпечатать любую полиграфическую продукцию.

Кроме того, наши дизайнеры разработают для Вас визитки, наклейки, рекламные листовки, обложки книг.

Не тратьте драгоценное время Ваших специалистов — приходите к нам.

Сделать Вашу рукопись книгой — наша специальность.