

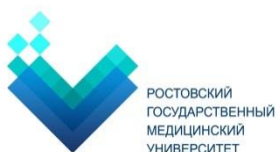
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**«РОСТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Молодежное научное общество**

**Кафедра общей и клинической биохимии № 2**

**Кафедра общей биологии и анатомии, кафедра химии подготовительного факультета  
по обучению иностранных граждан**



## **МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ, ХИМИЯ И МЕДИЦИНА**

***Материалы II внутривузовской межкафедральной  
научно-практической конференции  
студентов и молодых ученых***

**Ростов-на-Дону  
25 апреля 2018**

**УДК 577.1 (063)**  
**ББК 28.070**  
**М - 75**

Молекулярная биология, химия и медицина: материалы II внутривузовской межкафедральной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, 25 апреля 2018 г. / отв. ред. Т.А. Шустановой; ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2018. – 73 с.

В сборнике представлены результаты информационно-аналитической и научной работы по фундаментальным и прикладным исследованиям в области молекулярной биологии, химии и медицины, перспективным методам генодиагностики и генотерапии, используемым в современных клинических лабораториях.

**Члены организационного комитета конференции:**

Добаева Н.М. – к.х.н., доцент, зав. каф. общей и клинической биохимии №2  
Шустанова Т.А. – к.б.н., доцент каф. общей и клинической биохимии № 2  
Абакумова Л.В. – к.б.н., доцент, зав. каф. общей биологии и анатомии подготовительного факультета по обучению иностранных граждан  
Грекова Г.А. – к.б.н., доцент, зав. каф. химии подготовительного факультета по обучению иностранных граждан

**Редакционная коллегия:**

Шустанова Т.А. – ответственный редактор  
Редакторы: Добаева Н.М., Абакумова Л.В., Грекова Г.А.

*Статьи опубликованы в авторской редакции*

# ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Абдул-Кадырова Л.Р., Шестакова Т.Е.

*Кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматриваются патологии у больных сахарным диабетом 2-ого типа и особенности нарушения липидного процесса при данной патологии.

Сахарный диабет (СД) является серьезной проблемой современного здравоохранения во всем мире, влияющей на показатели здоровья, трудоспособности и, в конечном итоге, продолжительности жизни больших групп населения.

Среди встречающихся нарушений обмена веществ сахарный диабет стоит на втором месте после ожирения. В последние годы во всех высокоразвитых странах отмечается выраженный рост заболеваемости сахарным диабетом. Проблема сахарного диабета заключается в том, что она предопределена значительной распространенностью заболевания и базой для развития сложных сопутствующих осложнений, ранней инвалидности и смертности. Согласно данным статистики, каждые 10 сек. в мире умирает 1 больной СД и вновь заболевают 2 чел. Ежегодно умирают около 4 млн. больных. Исследования показали, что в дебюте СД 2 около 50% больных уже имеют микро- и макрососудистые осложнения, и, возможно, это результат того, что метаболические нарушения возникают гораздо раньше первых клинических проявлений СД и к моменту постановки диагноза они приводят к необратимым сосудистым изменениям [1].

**Цель работы:** изучить патологии у больных сахарным диабетом 2-ого типа и выявить особенности нарушения липидного процесса.

При сахарном диабете 2-го типа развивается инсулинорезистентность тканей, т. е. нечувствительность их к инсулину. При этом содержание инсулина в крови может быть нормальным или повышенным, однако клетки к нему невосприимчивы. У большинства (85%) пациентов выявляется сахарный диабет II типа. Сахарному диабету II типа более подвержены пожилые пациенты, у которых с возрастом происходит снижение толерантности к глюкозе.

Нарушение жирового обмена при дефиците инсулина сводится к снижению синтеза жира и усилению липолиза. Избыточный жир откладывается в бедных гликогеном гепатоцитах, вызывая жировую инфильтрацию печени. В кровь выделяются в повышенных количествах неэстерифицированные жирные кислоты, заменяющие глюкозу в качестве энергетического материала. В печени, в условиях пониженного содержания гликогена, уменьшено превращение ацетил-КоА, а в цикле Кребса образуются в повышенном количестве недоокисленные продукты жирового обмена – кетоновые тела (оксимасляная кислота, ацетоуксусная кислота, ацетон). Развивается характерный для декомпенсации сахарного диабета кетоацидоз [2].

Основными характеристиками дислипидемии при СД 2 типа являются повышение уровня триглицеридов в составе липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) и снижение уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП). У пациентов с СД 2 типа преобладает фракция мелких плотных ЛПНП, обладающих повышенной атерогенностью вследствие высокой способности к окислению. Количественные изменения липидного спектра могут встречаться изолированно, но чаще они сочетаются и носят название липидной триады или атерогенной дислипидемии. Основной причиной гипертриглицеридемии при СД 2 типа является низкая чувствительность висцеральной жировой ткани к антилиполитическому действию инсулина, что ведет к повышенному липолизу, поступлению большого количества свободных жирных кислот в порталный кровоток и, в сочетании с гиперинсулинемией, повышению синтеза триглицеридов и ЛПОНП печенью. Снижение уровня ХС ЛПВП при СД 2 типа обусловлено повышением активности печеночной липопротеинлипазы и ускоренным катаболизмом ХС ЛПВП. Помимо количественных, при СД 2 типа имеют место также качественные изменения липидного спектра: при гипергликемии возрастает доля гликированных ЛПНП, в том числе мелких плотных ЛПНП, обладающих повышенной атерогенностью в связи с высокой способностью к окислению и накоплению в артериальной стенке, а также к замедленному клиренсу и длительному нахождению в плазме. Изменение любого показателя липидного спектра ведет к увеличению сердечно-сосудистого риска у пациентов с СД 2 типа, он значительно возрастает при комбинированной дислипидемии [3].

### **Список литературы**

1. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Оценка адаптационных возможностей организма и риск развития заболеваний. М.: Медицина, 1997. - 275 с.
2. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Лечение сахарного диабета и его осложнений. Руководство для врачей: учебное пособие. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. - 351 с.
3. Герасимова Е. Н. Липопротеины высокой плотности. М.: Медицина, 1983. - 157 с.

### **АУТОИММУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: МЕСТО МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В СОВРЕМЕННОЙ РЕВМАТОЛОГИИ**

Авагян А.С., Смольянинова Л.П.

*Кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** Системные ревматические заболевания — это патологии, которые возникают из-за агрессивного воздействия иммунитета на собственные ткани. В основе их развития лежит ошибка иммунной системы, которая неправильно распознает нормальные составляющие человеческого тела — аутоантигены. Иммунные клетки принимают их за чужеродные агенты, в которых видят угрозу для организма. Активируется защитная функция, и начинается «бомбардировка» здоровых клеток факторами им-

мунной системы — аутоантителами. В данной работе проведен анализ возможностей лечения аутоиммунных заболеваний новыми препаратами.

Болезни, ассоциированные с аутоиммунным компонентом, серьезная проблема современного общества. Их распространенность в мировой популяции составляет примерно 5%. Заболевания быстро переходят в хроническую форму, из-за чего снижается качество жизни пациентов. Аутоиммунные патологии часто приводят к инвалидизации больных. Несмотря на многолетний поиск новых путей фармакотерапии, современная медицина не может предложить способов лечения, непосредственно влияющих на причину возникновения аутоиммунитета.

*Цель работы.* Возможность применения моноклональных антител в лечении аутоиммунных заболеваний, в частности их применения в современной ревматологии. Для лечения аутоиммунных заболеваний используют широкий арсенал противоревматических лекарств. Классическая терапия включает нестероидные противовоспалительные средства, глюкокортикоиды, цитостатики. В зависимости от особенностей развития заболевания подбирают препараты из той или иной группы.

В качестве примера можно рассмотреть классическую терапию одного из самых распространенных аутоиммунных заболеваний — ревматоидного артрита. Современные стратегии борьбы с этой патологией должны соответствовать концепции Treat to target — «лечение до достижения поставленной цели». Она направлена на ремиссию (исчезновение симптомов) заболевания или резкое снижение активности артрита [1]. «Золотым стандартом» в терапии заболевания является метотрексат, Препарат входит в группу базисных противовоспалительных средств [5].

Несмотря на все достоинства, лечение метотрексатом не всегда приводит к снижению активности заболевания. У многих пациентов использование препарата неэффективно даже в комбинации с другими классическими средствами. Это подтверждается при анализе статистики [1]. Исследования показали, что при проведении лечения метотрексатом и комбинациями базисных препаратов только половина пациентов достигла ремиссии. Несостоятельность классической терапии заставляет ученых искать новые способы лечения ревматоидного артрита [2]. По-новому взглянуть на лечение аутоиммунных заболеваний позволила разработка терапевтических моноклональных антител. Принципиально новый класс препаратов получен благодаря достижениям генной инженерии. При аутоиммунных заболеваниях можно подавлять сразу весь сложный механизм иммунитета, что и делают препараты классической терапии. Но это оставляет человека без защиты от вражеских агентов — бактериальных инфекций, вирусов и прочих патогенов. Поэтому предпочтительнее сохранить активность иммунной системы в целом, избавив человека от аутоагрессии определенных ее компонентов [3]. Именно так работают новые препараты — моноклональные антитела. Их мишенями могут быть цитокины и их рецепторы, мембранные молекулы лимфоцитов.

Ингибиторы фактора некроза опухолей — это первые моноклональные антитела, внедренные в ревматологическую практику. В эту группу входят

инфликсимаб, этанерцепт, цертолизумаб, голимумаб, адалимумаб [4]. Фактор некроза опухолей (ФНО) — это провоспалительный цитокин (вещество, которое стимулирует развитие воспалительной реакции). В норме при его выделении происходит пролиферация клеток сосудов, активация макрофагов, лизис опухолевых агентов. Однако влияние ФНО на суставы при ревматических заболеваниях нельзя назвать положительным. Так, при ревматоидном артрите цитокин стимулирует размножение синовиальных фибробластов — клеток оболочки сустава. Это приводит к формированию паннусов — разрастаний агрессивной ткани [6]. Одним из ингибиторов ФНО является препарат инфликсимаб. Немного другую структуру имеет еще один эффективный препарат из группы ингибиторов ФНО — этанерцепт. Дополнительное действие этанерцепта, которого нет у других ингибиторов ФНО, — это нейтрализация лимфотоксина. Ингибиторы ФНО хорошо показали себя не только при лечении ревматоидного артрита, но и при других аутоиммунных патологиях [7]. В развитии аутоиммунного воспаления важную роль играют интерлейкины, которые, как и ФНО, относятся к провоспалительным цитокинам. Основными представителями этой группы являются ИЛ-6, ИЛ-1, ИЛ-17. Функция интерлейкинов — это контроль процессов дифференцировки, пролиферации и гибели (апоптоза) иммунных клеток, который осуществляется через соответствующие гены-мишени.

Тоцилизумаб — это препарат, который блокирует работу ИЛ-6. В основе работы тоцилизумаба лежит конкуретное ингибирование. Сигнальные молекулы активно связываются с моноклональным антителом. Тоцилизумаб считается одним из самых безопасных препаратов, входящих в группу моноклональных антител. Это позволяет применять его при ювенильном идиопатическом артрите, который возникает в возрасте до 16 лет [9]. Применение тоцилизумаба позволяет достигнуть необходимого эффекта лечения, не вызвав тяжелых осложнений. Одними из главных элементов, участвующих в аутоиммунном воспалении, являются В-лимфоциты. Именно они вырабатывают аутоантитела, которые связываются со здоровыми клетками организма. Образовавшийся комплекс антитела и аутоантигена атакует система комплемента или цитотоксические лимфоциты. Препараты из группы анти-В-клеточной терапии (ритуксимаб и белимумаб) блокируют активность В-лимфоцитов путем связывания их мембранных молекул CD20 [13]. Одним из лекарств с таким механизмом действия является ритуксимаб. Моноклональное антитело связывается с молекулой CD20. Это приводит к запуску иммунологических реакций по отношению к В-лимфоцитам, которые обеспечивают разрушение (лизис) этих клеток [10]. Знания о механизме активации Т-клеток использовали при разработке моноклональных антител. Основной представитель анти-Т-клеточных агентов — это абатацепт. Воздействие абатацепта направлено как раз на неспецифический (костимулирующий) сигнализ-за чего активация Т-клетки не завершается [11].

Препараты моноклональных антител уже довольно долго используют в ревматологической практике. Главным ограничением, с которым сталкиваются врачи и больные, является действительно «заоблачная» стоимость пре-

паратов этой группы. Ревматические заболевания нельзя вылечить за неделю или месяц — они требуют многолетнего (или даже пожизненного) использования терапии. Поэтому при подборе лекарственного средства важна не только его эффективность, но и цена. Лечение инфликсимабом дает результаты уже через 2–4 недели, тогда как метотрексат «включается в работу» только через несколько месяцев [12]. Больные испытывают тяжелое побочное воздействие лекарства, которое еще сильнее ухудшает их состояние. Применение препаратов с другим механизмом действия, в том числе и моноклональных антител, позволяет минимизировать побочные эффекты. Многие средства из группы моноклональных антител (инфликсимаб, этанерцепт, тоцилизумаб, голимумаб) входят в «Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств». Другая сложность, с которой можно столкнуться при использовании биологических препаратов, — это побочные реакции. Большая часть таких реакций связана с процессом иммуносупрессии [14]. Подавляя активность иммунных клеток, моноклональные антитела снижают защитную функцию организма. В первую очередь страдают противoinфекционный и противоопухолевый иммунитеты. Высокой иммуногенностью обладает инфликсимаб, в составе которого есть чужеродные мышечные фрагменты. Менее активно провоцируют иммунитет полностью «человеческие» препараты. Но даже при их применении есть высокий риск развития побочных аутоиммунных реакций. Чтобы устранить эти нарушения, необходимо скорректировать схему лечения больного. В нее включают дополнительные иммуносупрессоры, которые будут подавлять осложнения [15].

Несмотря на все возможные сложности, моноклональные антитела прочно вошли в регистр лекарств, применяющихся в ревматологии. Перспектива использования биологических препаратов и их место в ревматологии будет зависеть от результатов многолетних исследований, которые еще предстоит провести. Но даже сейчас можно сказать, что разработка терапевтических моноклональных антител является важным шагом на пути к победе над аутоиммунным воспалением.

### Список литературы

1. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А. (2015). Аутоиммунные ревматические заболевания — проблемы иммунопатологии и персонифицированной терапии. Вестник РАМН. 2, 169–182.
2. Бабаева А.Р., Калинина Е.В., Звоноренко М.С. (2016). Новые возможности повышения эффективности и безопасности лечения ревматоидного артрита. Медицинский алфавит. 22, 5–12.
3. Josef S Smolen, Robert Landewé, Ferdinand C Breedveld, Maya Buch, Gerd Burmester, et. al. (2017). EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. Ann Rheum Dis. 73, 492–509;
4. Насонов Е.Л. (2016). Метотрексат при ревматоидном артрите — 2015: новые факты и идеи. Научно-практическая ревматология. 4, 421–433.

5. Каневская М.З. и Гурская С.В. (2013). Метотрексат в лечении ревматических заболеваний. Современная ревматология. 4, 47–53.
6. D. T. Felson, J. S. Smolen, G. Wells, B. Zhang, L. H. D. vanTuyl, et. al.. (2017). AmericanCollegeofRheumatology/EuropeanLeagueAgainstRheumatismProvisionalDefinitionofRemissioninRheumatoidArthritisforClinical-Trials. AnnalsoftheRheumaticDiseases. 70, 404-413.
7. PatrickDurez, JacquesMalghem, AdrienNzeusseuToukap, GenevièveDepresseux, Bernard R. Lauwerys, et. al.. (2017). Treatmentofearlyrheumatoidarthritis: A randomizedmagneticresonanceimagingstudycomparingtheeffectsofmethotrexatealone, methotrexateincombinationwithinfliximab, andmethotrexateincombinationwithintravenouspulse-methylprednisolone. ArthritisRheum. 56, 3919-3927.
8. Зайчик А.М., Полетаев А.Б., Чурилов Л.П. (2013). Распознавание «Своего» и взаимодействие со «Своим» как основная форма активности адаптивной иммунной системы. Вестник СПбГУ. Серия 11. Медицина. 1.
9. Насонов Е.Л. и Каратеев Д.Е. (2013). Применение генно-инженерных биологических препаратов для лечения ревматоидного артрита: общая характеристика (лекция). Научно-практическая ревматология. 2, 163–169.
10. Логвиненко С.И., Щербань Э.А., Придачина Л.С., Придачина А.Н., Маслова Ю.Ю., Кашичкина А.А. (2016). Генная инженерия в лечении анкилозирующего спондилита (болезни Бехтерева). Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 19, 179–182.
11. MasahikoMihara, MisatoHashizume, HirotoYoshida, MihoSuzuki, MasashiShiina. (2017). IL-6/IL-6 receptorsystemanditsroleinphysiologicaland-pathologicalconditions. Clin. Sci.. 122, 143-159.
12. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Авдеева А.С., Панасюк Е.Ю. (2013). Ингибирование интерлейкина 6 — новые возможности фармакотерапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний. Научно-практическая ревматология. 4, 416–427.
13. Супоницкая Е.В., Александрова Е.Н., Алексанкин А.П., Насонов Е.Л. (2016). Влияние терапии генно-инженерными биологическими препаратами на субпопуляции В-лимфоцитов при ревматических заболеваниях: новые данные. Научно-практическая ревматология. 1, 78–83.
14. Бабаева А.Р., Черевкова Е.В., Гальченко О.Е., Солоденкова К.С. (2012). Биологические агенты в базисной терапии ревматоидного артрита. Лекарственный вестник. 7, 3–9.
15. Муравьев Ю.В. и Муравьева Л.А. (2016). Несвоевременные мысли о применении генно-инженерных биологических препаратов при ревматических болезнях. Научно-практическая ревматология. 3, 361–366.

## **РОЛЬ НЕКОДИРУЮЩЕЙ РНК В РАЗВИТИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ИХ ДИАГНОСТИКА**

Алексеев Э.К., Пискунов К.П., Коновалова О.В.

*Кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*



**Аннотация:** в статье рассматриваются функции некодирующей РНК, их роль в физиологических и патологических процессах, методы диагностики и лечения заболеваний, вызываемых нкРНК.

По результатам проекта «Геном человека» (1990-2004) стало ясно, что как минимум 2/3 всего генома не могут кодировать белки. Они либо совершенно не подвергаются транскрипции, либо возможно считывание РНК без последующего синтеза белков. Поэтому в настоящее время одним из наиболее перспективных и быстро развивающихся направлений молекулярной биохимии и биологии является изучение некодирующей РНК (нкРНК).

**Цель работы:** изучить роль нкРНК в развитии патологических процессов, методы их диагностики и лечения. Некодирующие РНК, функционируя на основе механизма РНК-интерференции, участвуют в модификации других РНК, регуляции экспрессии генов на разных уровнях. Они вовлечены во множество физиологических процессов. И именно нарушения экспрессии нкРНК наблюдаются при развитии многих заболеваний, в том числе онкологических. Хотя в большинстве случаев неясно, является ли изменение экспрессии причиной или следствием болезни. Причинами изменений уровня экспрессии могут быть внешние факторы, например, ионизирующая радиация или воздействие перекиси водорода, приводящие к возникновению мутаций генов микроРНК, химических модификаций ДНК и гистонов, активации генов транскрипционными факторами. Некоторые регуляторные нкРНК могут функционировать как онкогены — усиление их экспрессии ассоциировано со злокачественным перерождением, пролиферацией и миграцией опухолевых клеток. Как правило, в таком случае эти нкРНК подавляют экспрессию генов-супрессоров опухоли.

Следует отметить, что некоторые нкРНК могут выступать и как онко-супрессоры, и как онкогены, в зависимости от конкретного типа опухоли, то есть от клеточного и тканевого окружения. Кроме того, микроРНК обладают способностью изменять чувствительность опухолей к химиотерапевтическим препаратам. Благодаря тому, что экспрессия регуляторных некодирующих РНК тканеспецифична, а их уровень изменяется во время патологических процессов, возможно использовать нкРНК в качестве диагностического и прогностического маркера. Самым многообещающим видом биомаркеров для диагностики заболеваний являются внеклеточные (циркулирующие) микроРНК и длинные нкРНК, составляющие 42,3% и 3,4% всех внеклеточных РНК соответственно. При наличии патологического процесса в организме уровень маркерной нкРНК в крови может повышаться более чем в десятки раз по сравнению с нормальным. В биологических жидкостях регуляторные РНК могут присутствовать в одной из трёх форм: из повреждённых тканей; микроРНК и длинные нкРНК, заключённые в мембранные пузырьки; микроРНК в комплексе с мРНК-связывающим белком (липопротеины высокой плотности, нуклеофосмин 1, белки семейства Argonaute и т. д.).

Одним из главных методов определения уровня циркулирующих микроРНК в крови является количественная ПЦР с обратной транскрипцией.

Другие методы, такие как микрочиповые технологии или различные виды секвенирования, хоть и обладают большей пропускной способностью, все же не являются в данном случае достаточно точными и экономически эффективными. Кроме того, полученные данные о нкРНК позволили разработать и новые способы терапии. Если при развитии заболевания в клетке возникает нехватка какой-либо микроРНК, то необходимо повысить её уровень. Однако, прямое введение микроРНК или сходных по механизму действия коротких интерферирующих РНК небезопасно. В клеточных культурах и *in vivo* показано, что киРНК обладают дозозависимой токсичностью и вызывают повреждение печени у мышей. Поэтому, для повышения уровня микроРНК, необходимо применять обходные пути. Кроме того, для восстановления, экспрессии микроРНК применяются искусственные молекулы, действующие как малые нкРНК.

Вероятно, последующие исследования роли некодирующих РНК в норме и при патологии позволят открыть новые диагностические маркеры и создать усовершенствованные терапевтические препараты, поднимая медицину на новый уровень.

#### **Список литературы**

1. Макарова Ю. А., Крамеров Д. А. Некодирующие РНК (обзор) // Биохимия. – 2007. – Т. 72. – №. 11. – С. 1427-1448.
2. О. Ю. Буренина, Т. С. Орецкая, Е. А. Кубарева. Некодирующие РНК, регулирующие транскрипцию в клетках эукариот // 2017
3. Засухина Г. Д., Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Васильева И.М. Роль некодирующих РНК в клетках человека после воздействия ионизирующей радиации // Цитология. – 2017. – Т. 59. – №. 9.
4. <https://www.nature.com/articles/jhg2016140>

#### **БИОХИМИЯ ПСИХОСОМАТИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ. ШИЗОФРЕНИЯ**

Алиева В.Ф., Шустанова Т.А.

*Кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматриваются важнейшие достижения психиатрии XX века, создание психофармакологии как нового направления, изменившего отношения общества к психиатрии и позволившего разработать новые теории этиологии и патогенеза психических расстройств.

В середине прошлого века наибольшее внимание уделялось изучению основных гормональных систем и иммунных процессов в мозге, а к концу века внимание ученых сосредоточилось на исследовании роли синапсов и рецепторов, регулирующих передачу информации между нейронами. Успехи в области нейронаук позволили убедиться в том, что передача информации от одного нейрона другому осуществляется в результате деятельности особых связывающих нейроструктур («синапсов») путем выделения химических

агентов (медиаторов, нейротрансмиттеров). В настоящее время описаны медиаторы, которые в момент возбуждения, высвобождаются в синапсах и взаимодействуют с белками-рецепторами пре- и постсинаптических мембран. После чего происходит возбуждение нейрона или торможение его активности. После взаимодействия с рецепторами нейромедиатор может подвергаться дезактивации либо вновь захватываться пресинаптической мембраной (обратный нейрональный захват, реаптейк).

Блокада рецепторов делает их невосприимчивыми к действию медиатора, а блокада обратного захвата усиливает его действие, что ведет к перевозбуждению рецептора. В возникновении психозов особое значение имеют катехоламины (дофамин, норадреналин, адреналин, ГАМК). Одним из всем известных психических расстройств является шизофрения. Еще до нашей эры в папирусах Древнего Египта встречались первые описания шизофреноподобных симптомов. Уже в 1908 году швейцарский психиатр Эйген Блейлер описал шизофрению как самостоятельное заболевание. Это заболевание является достаточно сложным для изучения из-за своего большого спектра симптомов и разнообразных течений.

Биохимические исследования показали, что в крови и биологических жидкостях у больных шизофренией изменен уровень важных для нормальной работы центральной нервной системы соединений, их метаболитов обмен дофамина, серотонина и ГАМК, которое играет большую роль в патогенезе этого заболевания.

Дофамин относится к катехоламинам, он образуется под действием дигидроксифенилаланиндекарбоксилазы из дигидроксифенилаланина (ДОФА), который, в свою очередь, синтезируется из тирозина [1]. Дофаминергические нейроны располагаются в подкорковых ядрах среднего мозга (черной субстанции, полосатом теле) и в гипоталамусе. Они направляют импульсы в гипофиз, лимбическую систему. Там происходит регуляция мышечного тонуса, эмоционального состояния, поведения. Дофамин оказывает возбуждающее действие на ЦНС, усиливает двигательную активность, повышает артериальное давление (АД). Через дофаминовую систему обеспечивается работа «центров удовольствия», регулируется аффективная сфера.

Рецепторы дофамина представлены двумя группами: D1 и D2-подобные [2], которые имеют некоторые отличия в механизмах действия. Наибольшая концентрация рецепторов достигается в мезолимбических, кортикальных, нигростриальных путях. Предполагается, что при шизофрении происходит избыточная активация кортикальных и мезолимбических путей. Это доказывается антипсихотическим действием нейролептиков (галоперидол, флюфеназин). Они являются антагонистами D2-подобных рецепторов и производят блокаду «позитивных» симптомов шизофрении — бреда, галлюцинаций, расстройства мышления. Продолжительное действие данных нейролептиков может вызвать побочное действие — паркинсонизм, в связи с длительной блокадой рецепторов в стриатуме [1]. Смена «позитивной» и «негативной» симптоматики происходит на фоне изменений в дофаминовой системе: снижение ее актив-

ности ведет к снижению активности больного, депрессии, ослаблению когнитивных процессов, усилению негативной симптоматики, ее повышение приводит к обратному эффекту. ГАМК – основной ингибиторный медиатор центральной нервной системы, и именно ей приписывают дефицит ингибирования, наблюдающийся при шизофрении. Она широко распространена в коре головного мозга, стриатуме, таламусе, гиппокампе. ГАМКергические афферентные нейроны стриатума контролируют режим электрической активности дофаминовых нейронов в среднем мозге, при этом активация ГАМК-рецепторов приводит к подавлению выброса дофамина [4]. ГАМК синтезируется в организме из глутамата под действием ГАМК-декарбоксилазы, имеющей 2 изоформы — GAD65 и GAD67. После чего ГАМК выбрасывается в синаптическую щель и связывается с постсинаптическими рецепторами, но часть ее обратно захватывается при помощи транспортера GAT-1 и инактивируется трансаминазой и дегидрогеназой. Далеко не последнюю роль играет рилин — гликопротеин, который синтезируется интернейронами коры, гиппокампа и базальными ганглиями. После секреции, он адгезируется на дендритах корковых пирамидных нейронов, окружая таким образом их «шипики» [5], которые играют важную роль в пластичности коры головного мозга. Рилин регулирует созревание дендритов, формирование их цитоскелета; он окружает тела и дендриты ГАМК-нейронов, способствуя тем самым высвобождению ГАМК.

Нарушения при шизофрении делят на 2 группы: первая — касающиеся пресинаптических нейронов, их ферментов и транспортеров, вторая касающиеся постсинаптических изменений. Главным нарушением первой группы является снижение экспрессии фермента GAD67 с белком рилином [6]. В ходе исследований выяснилось, что длительный прием агонистов дофамина влечет еще большее угнетение GAD67, а лечение нейролептиками повышает экспрессию этого фермента [4]. Это доказывает антагонизм ГАМКергической и дофаминергической систем. К постсинаптическим нарушениям относят повышение экспрессии различных подтипов рецепторов, их субъединиц, которые имеют место быть во 2 и 3 слое префронтальной коры, гиппокампе, хвостатом ядре. Таким образом, падение уровня ГАМК при различных нарушениях обуславливает развитие психозов с богатой продуктивной симптоматикой, тяжелые поведенческие и когнитивные изменения.

Серотонин выполняет множество различных функций во многих тканях, что обуславливается наличием нескольких взаимодействующих между собой серотониновых подсистем. Подсистема, представленная нейронами головного мозга в ядрах шва, играет огромную роль в развитии всей нервной системы в целом в процессе онтогенеза, а во взрослом мозге — в сигнализации и настройке его многих отделов. Серотонин участвует в регуляции сексуального и пищевого поведения, агрессии, депрессии и тревожности. Было проведено множество

исследований по оценке количества меж- и внутриклеточного серотонина при шизофрении, но результаты не совпадали: встречалось и повышение, и понижение серотонина при данном заболевании. Позднее был обнаружен феномен полиморфизма генов, который связан с серотонинергической системой. Серотонин образуется из триптофана, а затем, упакованный в везикулы, транспортируется к синапсам. Из везикул он высвобождается в синаптическую щель и попадает в постсинаптический нейрон, где он объединяется с рецепторами, а избыток его захватывается специальным белком и возвращается в пресинаптический нейрон. Под действием фермента моноаминоксидазы серотонин превращается в 5-гидроксииндолальдегид. Наиболее изученными являются гены, кодирующие белок-переносчик и моноаминоксидазу. Участок гена-переносчика серотонина, прилегающий к промотору, 5-HTTLPR содержит различное число повторов длиной 22 пары нуклеотидов каждая. У человека чаще встречаются аллели, имеющие либо 18 (длинный аллель), либо 16 повторов (короткий аллель). Если аллель короткий, то обратный захват серотонина снижался — внеклеточная концентрация росла, а внутриклеточная уменьшалась. Таким образом, у носителей короткого аллеля признаки тревожного ряда проявляются наиболее ярко. В гене, кодирующем моноаминоксидазу, наиболее изучен полиморфизм в области промотора, обусловленный различным числом повторов длиной в 30 пар нуклеотидов. У человека существует пять видов аллелей с числом повторов от двух до пяти. Выяснилось, что некоторые аллели экспрессируются в два раза активнее. В результате в мозге во внеклеточном пространстве, уменьшается концентрация нейромедиатора, особенно на ранних стадиях онтогенеза, что приводит к нарушению формирования нормальных связей между нейронами. Таким образом, описанный полиморфизм может влиять на клинические особенности течения данного заболевания. Например, симптомы депрессии свойственны носителям короткого аллеля 5-HTTLPR. Также имеются данные о более сильной эмоциональной реакции таких больных на собственные галлюцинаторные голоса, хотя в целом галлюцинации проявляются у пациентов с двумя длинными аллелями. Следовательно, при таких заболеваниях, как шизофрения, МДП, болезнь Альцгеймера, эпилепсия и др., установлено участие многих нейрохимических и нейроиммунных процессов в патогенезе. Однако имеющиеся сведения скорее только обосновывают наличие тесных связей, но не раскрывают их сущности. В последние десятилетия бурно развиваются химия психофармакологических средств и исследования, касающиеся механизмов их действия. Психоактивные вещества становятся важным инструментом изучения патогенеза психических расстройств на нейрохимическом и рецепторном уровне. Достижения в области базисных наук позволяют рассчитывать на то, что в ближайшее время будут получены новые данные об этиологии и патогенетических механизмах психических расстройств.

### Список литературы

1. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Катехоламины: биохимия, фармакология, физиология, клиника // Вопросы медицинской химии. — 2002. — т. 48, — № 1. — С. 44—67.
2. Strange P.G. Dopamine receptors // *Tocris Rev.* — 2000. — № 78. — p. 1—6.
3. Нестерович А.Н., Голубович В.В., Гелда А.П. Дефицит ингибиторных систем головного мозга в рамках современных представлений о шизофрении // *Военная медицина.* — 2013. — № 2. — С. 123—131.
4. Kalkman H.O. GAD67: the link between the GABA-deficit hypothesis and the dopaminergic- and glutamatergic theories of psychosis / H.O. Kalkman, E. Loetscher // *J. Neural. Transm.* — 2003. — Vol. 110. — P. 803—812.
5. Noh J.S. DNA methyltransferase 1 regulates reelin mRNA expression in mouse primary cortical cultures / J.S. Noh [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2005. — Vol. 102 (5). — P. 1749—1754.
6. Hashimoto T. Alterations in GABA-related transcriptome in the dorsolateral prefrontal cortex of subjects with schizophrenia / T. Hashimoto [et al.] // *Mol. Psychiatry.* — 2008. — Vol. 13. — P. 147—161.

### МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Бабюк В.В., Шестакова Т.Е.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУМЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматривается механизм возникновения митохондриальной дисфункции и ее влияние на развитие сердечно-сосудистых заболеваний.

В течение нескольких последних десятилетий в медицине интенсивно развивается «метаболическое» направление, ставящее своей целью теоретический и прикладной анализ обменных процессов как основу для многих заболеваний. Особенно активно формируются представления о роли нарушений клеточного метаболизма при сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ). Метаболизм, как на уровне целостного организма, так и на уровне органов и тканей, представляет собой многообразный комплекс процессов, сложнейшим образом обеспечивающих жизнедеятельность живой материи. Ключевым звеном этого комплекса является митохондрия [1].

Продукция АФК (активных форм кислорода) является ключевым механизмом, с помощью которого митохондрии вовлечены в развитие ССЗ. АФК индуцируют целый ряд нарушений: одно- и двунитевые разрывы, делеции, хромосомные транслокации, которые способствуют как геномной, так и митохондриальной нестабильности [2].

Недавние исследования были направлены на изучение роли митохондрий в атерогенезе. При митохондриальной дисфункции избыточное производство активных форм кислорода и азота способствует воспалительным со-

судистым реакциям, ведущим к развитию атеросклеротического поражения [3]. Активные формы кислорода и азота играют важную роль в атерогенезе, они вовлечены в такие процессы, как дисфункция и апоптоз эндотелиальных клеток, активация матриксных металлопротеиназ, рост сосудистых гладкомышечных клеток и их миграция, экспрессия молекул адгезии и окисление липопротеинов низкой плотности. Все эти процессы способствуют прогрессированию атеросклеротического поражения. Митохондриальная дисфункция может быть наиболее важным объединяющим механизмом, объясняющим атерогенное действие основных факторов риска ССЗ. Холестерин липопротеидов низкой плотности (ЛНП) и окисленные ЛНП могут вызвать повреждение митохондрий. Нагрузка макрофагов свободным холестерином ассоциирована с митохондриальной дисфункцией. Предполагается, что происходят снижение трансмембранного потенциала митохондрий и активация митохондриального пути апоптоза. Циркулирующие окисленные ЛНП представляют собой независимый фактор риска развития атеросклероза. Окисленные ЛНП вызывают увеличение митохондриальной продукции АФК в клетках эндотелия через активацию митохондриального комплекса II и НАДН-оксидазы. Окисленные ЛНП вызывают апоптоз во всех клетках, участвующих в атеросклерозе: эндотелиальных и гладкомышечных, макрофагах, Т-лимфоцитах. Также при АГ отмечается нарушение работы митохондриальной АТФ-синтазы в кардиомиоцитах. Кроме того, в развитие АГ значительный вклад вносит митохондриальная перегрузка кальцием [4].

Таким образом, в последнее время появляется все больше доказательств того, что мутации митохондриального генома ассоциированы с атеросклеротическим поражением сосудов. Дальнейшие исследования в этом направлении представляются необходимыми. Понимание точных механизмов, с помощью которых мутации митохондриального генома и, как следствие, митохондриальная дисфункция способствуют развитию атеросклероза, откроет новые мишени для разработки лекарственных препаратов.

### **Список литературы**

1. Лукьянова Л.Д. Дизрегуляторная патология. М.: Медицина, 2002. - 355 с.
2. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. М.: Высшая школа, 2000. - 475 с.
3. Fearon I.M., Faux S.P. Oxidative stress and cardiovascular disease: novel tools give (free) radical insight // J Mol Cell Cardiol. 2009. - P. 372-377.
4. Weiss J.N., Korge P., Honda H.M., Ping P. Role of the mitochondrial permeability transition in myocardial disease // Circ. Res. 2003. Vol. 93. - P. 292-301.

## **СОВРЕМЕННАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Будагян А.С., Шустанова Т.А.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматриваются механизмы противоопухолевой иммунной защиты, приведены данные современных исследований, касающихся иммунотерапии опухолевых заболеваний. В зависимости от вида иммунотерапии приводятся основные показания и используемые в настоящее время препараты и иммунные эффекторы. Определяются направления развития иммунотерапии в клинической онкологии.

Современной наукой установлено, что онкологические заболевания связаны с нарушением работы иммунной системы и иммунологического надзора за онкогенными вирусами или аномальными клетками. В последние годы активно развивается иммунотерапия опухолей, направленная на ингибирование опухолевого роста и стимуляцию противоопухолевого иммунного ответа организма [1]. Иммунотерапия ставит своей целью преодоление супрессии иммунологического надзора, распознавание опухолевых клеток иммунной системой организма и, как следствие, подавление развития опухоли. В отличие от классических методов лечения злокачественных новообразований (ЗНО) иммунотерапия направлена на восстановление способности иммунной системы организма бороться с заболеванием, а не только на непосредственное удаление опухоли. Иммунотерапия злокачественных новообразований подразделяется на пять видов: ингибиторы контрольных точек иммунного ответа, активная ИТ: неспецифическая активация врожденного иммунитета, активная ИТ: противоопухолевая вакцинация, адоптивная ИТ с использованием антител, клеточная адоптивная ИТ. Применение иммунотерапевтического подхода в клинической онкологии позволяет достичь высокоспецифического воздействия на раковые клетки.

**Цель работы:** проанализировать основные методы иммунотерапии в онкологии. Иммунная система играет важную роль в возникновении и развитии злокачественных опухолей. Это подтверждается существованием редких спонтанных регрессий опухолей различного типа у человека. Подтверждением этого служит также относительно высокая концентрация иммунокомпетентных клеток в злокачественных опухолях и высокий риск развития злокачественных новообразований у людей, получающих иммуносупрессивную терапию по поводу трансплантации органов и тканей.

Важными клетками в формировании иммунного ответа являются НК-клетки, Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки (DC) [2]. НК-клетки могут лизировать опухолевые клетки без предварительной иммунизации, и их воздействие не ограничено наличием молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС) на поверхности мембраны. Дендритные клетки (DC), Т- и В-лимфоциты - это клетки, формирующие специфический иммунный ответ. DC, макрофаги и В-лимфоциты способны представлять опухолевый антиген Т-лимфоцитам. DC среди антиген представляющих клеток (APC), обладают наибольшей способностью активировать "отдыхающие" Т-клетки и цитотоксические лимфоциты (CTL). После активации Т-клетки начинают продуцировать цитокины - IL-2, IFN-\*, TNF-\* и экспрессировать стимуляторные молекулы - CD40-лиганды, которые играют ключевую роль в усилении специ-



фического противоопухолевого иммунного ответа. Далее, CTL пролиферируют и поражают опухолевые клетки в зависимости от класса молекулы МНС. Процесс пролиферации CTL регулируется цитокинами, секретируемыми Т-хелперами. В-лимфоциты продуцируют опухолево-специфические антитела, играющие роль в иммунном ответе.

Иммунная резистентность может объясняться несколькими причинами, среди которых наиболее важными являются: а) уменьшение экспрессии молекул МНС 1 класса на мембране опухолевой клетки; б) продукция иммуносупрессивных факторов опухолевыми клетками, таких как TGF-\*, IL-10, простагландинов, опухолевых антигенов, фактора роста эндотелия (VEGF), протеаз, Fas-лиганд и др.; в) презентация опухолевых антигенов APC вне связи с костимуляторными сигналами (молекулы класса В-7), ведущая к толерантности опухолеспецифических Т-лимфоцитов [3].

Виды иммунотерапии. Существует несколько направлений воздействия на иммунную систему: 1. Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа. 2. Активная ИТ: неспецифическая активация врожденного иммунитета. 3. Активная ИТ: противоопухолевая вакцинация. 4. Адаптивная ИТ с использованием антител. 5. Клеточная адаптивная ИТ. Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа. Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа, или просто чекпойнт-ингибиторы, — одна из наиболее актуальных групп онкоиммунологических препаратов. В рамках иммунного ответа чекпойнты отвечают за уменьшение иммунного ответа и сокращение числа активированных Т-лимфоцитов и их киллерной способности, например для предотвращения избыточной стимуляции иммунитета и аутоиммунных реакций. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) уже зарегистрировано несколько препаратов из данной группы, относящихся к двум разным подгруппам с разными точками действия: цитотоксический Т-лимфоцитассоциированный белок 4 (CTLA-4) и рецептор запрограммированной клеточной смерти 1 и его лиганд (PD-1 и PD-1L).

Активная ИТ: неспецифическая активация врожденного иммунитета. Противоопухолевое действие, объясняющее эффект данного вида ИТ, опосредуется Toll-подобными рецепторами, которые экспрессируются на макрофагах и других клетках врожденного иммунитета и при связывании бактериального антигена вызывают секрецию фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor – TNF) и других провоспалительных цитокинов [4]. Возникающий при этом неспецифический иммунный ответ в некоторых случаях может вызывать регрессию опухоли. В клинических исследованиях было доказано противоопухолевое действие TNF, вводимого регионально при саркомах мягких тканей [5]. Высокая токсичность не позволяет использовать этот цитокин системно.

В качестве иммуномодуляторов противоопухолевого иммунитета было опробовано большое количество микроорганизмов и субстанций, включая бациллы Кальметта–Герена (БЦЖ), *Corynebacterium parvum*, грибковые компоненты и др. [6]. В результате развития технологии получения ре-

комбинантных ДНК в клинической онкологии широкое распространение получили неспецифические стимуляторы противоопухолевого иммунитета. Интерфероны (IFN) ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), TNF- $\alpha$ , интерлейкины (IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-12, IL-15), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и другие цитокины были тщательно изучены в ходе многочисленных клинических исследований [7].

Активная ИТ: противоопухолевая вакцинация. Данный вид иммунотерапии основан на применении специфических антигенных препаратов вакцин. Вакцины содержат в своем составе опухолеассоциированные либо вирусные антигены, благодаря которым в организме происходит индукция иммунного ответа против опухоли. Действие вакцин направлено на повышение эффективности презентации данных антигенов антиген презентирующими клетками для эффекторных Т-лимфоцитов, на образование специфических эффекторных Т-лимфоцитов против данных антигенов, формирование иммунологической памяти, а в случае вирусных антигенов предотвращение полномасштабной инфекции [8]. Адаптивная ИТ с использованием антител. Настоящий прорыв в применении данного вида ИТ был обусловлен открытием моноклональных антител (АТ). Высокая аффинность и способность вызывать комплемент опосредованный цитоллиз и/или антителозависимую клеточную цитотоксичность явились теми свойствами, которые породили большие надежды в ИТ опухолей. Было создано большое количество различных АТ, включая конъюгированные с химиотерапевтическими, радиоактивными веществами и токсинами. Этот важный принцип использования противоопухолевых АТ можно экстраполировать на все виды адаптивной ИТ, так как иммунный контроль наиболее эффективно осуществляется при небольшом объеме опухолевой массы. Моноклональные АТ используются при некоторых онкогематологических заболеваниях. Характер данного вида опухолей определяет высокую биодоступность препаратов для взаимодействия с клетками-мишенями. Ритуксимаб связывается с CD20-антигеном, экспрессирующимся на подавляющем большинстве В-клеток при НХЛ, вызывает антителозависимую клеточную цитотоксичность, прямой антипролиферативный эффект и индуцирует апоптоз клеток мишеней [9].

Клеточная адаптивная ИТ. До настоящего времени накоплен большой опыт применения клеточных иммунных эффекторов при различных злокачественных новообразованиях. Наибольшее распространение получило использование ЛАК, получаемых из моноклеарных клеток периферической крови с помощью IL-2 и по биологическим свойствам сходных с NK-клетками. Отличительной особенностью ЛАК является осуществление цитотоксичности, не рестриктированной по МНС. Таким образом, ЛАК могут уничтожать опухолевые клетки, не экспрессирующие молекулы МНС, в рамках стратегии ускользания из-под иммунного контроля.

В настоящее время активно развивается новый подход в использовании иммунных эффекторов, заключающийся в их генетическом модифицировании с целью повышения специфичности и преодоления механизмов ускользания опухоли из-под иммунного контроля. Создание противоопухолевых

ЦТЛ с химерными рецепторами представляет собой апофеоз последних достижений в области молекулярной биологии, иммунологии и онкологии [10]. Химерный рецептор состоит из антигенраспознающего и сигнального доменов. Антигенраспознающий домен представляет собой вариабельную часть моноклонального АТ, высокоспецифичного к определенному антигену. С помощью различного рода трансмембранных молекул он соединяется с сигнальной частью Т-клеточного рецептора ( $\zeta$ -цепь). Таким образом, высокая специфичность части АТ сопряжена в одной и той же структуре с активационным каскадом цитотоксической клетки-эффектора. Второе поколение химерных рецепторов включает встраивающиеся домены молекул, обеспечивающих дополнительные костимуляторные сигналы при взаимодействии лимфоцита с АПК (CD28, 4-1BB, ОХ-40). Наличие таких дополнительных доменов позволяет преодолеть механизм ускользания при отсутствии на опухолевых клетках костимуляторных молекул и по сути превращает лимфоцит в самоактивирующуюся иммунную клетку. В настоящее время проводятся пре-клинические исследования химерных рецепторов, специфичных к CD19, CD30, ErbB-2, СЕА, антигенам аденокарциномы TAG-72, карциномы яичников FBP и меланомы MART-1.X [11]. Данные исследований последнего десятилетия ясно указывают на возрастающее значение ИТ в клинической онкологии. Стали понятны причины предыдущих неудач, более четко сформулированы показания и программы лечения. Благодаря успехам в молекулярной биологии стратегия поиска новых иммуноактивных препаратов в настоящее время основана на более глубоком и всеобъемлющем понимании иммунологических законов онкогенеза. Благодаря использованию физиологических механизмов ИТ наилучшим образом отвечает задачам индивидуализации лечения.

### Список литературы

1. Baxevanis C.N., Perez s.A., Papamichail M. Cancer immunotherapy. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2009; 46(4): 167–189.
2. Van der Eertwegh A.J.M., W.J.A. Boersma, and E. Claassen. 1992. Immunological functions and in vivo cell-cell interactions of T-lymphocytes in the spleen. *Crit. Rev. Immunol.*, 11: 337-80. (1992).
3. Sedlacek H.H. Vaccination for treatment of tumors: a critical comment. *Crit. Rev. Oncogenesis* 5(6): 555-587 (1994).
4. Takeda K., Akira S. TLR signaling pathways. *Semin Immunol* 2004; 16(1): 3–9.
5. Grunhagen D.J., Brunstein F., ten Hagen T.L., et al. TNF-based isolated limb perfusion: a decade of experience with antivascular therapy in the management of locally advanced extremity soft tissue sarcomas. *Cancer Treat Res* 2004; 120: 65–79.
6. Krieg A.M. CpG motifs: the active ingredient in bacterial extracts? *Nat Med* 2003; 9(7): 831–5.
7. Huber C.H., Wolfel T. Immunotherapy of cancer: from vision to standard clinical practice. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130 (7): 367–74.

8. Rosenberg S.A., Yang J.C., Restifo N.P. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med* 2004; 10(9): 909–915.

9. Vose J.M. Bexxar: novel radioimmunotherapy for the treatment of low-grade and transformed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Oncologist* 2004; 9(2): 160–72.

10. Sadelain M., Riviere I., Brentjens R. Targeting tumours with genetically enhanced T lymphocytes. *Nat Rev Cancer* 2003; 3(1): 35–45.

11. Morgan R.A., Dudley M.E., Wunderlich J.R., et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* 2006; 314(5796): 126–9.

## МИКРО-РНК В ПАТОГЕНЕЗЕ И ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Бухтин О.В., Шустанова Т.А.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматривается роль микро-РНК в патогенезе различных заболеваний, их влияние на течение заболевания, а также их возможное применение в диагностике этих заболеваний и их лечении.

Микро-РНК относятся к нетранскрибируемым РНК. Они предназначены для контроля экспрессии генов. При комплементарном соединении с мРНК активирует распад этой мРНК, либо же подавляет процесс трансляции. Образуется целая регуляторная сеть, т.к. одна микро-РНК может взаимодействовать с несколькими мРНК. Однако при патологиях этот процесс нарушается, что позволяет использовать микро-РНК для диагностики заболеваний.

**Цель работы:** изучить роль микро-РНК в развитии заболеваний, а также применение в диагностике и лечении.

Микро-РНК присутствуют в различных биологических жидкостях (кровь, моча, слюна и т.д.) в виде циркулирующих форм, причём обладают высокой устойчивостью к рибонуклеазам. Также они могут секретироваться в виде везикул, попадать в кровь при гибели клеток [1]. В настоящее время полимеразная цепная реакция (ПЦР) позволяет обнаружить, амплифицировать и исследовать микро-РНК в малом количестве материала, что облегчает использование новых методов молекулярной диагностики. РНК сначала подвергается обратной транскрипции с образованием ее комплементарной копии (кДНК), которая затем служит матрицей для количественной ПЦР. Сложностью данного подхода в случае микроРНК является их малая длина в сочетании с необходимостью дифференцировать формы, отличающиеся всего несколькими нуклеотидами. Для решения этой проблемы используются, в частности, модифицированные олигонуклеотиды — «закрытые» нуклеиновые кислоты (Locked Nucleic Acids, LNA), которые обеспечивают большую специфичность детекции [2]. Например, микро-РНК можно использовать в качестве маркера диабетической нефропатии. При повреждении гена Dicer, кодирующего белок, который превращает незрелую микро-РНК в зрелую, происходит нарушение функции подоцитов с развитием протеинурии, тубу-

лоинтерстициального фиброза и гломерулосклероза. Также было установлено, что происходит увеличение количества микро-РНК miR-192 при повышении экспрессии TGF- $\beta$ 1 (трансформирующий фактор роста), который индуцирует изменения в почке: эпителиально-мезенхимальную трансдифференциацию (ЭМТ) подоцитов и тубулоцитов, гипертрофию клубочков и накопление белков экстрацеллюлярного матрикса [1].

В сыворотке крови и ткани почек пациентов с ДН и мышей линии db/db (линия мышей с «нуль» мутацией по рецептору лептина — LEPR) было обнаружено увеличение уровней miR-135, которое коррелировало с МАУ и почечным фиброзом. Оказалось, что miR-135 может индуцировать пролиферацию мезангиальных клеток и синтез белков ЭЦМ [1]. Argypouroulos С. и соавт., проанализировав профили микроРНК в моче больных СД1 при нормоальбуминурии, МАУ и у пациентов с явной ДН с ПУ, обнаружили ассоциацию между уровнями miR-323b-5p, miR-429 и miR-17-5p и персистенцией МАУ у больных с длительно существующей ДН. В другом исследовании было продемонстрировано, что у больных СД1 с МАУ уровни экзосомальной miR-155 и miR-424 в моче ниже, а miR-145 — выше по сравнению с группой нормоальбуминурии и здоровым контролем. Исследования свидетельствуют, что гиперэкспрессия miR-145 в клубочках (вероятно, индуцированная гипергликемией) потенциально может вызывать гипертрофию мезангиальных клеток и ремоделирование цитоскелета — ранние признаки ДН, в то время как miR-424 участвует в регуляции ангиогенеза, а miR-155 — модулирует эффекты ангиотензина II и SMAD белка, связанные с фиброзом [1]. Также нарушения, связанные с микро-РНК, встречаются при опухолевых процессах, патологиях гемопоэза. Например, отсутствие фермента Dicer приводит к нарушению развития Т-лимфоцитов. Микро-РНК могут быть и стимуляторами кроветворения, и его ингибиторами (miR-221, miR-222). Потеря активности miR-155, выполняющей функцию онкосупрессора, может привести к развитию лимфомы Беркитта, а повышение активности — к развитию диффузной В-крупноклеточной лимфомы [2]. В онкогематологии микро-РНК используются в основном для установления отдельных подтипов опухолей, прогнозирования течения заболевания, контроля лечения. Существуют «подписи» — совокупности различных микро-РНК, являющихся индикаторами успешности терапии. Была сформулирована микроРНК-«подпись» (включающая miR-186, -132, -16-1, -102, -29с), ассоциированная с экспрессией мутантной формы IgVH — благоприятного прогностического фактора. В дальнейшем была предложена расширенная «подпись» из 13 микроРНК (высокий уровень miR-15а, -195, -221, -23b, -155, -24-1, -146, -16-1, -16-2; низкий уровень miR-223, -29а-2, 29b-2, -29с), характерная для пациентов с немутированным IgVH и неблагоприятным прогнозом [2]. Также возможно терапевтическое применение микро-РНК. При лечении опухолевых заболеваний применимо увеличение или уменьшение количества определённых микро-РНК с помощью их синтетических аналогов, которые более устойчивы к нуклеазам и обладают большей способностью к проникновению в клетку [2]. Также микро-РНК участвуют в регуляции процессов образования костной ткани и её резорбции. От-

существование микро-РНК в остеокластах приводит к повышению плотности костной ткани. Стимулирующим эффектом на остеокластогенез обладают только несколько мкРНК, среди которых мкРНК127, мкРНК136, мкРНК133а, мкРНК148а [3]. У мышей при удалении яичников активировался синтез микро-РНК, повышающих остеокластогенез, и снижался синтез мкРНК-204, влияющей на остеобластогенез, что приводило к повышению резорбции костной ткани. Возможно, именно с этим и связано развитие постменопаузального остеопороза. Выявлена мутация мкРНК2861, в результате которой был нарушен остеобластогенез, что привело к редкой форме семейного остеопороза. В другом исследовании была установлена корреляция между высоким уровнем экспрессии мкРНК214 и снижением образования костной ткани. мкРНК214 подавляет активность остеобластов за счет воздействия на активатор фактора транскрипции 4. При блокировании мкРНК214 в эксперименте на мышах улучшалось костеобразование и увеличивалась минеральная плотность костной ткани [3].

Таким образом, нарушения, связанные с микро-РНК, играют большую роль в патогенезе различных заболеваний. Следовательно, выявление изменений в микро-РНК помогает правильно диагностировать данные заболевания и назначить соответствующее лечение. В перспективе данное направление молекулярной диагностики может стать одним из самых эффективных.

### Список литературы

1. Камышова Е.С., Бобкова И.Н., Кутырина И.М. Современные представления о роли микроРНК при диабетической нефропатии: потенциальные биомаркеры и мишени таргетной терапии // Сахарный диабет. — 2017. — №20 (1). — С. 42-50.
2. Аушев В.Н. МикроРНК: малые молекулы с большим значением // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2015. — №8(1). — С. 1-12.
3. Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А., Дедов И.И. Эпигенетические аспекты остеопороза // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2015. — №5. — С. 541-548.

### ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ФОРМЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КОШЕК

Вакуленко М.Ю., Пономарева В. Ф., Сергеева А.А.

*Кафедра генетики АБиБ им. Д.И. Ивановского ЮФУ, Ростов-на-Дону*  
*Кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в данной статье приведены результаты гистологических и цитологических исследований опухолей молочной железы в популяции кошек г. Ростова-на-Дону.

В последние годы наблюдается значительное увеличение частоты встречаемости рака молочной железы. Как в человеческой популяции, так и

среди мелких домашних животных [4]. Возникновение спонтанных опухолей у некоторых животных делает их пригодными для изучения опухолевого генеза, улучшения диагностических инструментов и развития успешных методов лечения у человека. Более короткий срок жизни и более быстрое прогрессирование рака у модельных видов позволяют быстрее завершить исследование и сбор данных [1]. В отличие от обычных лабораторных животных, таких как грызуны, кошки подвергаются тем же факторам риска окружающей среды, что и люди. Сравнительная геномика показала, что существует гомология между кошками и людьми по ключевым генам ассоциированным с раком молочной железы [5].

Научная гипотеза: Так как кошки живут рядом с человеком, они подвергаются сходным канцерогенным факторам. В связи с этим можно предположить, что у кошек и женщин возможно развитие схожих форм патологий молочной железы.

*Цель исследования:* Сравнить частоту встречаемости различных форм патологий молочной железы среди кошек и женщин.

Введение: Опухоли молочной железы у кошек считаются одной из наиболее встречаемой онкологической патологией среди всех регистрируемых опухолевых процессов у непродуктивных животных [4]. Развитие новообразований молочной железы у животных является серьезной проблемой современной ветеринарной медицины и ветеринарной онкологии [2, 3]. Опухоли молочной железы домашних животных сходны с опухолями человека, поэтому ветеринарные и медицинские онкологи могут взаимодействовать в поиске эффективных средств лечения онкологических заболеваний [3].

Материалы и методы: Нами были проведены гистологические исследования 15 новообразований молочной железы на базе гистологической лаборатории ветеринарного факультета ДГТУ, в период с 2017 по 2018 год. Нами были проанализированы истории болезней онкологических больных в ветеринарных клиниках «Центр» и «Феникс». Нами были изучены результаты цитологических анализов, предоставленных областной ветеринарной лабораторией ОАО «ВитаВет». Всего в исследовании были проанализированы гистологические и цитологические анализы новообразований молочной железы от 131 животного (*Félis silvéstris catus*).

Результаты: Анализ показал следующее распределение патологических форм опухолей молочной железы у кошек: аденокарцинома -31 животное, фиброзно-кистозная мастопатия-48 животных, фиброаденома – 29 животных, мастит- 9 животных, листовидная опухоль-2 животных, фиброаденома с переходом в карциному- 8 животных, карцинома *in situ*- 2 животных, не информативный материал- 2 животных.

Вывод: В популяции домашних кошек Ростова-на-Дону среди новообразований молочной железы преобладают злокачественные опухоли. Среди злокачественных новообразований встречаются те же патологические формы новообразований молочной железы что и у женщин, следовательно, домашние кошки являются хорошей моделью для изучения новых методов диагностики и лечения опухолей молочной железы, позволяя в дальнейшем приме-

нять полученные знания в практической деятельности врача по отношению к женщинам с аналогичными новообразованиями.

### **Список литературы**

1. Абдылдаев, Д.К. Прогностическая значимость клинимо-морфологических характеристик при медулярном раке молочной железы /Д.К. Абдылдаев, В.П. Летагин, В.Н. Богатырев, В.Д. Ермилова // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 2000 - Т. 11. №3. - С. 13-16.
2. Агапова, Л.С. Прогресс в изучении молекулярных основ онкогенеза и новые способы контроля опухолевого роста / Л.С. Агапова, Б.П. Копнин // Вестник Российской академии медицинских наук. 2007 - № 11. - С. 3-9.
3. Алешин, Б.В. Гистология: учебн. литература для студентов мед. вузов / Алешин и др. //Москва «Медицина», 2001. - С. 719-725
4. Якунина М. Н., Рак молочной железы у собак и кошек//VETERPHARMA № 2. - 2011. - С. 64-65.
5. Adeg F., Cat Mammary Tumors: Genetic Models for the Human Counterpart/ Adeg F., Borges A., Chaves R./ Veterinaty sciences № 3, august 2016. - P. 1-12.

### **ГЕНОТЕРАПИЯ НА ПРИМЕРЕ МУКОВИСЦИДОЗА**

Двалишвили С.Л., Малахова В.А., Ставиский И.М.

*Кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматривается лечение муковисцидоза с помощью методов генной терапии, которые основаны на прямом введении клонированных и определенно упакованных последовательностей ДНК в ткани больного.

Многие ученые и врачи бурно изучают методику генотерапии по всему миру. Проведено множество клинических исследований, где применялось лечение, основанное на введении различных генов. Данный метод лечения возник из таких разделов науки, как биология, молекулярная генетика и биотехнологии. В основном, когда обычные методы лечения уже перепробованы, то приступают к генотерапии. Сам ген воспринимается как новый фармацевтический препарат для лечения не только моногенных, но и полигенных, мультифакториальных, инфекционных заболеваний, а также любых других патологических состояний [1]. Генная терапия может спасти конечность тем больным, у которых сужен просвет сосудов в нижних конечностях и вследствие этого развилась стойкая ишемия окружающих тканей [2]. Хирургическим вмешательством и медикаментами таких пациентов лечить зачастую не получается, зато если локально заставить клетки выбрасывать наружу больше белковых факторов, которые повлияли бы на процесс образования и прорастания новых сосудов, то ишемия стала бы гораздо менее выраженной и жить больным пациентам было бы легче. Генную терапию сегодня можно определить, как лечение заболеваний путем



введения генов в клетки пациентов с целью направленного изменения генных дефектов или придания клеткам новых функций, чем ценна в медицине [3].

*Цель работы:* проанализировать метод генной терапии на примере кистозного фиброза и проследить перспективы развития генотерапии, как метод лечения в медицине. Генная терапия *in vivo* предусматривает доставку терапевтического гена непосредственно в клетки определенной ткани пациента. Особенно важно обеспечить доставку терапевтического гена к дефектным клеткам. Такую адресную доставку могут обеспечить модифицированные векторы, созданные на основе вирусов, способных инфицировать специфические виды клеток. Муковисцидоз, или кистозный фиброз, является тяжелым аутосомно-рецессивным заболеванием, еще недавно считавшимся летальным. Ген муковисцидоза, названный муковисцидозным трансмембранным регулятором (МТР), был картирован, а затем клонирован в 1989 г. [4]. Белок, кодируемый этим геном, так называемый трансмембранный регулятор проводимости (МТРП), является белком мембран эпителиальных клеток. Его главной функцией является создание регулируемого цАМФ хлорного канала. Мутации в гене МТР приводят к изменению структуры или количества белка МТРП, что обуславливает нарушение транспорта ионов и молекул воды через мембраны эпителиальных клеток большинства экзокриновых желез. В результате, слизь, выделяемая железами, становится обезвоженной, вязкой, что способствует развитию и сохранению в ней инфекции и воспалительного процесса. Рассмотрим несколько исследований и экспериментов для изучения благоприятных влияний генной терапии на заболевание муковисцидоз. Первое - эксперименты на культурах клеток, полученных от больных муковисцидозом, показали, что введение в клетку единственной копии кодирующей последовательности гена МТР, исправляет дефект ионного транспорта, характерный для этих клеток [6]. Второе - было показано, что ген МТР не требует особенной регуляции, т.к. в трансфицированной культуре клеток не наблюдается чрезмерной продукции белка МТРП [7]. И последнее - разработано несколько мышинных моделей муковисцидоза с мутациями в собственном гене МТР мыши, которые могут быть использованы для тестирования эффективности соматической генной терапии муковисцидоза. Следует заметить, что у мышей муковисцидоз проявляется не менее разнообразно, чем у человека. Только некоторые мышинные модели муковисцидоза обнаруживают типичные нарушения ионного транспорта и более или менее характерные клинические симптомы муковисцидоза человека, особенно в желудочно-кишечном тракте. В то же время при мышинном муковисцидозе практически отсутствуют симптомы нарушения ионного транспорта в тканях легких [8], что, естественно, ставит вопрос об адекватности моделей. Олтон с соавтором разработали элегантный неинвазивный метод выявления дефекта ионного транспорта с помощью измерения различий в электрическом потенциале эпителиальных клеток, выстилающих полость носа [9]. Этот метод продолжает использоваться практически во всех клинических протоколах генной терапии муковисцидоза, причем в большинстве клинических протоколов восстановление ионного транспорта в эпителиальных

клетках носа является суррогатной конечной целью испытаний с генной терапией муковисцидоза.

Таким образом, генная и клеточная терапия открывает блестящие перспективы для восстановления утраченных клеток и тканей, и генно-инженерного конструирования органов, что, несомненно, существенно расширяет арсенал методов для медико-биологических исследований и создаст новые возможности для сохранения и продления жизни человека.

### Список литературы

1. Орлов А. В., Симонова О. И., Рославцева Е. А., Шадрин Д. И. Муковисцидоз (Клиническая картина, диагностика, лечение, реабилитация, диспансеризация) Санкт-Петербург Издательство СЗГМУ им. И.И. Мечникова 2014.
2. Stefano Ferrari E. A., Griesenbach U. Progress and Prospects: Gene Therapy Clinical Trials (Part 1). GeneTherapy (2007) 14, 1439–1447; doi:10.1038/sj.gt.3303001.
3. Плотников М.В., Ризванов А.А., Масгутов Р.Ф., Мавликеев М.О. Первый клинический опыт применения прямой генной терапии VEGF и bFGF при лечении пациентов с критической ишемией нижних конечностей. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия Том VII, № 3, 2012
4. Culver K.W. Gene Therapy: A Handbook for Physicians. N.Y.: May Ann Liebert Inc. Publ., 1994. 117 p.
5. Riordan J.R., Rommens J.M., Kerem B.S., et al. (1989) Science, 245, 1066-1073.
6. Rommens J.M., Iannuzzi M.C., Kerem B.S., et al. (1989) Science, 245, 1059-1064.
7. Dorin J.R., Parley R., Webb S., et al. (1996) Gene Ther., 9, 797-801.
8. Grubb B.R., Boucher R.C. (1999) Physiol. Rev., 79 (Suppl.), S I 93-214.
9. Alton E.W.F.W., Hay J.G., Munro C. (1987) Thorax., 42, 815-817.

### БИОМАРКЕРЫ В НЕОТЛОЖНОЙ КАРДИОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ

Заргарян К.С., Чёрная А.С., Липилкин П.В., Волкова М.С.  
*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье проанализирована связь биохимических маркеров (показателей липидного профиля с показателем активности АСТ) у пациентов кардиологического отделения, а также рассмотрены современные методы диагностики инфаркта миокарда.

Первое место в структуре смертности от болезней системы кровообращения занимают ишемическая болезнь сердца (48%), одним из клинических проявлений которой является инфаркт миокарда. Одним из основных факторов, способствующих развитию сначала ишемической болезни сердца, а за-

тем и инфаркту миокарда, является атеросклероз [1]. Нарушения липидного обмена играют одну из важных ролей в развитии атеросклероза сосудов и заболеваний сердечно - сосудистой системы. Липидограмма, или липидный профиль, - это комплексное исследование, определяющее уровень липидов различных фракций крови. Позволяет обнаружить нарушение липидного обмена и оценить риск развития сердечно – сосудистых заболеваний [2]. А в основе программы лабораторной диагностики инфаркта миокарда лежит исследование активности ферментов сыворотки крови.

Цель исследования: проанализировать связь биохимических маркеров (показатели липидного профиля с показателем активности АСТ) у пациентов кардиологического отделения.

Материалы и методы: выборка состояла из лабораторных показателей 150 пациентов клиничко-диагностической лаборатории РостГМУ. Лабораторные показатели измерялись на анализаторе АБРИС+, Thermo Fisher Scientific (колориметрический), Core Lab Pоеіmo 60i. Группировка осуществлялась по критерию наличия повышенного показателя АСТ и переменных значений из липидограммы (ХС, ЛПВП, КА, ТАГ), с которыми проводился корреляционный анализ. Статистическая обработка данных выполнялась с применением статистического приложения к стандартному пакету программ Microsoft Office Excel 2010. Для сравнения частот использовался критерий соответствия Пирсона –  $\chi^2$ .

Результаты: при проведении корреляционного анализа с повышенным показателем АСТ наивысшую диагностическую значимость из переменных значений приобрели показатели ЛПВП и ТАГ ( $r=0,09$  и  $r=0,24$ ;  $m=\pm 0,03$  и  $m=\pm 0,10$  соответственно) при условии, что все исследуемые показатели имели слабую корреляционную связь с АСТ. Критерий соответствия Пирсона –  $\chi^2 = 0,09$  и  $\chi^2 = 0,23$  соответственно, что говорит об отсутствии статистически значимой разности сравниваемых групп.

Полученные показатели свидетельствуют об отсутствии прямой связи нарушений липидного обмена с повышенной активностью АСТ у данной выборки пациентов. Таким образом, применение рекомендованных маркеров в ранней диагностике острого инфаркта миокарда имеет ряд недостатков - возможность постановки ошибочного диагноза, позднее время обнаружения [4]. Именно с этим связаны поиски новых маркеров развития инфаркта миокарда. В последнее время все большее внимание уделяется специфическому белку тропонину Т [3].

Понятие «тропонин» не подразумевает какое-то однородное вещество, участвующее в сокращении мышечной ткани любой локализации, тропонин – это целый комплекс, образованный тремя белковыми субъединицами, каждая из которых имеет свои отличительные черты (аминокислотный состав, молекулярный вес, преимущественное место сосредоточения):

1. Тропонин Т связывается с тропомиозином, посредством которого присоединяет регуляторный тропониновый комплекс. В кардиомиоцитах (клетках миокарда) Тн Т вдвое больше нежели тропонина І, к тому же, по

своему аминокислотному составу от отличается от тропонина Т, находящегося в миоцитах других мышечных тканей;

2. Тропонин I подавляет активность АТФазы. Не глядя на то, что в клетках сердечной мышцы содержание Тн I находится в меньшинстве, специфичность и чувствительность данного маркера несколько выше, чем специфичность Тн Т;

3. Тропонин С «неравнодушен» к ионам кальция (сродство Тн С к  $\text{Ca}^{2+}$ ), он также находится в клетках миокарда, однако, в отличие от своих «собратьев», в диагностике некроза сердечной мышцы участия не принимает, поскольку по своему структурному строению Тн С, присутствующий в кардиомиоцитах и Тн С, населяющий другие мышечные ткани абсолютно идентичны, что не позволяет использовать данный белок в качестве маркера.

Тропониновый тест имеет прогностическое значение: если у больного нет повышения тропонина (в начале ангинозного приступа и через 12 ч), то у него отсутствует свежий инфаркт миокарда. При мелкоочаговом инфаркте миокарда тропонин начинает повышаться с такой же скоростью, как и МВ-КФК, но возвращается к норме более длительно (до 7—14 дней начального периода). Поэтому тропонины не только высокоспецифичные, но и «поздние» диагностические маркеры, позволяющие выявить «пропущенный» инфаркт миокарда, протекавший ранее без явных клинических и ЭКГ-признаков заболевания.

Методики определения сердечных тропонинов из года в год улучшаются и совершенствуются, внедряются новые реактивы и разрабатываются высокочувствительные (ультрачувствительные), не требующие больших временных затрат, тест-системы и наборы. Новейшие достижения в данной области позволяют «поймать» начало повышения показателя (буквально на 2-ом часу от возникновения острого инфаркта миокарда) и немедленно приступить к лечебным мероприятиям, направленным на спасение человеческой жизни.

### Список литературы

1. Expert Dyslipidemia Panel, Grundy S.M. An International Atherosclerosis Society Position Paper: global recommendations for the management of dyslipidemia. J. Clin. Lipidol. 2013; 6 (7): 561-565.
2. Toth P.P. Triglyceride-rich lipoproteins as a causal factor for cardiovascular disease // Vascular Health and Risk Manag. 2016. Vol. 12. – P. 171–183.
3. Диагностическое значение различных маркеров миокардиальной дисфункции у детей грудного возраста с патологией сердечно-сосудистой системы / О.А. Кисленко, Н.П. Котлукава, Н.А. Рыбалко. Педиатрия. 2011. - № 5. - С. 3-11.
4. Связь нарушений липидного обмена с тяжестью и характером поражения коронарных артерий у пациентов с ишемической болезнью сердца / А.А. Новицкая, О.Н. Хрячкова, В.В. Кашталап, О.В. Груздева, И.А. Шибанова, А.Н. Коков. МвК, 2016. - №1. – 128 с.

# РАДИОИММУНОТЕРАПИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ

Камельянова Е.Д., Шустанова Т.А.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** достижения молекулярной ядерной медицины широко применяются для диагностики и терапии заболеваний. Одним из современных методов лечения опухолей является радиоиммунотерапия, построенная на данных иммунологии и молекулярной ядерной медицины.

Радиоиммунотерапия (РИТ) - это комбинированный метод лечения, который совмещает в себе возможности радиотерапии и иммунотерапии. При иммунотерапии используются специально созданные в лабораторных условиях, меченные альфа-или бета-излучающими радионуклидами, моноклональные антитела против опухолеассоциированных антигенов, обладающие способностью распознавать раковые клетки и связываться с их поверхностью. Как правило, используются ослабленные антигены раковой опухоли для получения таких антител. Моноклональные антитела имитируют активность собственных антител организма пациента, которые в норме атакуют инородные объекты, такие как бактерии и вирусы. При РИТ используются моноклональные антитела, связанные с радиоизотопом. При введении в кровоток пациента содержащие радиоизотоп моноклональные антитела разыскивают раковые клетки и связываются с ними, что обеспечивает высвобождение высокой дозы излучения непосредственно в опухоли. Благодаря малым пробегам  $\alpha$ -частиц излучение воздействует в основном на опухоль, при этом лучевая нагрузка на окружающие здоровые ткани минимальна.

Сейчас для проведения РИТ используется два препарата: Ибритумомаб тиуксетан (торговое название Зевалин) на основе изотопа иттрия-90 ( $Y-90$ ) и Тозитумомаб (торговое название Веххар) на основе изотопа йода-131 ( $I-131$ ).

Перспективными изотопами для радиоиммунотерапии считаются  $^{212}Bi$  и  $^{213}Bi$ . При распаде  $^{212}Bi$  образуются  $^{208}Tl$  и  $^{212}Po$ , которые распадаются на стабильный изотоп –  $^{208}Pb$ . Пробег  $\alpha$ -частиц в биологической ткани менее 100 мкм. Это всего лишь несколько диаметров раковой клетки. Удельные потери (линейная передача) энергии достигает  $\sim 80$  кэВ/мкм.

$^{212}Bi$  и  $^{213}Bi$  – генераторные радионуклиды. Ибритумомаб селективно связывается с В-клетками, продуцирующими CD20 - антиген, находящийся на поверхности злокачественных и нормальных В-лимфоцитов, выделяющийся на стадии созревания клеток (пре-В-лимфоцитов). Во время преобразования В-лимфоцитов в плазматические клетки антиген CD20 утрачивается, поэтому препарат не действует на зрелые, нормальные лимфоциты, также не соединяется с иными лейкоцитами и прочими тканями человеческого организма. Изотоп иттрий-90 представляет собой излучатель со средней длиной пробега  $\beta$ -частиц в 5 мм, за счет чего убивает клетки-мишени с окружающими их В-пролимфоцитами. Блокировка нормальных В-клеток обеспечивает наиболее эффективное связывание препарата с клетками лимфомы. Снижение количества нормальных CD20-положительных клеток имеет временный характер -

восстановление нормальных В-клеток начинается через 6 месяцев, а к концу 9 месяца количество В-клеток возвращается к пределам нормы.

Радиоиммунотерапия одобрена для лечения следующих заболеваний: неходжкинская В-клеточная лимфома: как первично диагностированная, так и у пациентов, не ответивших на химиотерапию и лечение препаратом моноклональных антител Ритуксимаб и другие виды лимфомы. Потенциально РИТ можно применять также для лечения других опухолей. Например, рак предстательной железы, меланома, рак яичников, лейкемия, колоректальный рак и глиома головного мозга высокой степени злокачественности. Лечение действует в течение периода полураспада радиоактивного изотопа. При необходимости выполняют повторное введение – индивидуально.

### **Список литературы**

1. Бекман И.Н. Радиационная и ядерная медицина: физические и химические аспекты // Радиохимия. - Том 7. – 2012. – С. 1-8.
2. Абакушина Е.В., Абакушин Д.Н., Анохин Ю.Н. Экспериментальные и клинические подходы к радиоиммунотерапии в онкологии // Сибирский онкологический журнал. - 2014. - №3. С. 24-28.
3. <http://www.onkodoktor.ru/> Научно-общественное объединение онкологов «Инновационная противоопухолевая терапия»

### **СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ (NGS)**

Козуб В.К., Шустанова Т.А.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматривается метод секвенирования нового поколения (NGS) для диагностики онкологических, генетических и инфекционных заболеваний при помощи секвенатора MiSeq.

Секвенирование нового поколения(NGS) представляет собой процесс определения последовательности нуклеотидов в геномной ДНК или в совокупности информационных РНК путем образования дополнительных копий множества коротких участков генов. Принцип NGS основан на параллельном сегментировании специальным образом подготовленных одонитевых библиотек фрагментированной ДНК исследуемых образцов. NGS включает в себя: подготовку библиотек (фрагмент ДНК до 300-500 нуклеотидов), секвенирование и анализ полученных данных. Новые технологии секвенирования не только позволяют избавиться от главного недостатка метода Сэнгера, а именно низкой пропускной способности, а также позволяют одновременно, параллельно секвенировать тысячи коротких фрагментов ДНК. Секвенирование нового поколения зарекомендовало себя в качестве мощного инструмента медицинской генетики, позволив обнаружить гены, причастные к развитию многих редких заболеваний. В настоящее время в клинической практике данный метод применяется для диагностики онкологических, генетических и

инфекционных заболеваний. В частности, за последние несколько лет при помощи массового параллельного секвенирования были открыты генетические причины ряда синдромов (Фаулера, Сенсенбрэннера, Кабуки, Миллера)

*Цель работы:* изучить и дать полную характеристику методу секвенирования нового поколения (NGS), а также осветить актуальные проблемы в диагностике онкологических, генетических и инфекционных заболеваниях.

Благодаря применению современных методов (в частности, NGS) в генетике онкологических заболеваний появилась возможность разработки лекарственных препаратов, действующих непосредственно на молекулярную мишень в опухолевой клетке, не повреждая серьезным образом другие органы и ткани пациента, что имеет большое значение и с клинической и с экономической точки зрения. Применение новых препаратов, ориентированных на локальное воздействие молекулярных механизмов, требует обязательной идентификации генетических нарушений. Без проведения подобного исследования, лечение онкологических заболеваний малоэффективно, либо вообще неэффективно и пагубно влияет на организм пациента в целом, приводя к иммунодефициту, лейкемии и другим тяжелым побочным эффектам, связанных с полихимиотерапией. Таким образом, результаты секвенирования ДНК пациентов позволят выявить мутации в геноме и определить эффективность терапии. Пациенты, являющиеся носителями мутаций в онкогенах, должны проходить тщательный скрининг для раннего обнаружения раковых опухолей. Своевременное выявление мутаций с последующим диспансерным наблюдением позволит: прогнозировать развитие рака, выбрать индивидуальную стратегию лечения, проводить профилактику повторного заболевания и в конечном итоге избежать тяжелых последствий для пациента [1].

Врожденные наследственные заболевания составляют значительную долю наследственной патологии. Многие генетические заболевания, несмотря на достаточно высокий уровень медико-биологических знаний, представляют значительные трудности в своевременной диагностике и эффективном лечении и часто приводят к значительному нарушению качества жизни больных, инвалидизации и раннему летальному исходу. В настоящее время существует проблема диагностики аутизма у детей: во многих случаях специалисты могут расценивать настораживающие особенности раннего развития как признаки других нарушений самого широкого спектра, например, как проявление ДЦП, сенсорных или речевых нарушений, невропатии и т.д. К сожалению, коррекционная работа редко начинается до 3-летнего возраста, потому что, как правило, аутизм редко диагностируется до 3 лет. Это приводит к потере времени и уменьшает шансы выравнивания ребенка (общение, восприятие, моторика, интеллектуальное развитие, речь, игра, навыки социального поведения). В данном случае метод секвенирования нового поколения позволяет выявить нарушения в генах, которые ассоциированы с расстройствами аутистического спектра. Такой подход позволит осуществить раннюю диагностику аутизма у детей и своевременно начать поведенческую терапию, что позволит улучшить обучение, коммуникацию и социальные навыки ребенка.

В настоящее время секвенатор нового поколения MiSeq успешно применяется в диагностике инфекционных заболеваний. Технология секвенирования позволяет идентифицировать микроорганизмы в анализируемом образце путем секвенирования 16S рРНК бактерий [2]. Данная методика позволяет производить метагеномный анализ, т.е. расшифровку «суммарного» генома бактериологических сообществ, что может дать ясную картину микробной нагрузки при анализе вспышек внутрибольничных инфекций и детекции септических состояний. Результаты такого анализа позволят подобрать соответствующую терапию при лечении пациентов. Помимо точной идентификации возбудителей, глубокое секвенирование позволит проводить активный эпидемиологический надзор за динамикой развития и распространения лекарственной устойчивости. NGS успешно применяется в крупных медицинских центрах и лабораториях США и стран Европейского Союза: в частности, в Техническом университете г. Кайзерслаутерн (Германия). Таким образом, метод секвенирования нового поколения с использованием прибора MiSeq является оптимальным решением для клиничко-диагностических лабораторий. Применение данной технологии способно дать мощнейший толчок для развития медицинской области в Российской Федерации.

### **Список литературы**

1. Имянитов Е.Н. Принципы индивидуализации противоопухолевой терапии. Практическая онкология, 2013. - № 14. - С. 187—194.
2. Caporaso J.G., Lauber C.L., Walters W.A., Berg-Lyons D., Huntley J., Fierer N., Owens S.M., Betley J., Fraser L., Bauer M., Gormley N., Gilbert J.A., Smith G., Knight R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. ISME J 2012; 8: P. 1621-1624.

### **ЦИСТАТИН С – СОВРЕМЕННЫЙ МАРКЕР СКОРОСТИ КЛУБЧКОВОЙ ФИЛЬТРАЦИИ**

Курипко А.А., Гиголова Г.М., Волкова М.С.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматривается диагностическая значимость определения концентрации сывороточного цистатина С, биохимического маркера повреждения клубочков почек. Исследование показателей цистатина С в сочетании с показателями креатинина и мочевины позволяет более полно оценивать фильтрационную функцию почек.

Высокая медико-социальная значимость ренальной патологии обусловлена распространенностью заболеваний почек, превышающий 7-10% взрослого населения. Свыше 14% нефрологических больных составляют лица моложе 40 лет, причем течение заболеваний у них отличается затяжным течением и резистентностью к терапии [3]. Использование программы лабораторной диагностики, выявление критериев степени тяжести, контроль эффективности лечения, прогнозирование исхода заболевания почек, по данным современ-



ных лабораторных тестов, внесут дополнительный вклад в повышение эффективности борьбы с нефрологической патологией.

*Цель работы:* оценить концентрацию цистатина С как маркера снижения клубочковой фильтрации почек в комплексе с исследованием сывороточного креатинина и мочевины.

Мочевина стала первым маркером, использованным для оценки функции почек. Хотя оценка азота мочевины остается широко применяемым тестом при оценке функции почек, в настоящее время признается, что этот тест является субоптимальным маркером для такой цели [2]. Мочевина легко реабсорбируется канальцами, особенно при уменьшении объема, приводя к повышению концентрации в плазме, тогда как СКФ сохранена. Сывороточный креатинин заменил азот мочевины в оценке функции почек. И остается наиболее широко применяемым лабораторным тестом при оценке СКФ. Но у данного метаболита есть основной недостаток, в крови не увеличивается существенно до тех пор, пока почки не теряют свою функцию примерно на 50%, поэтому являются плохим индикатором незначительных нарушений на ранних стадиях почечных заболеваний. Поэтому в последнее время, большое внимание исследователей привлек новый маркер, с помощью которого можно оценить фильтрационную функцию почек, цистатин С. Цистатин С - негликозилированный белок с молекулярной массой 13,4 кДа и изоэлектрической точкой при  $pH=9,3$ . Относится к семейству ингибиторов цистеиновых протеиназ. Это белок, который: с постоянной скоростью синтезируется всеми клетками, содержащими ядра; свободно фильтруется через клубочковую мембрану; полностью метаболизируется в почках; не секретируется проксимальными почечными канальцами [1]. Цистатин С – идеальный маркер, не подвержен влиянию таких факторов, как возраст, пол, мышечная масса, особенности питания. И самое главное, у данного показателя нет «слепой зоны», характерной для креатинина [1]. Определение концентрации сывороточного цистатина С в рамках скрининговой программы является современным методом лабораторной диагностики, позволяющим выявить ренальную патологию на ранних стадиях. А исследование показателей цистатина С в сочетании с показателями креатинина и мочевины позволяет более полно оценивать фильтрационную способность почек.

### **Список литературы**

1. Михалева Л.Л., Диденко С.Н., Золотавина М.Л. Комплексная оценка диагностической значимости цистатина С при патологии почек у детей // Кубанский медицинский вестник. 2012. - №5. – С. 135-137.
2. Фергюсон М.А., Вайкар С.С. Установленные и вновь предлагаемые маркеры функции почек // Клиническая лабораторная диагностика. 2013. - № 11. – С. 3-5.
3. Шутов Л.М. Хроническая болезнь почек - глобальная проблема XXI века // Клиническая медицина. 2014. - № 5. – С.5-9.

# МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИБРАЦИОННОЙ БОЛЕЗНИ: РЕАЛИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Мищенко И.М., Смольянинова Л.П.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в работе проведен анализ литературных данных с целью выявления наиболее специфичных и значимых биомаркеров вибрационной болезни. Установлено, что наиболее информативными биомаркерами являются СОД эритроцитов, миелопероксидазы, уровень IgA, IgM, IgG, МДА, объем эритроцитов, концентрация гемоглобина, перекисный гемолиз эритроцитов, длительность агрегации тромбоцитов, уровень креатинина в моче. Перспективным в диагностическом плане является определение соотношения суммарного содержания насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот семейства омега-6 и омега-3, определение уровня белка S100B и HCE.

**Актуальность:** В структуре профессиональной заболеваемости вибрационная болезнь (ВБ) занимает одно из ведущих мест [15]. Наиболее высокая заболеваемость ВБ отмечается на предприятиях тяжелого, энергетического, транспортного машиностроения, горнорудной промышленности и достигает 10 случаев на 10 тыс. работающих [3]. Несмотря на распространенность, диагностика ВБ вызывает определенные трудности, поскольку характеризуется незначительной клинической выраженностью на ранних стадиях развития [10]. В современной медицине не существует метода, принятого в качестве «золотого стандарта» для диагностики ВБ. Однако, общепринятая методика направлена на выявление периферического ангиодистонического синдрома и вегетативно-сенсорной полинейропатии. Так же, лабораторные исследования, по оценке ВОЗ, дают до 60-80% диагностической информации о течении патологического процесса. Однако широко применяемые на практике способы диагностики ВБ не позволяют выявить заболевание на ранней субклинической стадии и не дают четкой количественной оценки диагностических признаков патологии. Это диктует необходимость расширения арсенала лабораторных методов в диагностике ВБ.

**Цель:** Провести оценку наиболее информативных и значимых лабораторных тестов на основе анализа литературных данных.

**Результаты:** Вибрация воздействует на все ткани организма человека, но наиболее восприимчива к ней нервная и костная ткань. Воздействие высокочастотных вибрационных колебаний приводит к рефлекторной вазоконстрикции с развитием ангиоспастического синдрома, а воздействие низкочастотных колебаний вызывает атонию или спастико-атонию капилляров, что приводит к нарушению тканевой микроциркуляции и трансапиллярного обмена [3], что обуславливает тканевую гипоксию с развитием трофических нарушений, в т.ч. и в нервной системе. Т.о., ВБ выражается ангиотрофоневрозом, который может приобретать генерализованный характер.

Кроме того, под действием вибрации в организме происходят изменения иммунологических показателей, окислительного метаболизма, перифе-

рической крови, кислотно-основного равновесия, функциональной активности нейтрофилов, реологических свойств крови, гормонального статуса, липидного обмена и др. Наибольшей диагностической чувствительностью обладают показатели окислительного метаболизма: очень рано, еще на доклинической стадии, на 10-14% снижается активность супероксиддисмутазы (СОД) в крови, на 15% миелопероксидазы (МПн) в нейтрофилах, на 32% количество альфа-токоферола (а-ТК) и на 24% повышается концентрация малонового диальдегида (МДА). Все это свидетельствует об угнетении системы антиоксидантной защиты (АОЗ) и активации процессов перикисного окисления липидов (ПОЛ) [1]. В 4,5 раза при ВБ возрастает концентрация креатинина в моче, что связано с повреждением мышечной ткани. Повышение уровня этого показателя выявляется у 72% заболевших ВБ. Даже у рабочих с остаточными явлениями ВБ содержание креатинина в моче остается повышенным в 38% случаев [1]. Со стороны иммунной системы наблюдается повышение IgA и IgG, а также понижение IgM. При подозрении на ВБ повышение IgA отмечается у 80% пациентов, IgG у 47%, а снижение IgM у 65%. При наличии клинической картины ВБ изменение уровней иммуноглобулинов отмечается в 80-100% случаев [1, 6]. Таким образом, имеет место активация гуморального иммунитета на фоне повышения показателей острого и хронического воспаления.

Под действием отмечается повышение объема эритроцитов и увеличение концентрации гемоглобина в крови. Характер изменения объема эритроцитов зависит от выраженности воздействия вибрации. При 2 стадии ВБ: показатель повышен у 90% пациентов [5]. В основе процесса - раздражение эритрона, вызванное механическими колебаниями. Механическое воздействие повышает распад эритроцитов, что обуславливает увеличение объема оставшихся. Повышение концентрации гемоглобина характерно для 1 стадии ВБ [5]. Результатом повреждения мембран клеток крови является повышение перекисного гемолиза эритроцитов (ПГЭ). Интенсивно повышается спонтанная агрегация тромбоцитов и понижается индуцированная аденозиндифосфатом (АДФ) агрегация, что является следствием стимуляции ПОЛ в тромбоцитах, повышения уровня малонового диальдегида и снижения активности ферментативного звена антиоксидантной защиты (каталазы). Отмечены достоверные сдвиги в гепариновом обмене: снижение уровня свободного гепарина крови, повышение гепаринлиазной активности крови. Изменения агрегатного состояния крови достоверно коррелируют с тяжестью микроциркуляторных расстройств при ВБ [9].

При изучении функционально-метаболического состояния нейтрофилов у пациентов с ВБ отмечается уменьшение активности щелочной фосфатазы и содержания гликогена в нейтрофилах, что может быть вызвано уменьшением концентрации трийодтиронина в сыворотке крови [2]. Установлено, что ТЗ при введении *in vivo* оказывает стимулирующее влияние на обменные процессы в нейтрофильных гранулоцитах [13], вызывая при этом общее повышение метаболического статуса клеток с сохранением механизмов антиоксидантной защиты [14]. На практике, в настоящее время чаще

всего используют определение показателей антиоксидантной защиты, гуморального иммунитета, периферической крови, свертывающей системы, а также некоторые биохимические показатели крови (ЩФ, креатинин).

В связи с поиском наиболее информативных биомаркеров вибрационной патологии, заслуживает внимания изучение нарушений липидного обмена, поскольку липиды клеточных мембран и нервной ткани подвергаются дегенерации при воздействии локальной вибрации. Происходит нарушение метаболизма высших жирных кислот в сторону увеличения их насыщенности, что определяет ослабление антиоксидантной защиты организма. Изменение соотношения суммарного содержания насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот семейства омега-6 и омега-3 может служить критерием при постановке диагноза ВБ [8].

Хорошие диагностические результаты дает определение нейроспецифической енолазы (НСЕ). В настоящее время этот показатель в основном используют как онкомаркер, однако, эта некрупная белковая молекула, имеющая строгую тканевую специфичность и тропность к нервной ткани, может рассматриваться в качестве важнейшего маркера поражения нервных структур [4]. Уровень НСЕ в сыворотке крови определяют методом иммуноферментного анализа (ИФА) и дает возможность количественной оценки выраженности ВБ. При содержании НСЕ менее 20 нг/мл ВБ отсутствует. При наличии ВБ уровень НСЕ колеблется от 20 до 30 нг/мл. При НСЕ более 30 нг/мл можно говорить о ВБ второй степени тяжести [7].

Особо следует остановиться на перспективах оценки уровня белков S100 для диагностики ВБ. Белки S100 выполняют внутриклеточное и экстраклеточное регулирование многих биологических механизмов, обеспечивающих рост и подвижность нервных клеток, участвуют в регуляции клеточного цикла. Эти белки принимают участие в обеспечении транскрипции и дифференциации, в энергетическом метаболизме, а также во многих других жизненно важных процессах, обеспечивающих жизнеспособность клетки [12]. В настоящее время найдено не менее 25 белков, составляющих субпопуляцию S100 [11]. В нервной системе представлены, главным образом, мономерные белки S100A1 и S100B. Основная часть их (до 85-95%) сосредоточена в клетках астроглии, меньше (до 10%) в нейронах, незначительное количество в олигодендроцитах и шванновских клетках. Наиболее изучена биологическая активность белка S100B. Показано, что этот онкомаркер играет важную роль в процессах апоптоза и цитопротекции [4]. При развитии ВБ уровень белка S100B увеличивается почти на 50% относительно нормальных значений. Его уровень не только повышается, но и меняется в зависимости от продолжительности и выраженности заболевания. При проведении сравнительного анализа белка S100B и НСЕ была продемонстрирована большая специфичность и чувствительность первого биомаркера [4]. В будущем определение белков S100 и НСЕ должно найти широкое применение не только в онкологии, но и в профпатологии.

Таким образом, применение комплекса лабораторных исследований позволяет выявить ранние доклинические изменения, оценить выраженность

изменений при развернутой клинической картине, а также установить степень нарушений у лиц с остаточными явлениями вибрационной патологии.

Выводы:

1. Одним из путей снижения заболеваемости ВБ является раннее выявление рабочих с признаками негативного воздействия вибрации.

2. Лабораторные показатели в сравнении с инструментальными обладают высокой чувствительностью, диагностической значимостью и специфичностью. Они отражают изменения как при наличии морфологических повреждений, так и начальных сдвигах в течении биохимических процессов.

3. Наиболее информативными биомаркерами для диагностики ВБ являются СОД эритроцитов, МПн, уровень IgA, IgM, IgG, МДА, объем эритроцитов, концентрация гемоглобина, ПГЭ, длительность агрегации тромбоцитов, уровень креатинина в моче.

4. При развитии ВБ происходит нарушение процессов окислительного метаболизма, изменяются показатели гуморального иммунитета, периферической крови, усиливаются мышечно-дистрофические процессы.

5. Соотношение суммарного содержания насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот семейства омега-6 и омега-3 может служить критерием при постановке диагноза ВБ.

6. Определение уровня белка S100B и HCE при диагностике ВБ являются высокоспецифичными и чувствительными показателями оценки степени вибрационного воздействия и выраженности вибрационной патологии.

### Список литературы

1. Антошина Л.И., Павловская Н.А., Яцына И.В. Информативные лабораторные биомаркеры для выявления негативного воздействия вибрации на организм рабочих. Клиническая лабораторная диагностика, №1, 2015, С. 20.

2. Долгушин М.В., Бодиенкова Г.М., Лизарев А.В. Оценка функционально-метаболических показателей системы крови при вибрационной болезни. Известия Самарского научного центра Российской академии наук, т.11, №1(6), 2009. – С. 20.

4. Ошкодеров О.А. Оптимизация диагностики вибрационной болезни с применением нейроспецифических биомаркеров. Дис....канд. мед. наук. ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана». Москва, 2017. Измеров Н.Ф., Суворов Г.А. Физические факторы производственной и природной среды. Гигиеническая оценка и контроль. М., Медицина. 2003.

5. Павловская Н.А., Антошина Л.И. Выбор лабораторных биомаркеров для раннего выявления неблагоприятного действия вибрации на организм. Клиническая лабораторная диагностика, 2012, №1, С. 13-15.

6. Павловская Н.А., Антошина Л.И. Сухова А.В. Информативность лабораторных биомаркеров при воздействии комплекса неблагоприятных производственных факторов на организм горнорабочих. Здоровье населения и среда обитания., №12, 2011, С. 39-42.

7. Патент РФ № 2010116540/15 26.04.10. Способ диагностики вибрационной болезни // Патент России RU 2 423 708 C1. Оpub. 10.07.2011, Бюл.№19/ Коневских Л.А., Макогон И.С., Бушуева Т.В.
8. Петрова И.А., Гордеев А.С., Федотова И.В. Диагностические критерии вибрационной болезни на основе оценки жирно-кислотного состава сыворотки крови. Клиническая медицина. 2013. том5, №3, С. 83-88.
9. Потеряева Е.Л. Роль нарушений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в патогенезе вибрационных микроангиопатий//Бюллетень СО РАМН. 2004. №4(114). С. 52-53.
10. Профессиональная патология: национальное руководство / под ред. Н.Ф. Измерова. М:ГЭОТАР-Медиа; 2011; 784с.
11. Davydov D.M. Neurodevelopment and phenotype-modulating functions of S100B protein: a pilot study/ Davydov D.M. [et al.]/Physiology and Behavior.- 2015.- Vol.140. P.188-196
12. Fabrizio Michetti. The S100B protein in biological fluids: more than a lifelong biomarker of brain distress/ Fabrizio Michetti [et al.]/Journal of Neurochemistry.-Vol.120-Issue 5, p. 644-659.
13. Fernandez V. On the mechanism of thyroid hormone-induced respiratory burst activity in rat polymorphonuclear leucocytes/ V.Fernandez, L.A. Videla// Free radic. Biol. Med.-1995.-№3.-P. 359-363.
14. Magsino C.H.(Jr). Effect of triiodothyronine on reactive oxygen species generation by leukocytes, indices of oxidative damage and antioxidant reserve / C.H.(Jr) Magsino, W. Hamouda, H. Ghanim et al. // Metabolism.-2000.-№6.- P. 799-803.
15. Palmer K.T., Griffin M.J., Bendall H., Pannett B., Coggon D. Prevalence and pattern of occupational exposure to hand transmitted vibration in Great Britain: findings from a national survey. Occup Environ Med 2000; 57(4): 229-236.

## **ПОСТГЕНОМНАЯ ЭРА В МЕДИЦИНЕ**

**Логвина М.В., Моргуль А.Р., Коновалова О.В.**

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматриваются новые направления изучения генома живых организмов. Практическое применение этих направлений открывает новые перспективы диагностики, лечения и профилактики социально-значимых заболеваний.

В конце XX века произошла «геномная революция». Она возникла благодаря значительному развитию современных технологий и стала опорной точкой в постгеномной эре в медицине. В ее основе лежат новые исследования и открытия в области молекулярной биологии и генетики, которые привели к появлению «омных» наук.

В 80-90-е годы появились первые проекты по секвенированию геномов живых организмов, которые стали стартовой точкой развития нового направления – геномика. Геномика изучает структуру, функции и эволюцию генов

на молекулярном, хромосомном, биохимическом и физиологическом уровнях. Термин был предложен Т.Родерикком в 1986 г. [1]. Геномика дает возможность ранней диагностики и профилактики болезней, применение эффективной генотерапии, разработки лекарственных препаратов «направленного действия».

*Цель работы:* изучить новые разделы постгеномной медицины. Функции генов могут быть установлены на основании изучения синтезируемых иРНК, белков и образуемых метаболитов, поэтому появились следующие разделы: транскриптомика, протеомика и метаболомика. Транскриптомика – изучает совокупность всех транскриптов, синтезируемых в данном организме, или специфический набор транскриптов (молекул РНК). Целью транскриптомики является описание механизмов регуляции экспрессии генов [2]. Сравнение транскриптомов нормальных и патологических образцов позволяет идентифицировать новые маркеры, проследивать изменение их уровней во времени, судить о динамике патологии, об эффективности проводимого лечения и прогнозировать его результат. Например, транскриптомика позволяет дифференцировать отдельные виды рака и их подтипы, требующие разных схем терапии. Протеомика изучает белковый состав биологических объектов и их структурно-функциональные свойства. Термин был предложен М. Уилкинсоном в 1994 году для обозначения белкового дополнения к геному [3]. Методы протеомного анализа позволяют выявить конкретные белки, потенциально вовлеченные в развитие болезни, которые в дальнейшем могут стать мишенями для новых лекарственных препаратов. На сегодняшний день хорошо изучены маркеры сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний на ранних стадиях. Метаболомика изучает все метаболиты организма, являющиеся конечными продуктами обмена веществ в клетке, ткани, органе. Полученные результаты отражают физиологические процессы [4]. Обнаружены нарушения метаболизма, вызванные эндогенными и экзогенными факторами, при трансплантациях (до и после), при изучении токсичности лекарственных препаратов (токсикогеномика), реакций организма на лекарственные препараты (фармакогеномика), при определении индивидуальных особенностей реакции организма на различные пищевые продукты (нутриномика). Основной задачей постгеномной эры является выяснение того, как генетическая информация реализуется на других уровнях организации биологических объектов, что привело к переходу от исследования отдельных веществ к исследованию их совокупностей.

Постгеномная эра позволила не только говорить о применении множества наук в системном подходе, но и позволила сформировать такую отрасль медицины как персонализированная медицина. Появилась возможность подходить к конкретному пациенту с помощью индивидуального подхода.

### **Список литературы**

1. Васильев Г.В. Геномика // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Том 18, № 1. – С. 158-165.

2. Wang Z., Gerstein M., Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics // Nat Rev Genet. - 2009. - Vol. 10, No. 1. –P. 57-63.

3. Сучков С.В., Гнатенко Д.А., Костюшев Д.С. [и др.] Протеомика как фундаментальный инструмент доклинического скрининга, верификации анализов и оценки применяемой терапии // Вестник РАМН. – 2013. – №1. – С.65-71.

4. Фурина Р.Р. Метаболомические исследования в онкологии // Российский онкологический журнал. – 2014. – №4. – С.12-15.

## **ПРИНЦИПЫ И ФОРМЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ**

Налесная Д.А., Магомедова А.М., Шустанова Т.А.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** клиническая лабораторная диагностика (КЛД) - медицинская специальность, предметом деятельности специалистов которой выступают клинические лабораторные исследования, т.е. изучение состава образцов биоматериалов пациентов с задачей обнаружения/измерения их эндогенных или экзогенных компонентов, структурно или функционально отражающих состояние и деятельность органов, тканей, систем организма, поражение которых возможно при предполагаемой патологии. Основные виды исследований, проводящихся в КДЛ: клиническая биохимия, лабораторная, гематология, коагулология, цитология, лабораторная генетика, молекулярная биология, иммунология, изосерология, бактериология, вирусология, микология, паразитология, химико-токсикологические исследования, терапевтический мониторинг лекарственных средств.

В рамках клинической лабораторной диагностики производится оценка состояния обследуемого пациента путем изучения специфических для каждой дисциплины объектов в едином носителе информации и исследовательском поле (биоматериале пациента). Заказчиком исследований является лечащий врач или врач, организующий диспансерное обследование. Именно врач определяет конкретную цель исследований и организует сбор и взятие биоматериала.

**Цель исследования:** оценка состояния здоровья человека при профилактическом обследовании, обнаружение признаков болезней (диагностика и дифференциальная диагностика); определение характера и активности патологического процесса; оценка функциональных систем и их компенсаторных возможностей; определение эффективности проводимого лечения; лекарственный мониторинг, определение прогноза заболевания, определение достижения результата лечения.

Полученная в конечном итоге информация используется при принятии до 70% медицинских решений практически во всех клинических дисциплинах. Лабораторные исследования включены в программу диспансеризации, в стандарты медицинской помощи при большинстве форм патологии. Высокая



востребованность лабораторных исследований демонстрируется ежегодным приростом их количества по стране [1]. Согласно статистическим данным Минздравсоцразвития Российской Федерации, только лаборатории учреждений здравоохранения министерского подчинения (без ведомственных, частных) в течение года выполняют свыше 3 млрд анализов. Лабораторные исследования составляют 89,3% общего количества объективных диагностических исследований. Анализ отчетов по регионам однозначно свидетельствует о росте количества исследований и увеличении технологичных исследований. В ведомственных учреждениях здравоохранения обеспечение анализами пациентов заметно выше, чем в среднем по стране. Это, а также быстрый рост объема исследований, выполняемых в коммерческих лабораториях, позволяет говорить о неполном удовлетворении реальной потребности в данном виде медицинских услуг, причем как специализированных, так и массовых рутинных [2].

Основные задачи КДЛ:

- проведение клинических лабораторных исследований в соответствии с профилем ЛПУ (общеклинических, гематологических, иммунологических, цитологических, биохимических, микробиологических и других, имеющих высокую аналитическую и диагностическую надежность) в объеме согласно заявленной номенклатуре исследований при аккредитации КДЛ в соответствии с лицензией ЛПУ;

- внедрение прогрессивных форм работы, новых методов исследований, имеющих высокую аналитическую точность и диагностическую надежность;
- повышение качества лабораторных исследований путем систематического проведения внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований и участия в программе Федеральной системы внешней оценки качества (ФСВОК);

- оказание консультативной помощи врачам лечебных отделений в выборе наиболее диагностически информативных лабораторных тестов и трактовке данных лабораторного обследования больных;

- обеспечение клинического персонала, занимающегося сбором биологического материала, детальными инструкциями о правилах взятия, хранения и транспортировки биоматериала, обеспечивающими стабильность образцов и надежность результатов. Ответственность за точное соблюдение этих правил клиническим персоналом несут руководители клинических подразделений;

- повышение квалификации персонала лаборатории;

- проведение мероприятий по охране труда персонала, соблюдение техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима в КДЛ;

- ведение учетно-отчетной документации в соответствии с утвержденными формами.

Главной целью деятельности клинико-диагностической лаборатории при выполнении аналитических процедур является качественное выполнение

лабораторных исследований, при высоком уровне сервисного обслуживания пациента, его безопасности и безопасности персонала лаборатории [3].

Для реализации этой цели диагностические лаборатории должны соответствовать ряду требований:

- выполнять набор удовлетворяющих пациента современных информативных методов лабораторной диагностики;
- обладать материально-технической базой, адекватной поставленным задачам и соответствующей нормативным документам Минздрава России;
- контролировать качество проводимых исследований в соответствии с документами, регламентирующими деятельность КДЛ (приказы Минздрава России и соответствующие национальные стандарты);
- располагать высокопрофессиональными лабораторными кадрами;
- иметь высокий уровень организации и управления деятельностью лаборатории на основе новейших информационных технологий (наличие лабораторно-информационной системы (ЛИС));
- гарантировать высокий сервисный уровень.

В настоящее время идет тенденция к образованию крупных централизованных лабораторий, занимающихся высокотехнологичными, дорогостоящими и редкими видами исследований. Создание их позволяет решить ряд проблем, которые возникли в процессе развития диагностической службы. Как правило, организуют подобные учреждения на базе крупных региональных медицинских центров, так как это позволяет минимизировать риск возникновения ошибок на стадии преаналитического этапа и уменьшить расходы на логистику, а также частично решает вопрос дефицита квалифицированных кадров.

### **Список литературы**

1. Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 976 с.
2. Скворцова Р.Г. Современные подходы к организации клиничко-диагностической лаборатории // Сибирский медицинский журнал. – 2013. - № 6. – С.4-8
3. Кишкун А.А., Годков М.А. Централизация клинических лабораторных исследований. Методические рекомендации. М.: 2013. – 129 с.

## **РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ЛАКТАТА И ПИРУВАТА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Рябцев А.С., Шустанова Т.А.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматривается важность исследования таких биохимических показателей крови и ликвора, как уровень лактата и пирувата, в клинической практике для дифференциальной диагностики заболеваний

со сходными симптомами, а также их роль в оценке адекватности проводимой терапии.

Определение уровня лактата и пирувата в организме пациентов является одним из актуальных, доступных и эффективных методов диагностики различных заболеваний. С момента описания в 1927 году J. Meakins и C. Long связи между повышением уровня лактата в крови и наличием признаков тканевой гипоксии у пациентов с циркуляторным шоком, уровень лактата оценивается как маркер тканевой гипоксии у этой группы больных. С другой стороны, лактат является нормальным конечным продуктом гликолиза в соответствии с реакцией:  $\text{ПИР} + \text{НАДН} + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{ЛАК} + \text{НАД}$ .

Метаболизация лактата осуществляется в основном в печени путем превращения в пируват. Следовательно, уровень лактата зависит от метаболизма пирувата. Из уравнения, которое было предложено выше, видно, что даже в случае нормального соотношения  $\text{NAD/NADH}$  и pH клетки, уровень лактата будет расти при избыточном образовании пирувата, нарушении его утилизации или конверсии в ацетил-коэнзим-А. Утилизация пирувата нарушается при дефиците пируватдегидрогеназы (врожденные нарушения метаболизма). Дисфункция пируватдегидрогеназного комплекса может проявляться также при сепсисе, приводя к повышению уровня пирувата и лактата в крови.

В целом нарушение обмена лактата и пирувата может быть связано с патологическими изменениями функционирования митохондрий. Это вызывает такие симптомы, как повреждение мышц, задержка умственного развития, судороги, накопление лактата в крови, ведущее к ацидозу, недостаточность функций внутренних органов, в том числе сердца, легких, почек и печени. В зависимости от этиологии различают четыре типа нарушений уровня лактата крови (лактацидоза): А, В1, В2, В3 [1]. Тип А, наиболее часто встречающийся в клинической практике, является следствием снижения оксигенации тканей, то есть тканевой гипоксии (все виды шока, отравление монооксидом углерода, отек легких, острая асфиксия, застойная сердечная недостаточность). Тип В1 характерен для таких заболеваний, как диабет, болезни печени и почек, некоторые инфекции, неопластические процессы, судорожный синдром. Например, при бактериемии одним из механизмов повышения лактата является повреждение пируватдегидрогеназного комплекса эндотоксином бактерий. Тип В2 — лактат-ацидоз, вызванный некоторыми лекарственными препаратами или ядами. Так, терапия диабета бигуанидами сопровождается лактацидозом вследствие снижения активности пируваткарбоксилазы, приводящей к ингибции глюконеогенеза. Тип В3 включает достаточно редкие врожденные аномалии, связанные с нарушением митохондриального окисления пирувата (митохондриальные энцефаломиопатии). Анализ публикаций, посвящённых митохондриальным патологиям, показал, что в медицинской практике существует актуальная проблема их своевременной и точной дифференциальной диагностики. При этом наряду с другими методами

исследования, в постановке первичного диагноза важную роль играет биохимическое исследование крови и ликвора пациентов на лактоацидоз [2].

На наш взгляд, мониторинг уровня лактата в крови, во-первых, способствует дифференциальной диагностике редких заболеваний (преимущественно в случае с лактоацидозом типа В3). Во-вторых, позволяет оценить адекватность проводимой терапии и прогнозировать состояние пациентов (лактоацидоз типа А, В1, В2, В3). Исследования в данной области доказывают эффективность мониторинга уровня лактата при политравмах, онкологических, сердечных заболеваниях, инфекционных процессах. Например, по данным Roumen и Redl, опубликованным в 1993 году [3], снижение уровня лактата крови на фоне интенсивной терапии оказалось хорошим показателем ее адекватности. При лейкемии и других неопластических процессах, для которых характерно хроническое повышение уровня лактата крови, его снижение является признаком эффективности терапии цитолитиками.

Mullner M, Sterz F, Domanovits et al. в 1997 году показали прогностическую значимость лактата крови. Авторы отмечают 100% специфичность уровня лактоцидоза 16 ммоль/л (при норме - до 1,8 ммоль/л) в развитии неврологических дефицитов после перенесенной фибрилляции желудочков [4, 5]. Kellum J. в публикации 1998 года подчеркивает, что лактемия при септических состояниях связана не столько с кислородным дефицитом тканей, сколько с усилением аэробного и анаэробного гликолиза, параллельно с разобщенностью пируватдегидрогеназного комплекса. Также автор отмечает не диагностическую значимость уровня лактата *per se*, а его значимость в качестве маркера «неблагополучия» [6]. При остром течении некоторых инфекционных заболеваний с целью отслеживания динамики следует измерять уровень лактата в ликворе. В соответствии с принятыми в 2017 г. критериями качества специализированной медицинской помощи (Приказ МЗ № 203) лактат в СМЖ также рекомендуется измерять взрослым и детям при болезни Лайма и клещевом вирусном энцефалите [7].

Таким образом, измерение и интерпретация уровня лактата и, при необходимости, уровня пирувата в крови и ликворе показаны при лечении любого больного в критическом состоянии, а также должны применяться при дифференциальной диагностике. Обнаруженные в ходе биохимического анализа отклонения от нормы являются маркерами серьезных метаболических нарушений, требующих дальнейшего уточнения диагноза, что особенно актуально для трудно диагностируемых митохондриальных патологий. В свою очередь, интерпретация уровня лактата и пирувата в крови и ликворе пациентов с уже уточнёнными диагнозами поможет оценить эффективность проводимой терапии и динамику течения заболевания.

### **Список литературы**

1. Торшин В. А. Значение уровня лактата крови в клинической экспресс-диагностике // РМАПО, Москва // <http://quickmed.ru/klinicheskoe-znachenie-urovnja-laktata>

2. Иллариошкин С.Н. Алгоритм диагностики митохондриальных энцефалопатий // <https://cyberleninka.ru/article/n/insultopodobnoe-techenie-mitochondrialnoy-entsefalomiotatii-sindrom-melas>.

3. Roumen RMH, Redl HR, Schlag G et al. Scoring systems and blood lactate concentration in relation to the development of adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure in severely traumatized patients. J Trauma 1993; 35: P. 349—55.

4. Mullner M, Sterz F, Domanovits et al. The association between blood lactate concentration on admission, duration of cardiac arrest and functional neurological recovery in patients resuscitated from ventricular fibrillation. Intensive Care Med 1997; 23: P. 1138—1143.

5. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998.

6. Kellum J, A lactate and pH: Our continued search for markers of tissue distress. Crit Care Med 1998; 26 (11): P. 1783—1784.

7. Приказ Минздрава РФ от 10.05.2017 N 203н – Об утверждении критериев оценки качества медицинской помощи – Действующая первая редакция – Зарегистрировано в Минюсте РФ 17.05.2017 N 46740 – Начало действия документа 01.07.2017.

## **МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ СЕРЕДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

Соболь В.С., Макаров М.А., Шестакова Т.Е.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** одной из важных проблем современной кардиологии является ранняя диагностика, совершенствование лечения и прогнозирование течения острого коронарного синдрома. В течение длительного времени митохондриальным дисфункциям не уделялось должного внимания, хотя они могут играть важную роль в формировании атеросклеротических поражений артерий, вызывая различные дефекты в белковой цепи некоторых дыхательных ферментов.

За несколько последних десятилетий в медицине интенсивно развивается так называемое «метаболическое» направление, ставящее своей целью теоретический и прикладной анализ обменных процессов на различных уровнях как основу или фон для многих болезней. Особенно активно формируются представления о роли нарушений энергетического метаболизма при сердечно-сосудистой патологии, в частности при ОКС [1].

Метаболизм на уровне целостного организма, органов и тканей представляет собой сложный комплекс процессов, обеспечивающих жизнедеятельность живой материи. Ключевое звено этого комплекса – митохондрия. Следовательно, нарушение клеточного метаболизма, в основе которого лежит митохондриальная дисфункция, ведет к широкому спектру клинических проявлений, в том числе и кардиологических – от умеренных функциональ-

ных заболеваний до ишемической кардиопатии. Известно, что митохондриальная дисфункция является одним из патогенетических факторов в развитии острой коронарной патологии. Основным механизмом данной патологии является недостаточность энергетических механизмов и субстратов. Она не имеет этиологической и нозологической специфики. Основными показателя нарушения энергетических возможностей миокарда является изменение количественного состава ферментов основных процессов. Таким образом, измеряя эти ферменты и субстраты можно судить о патологии энергетического обмена в миокарде и степени развития митохондриальной дисфункции.

На сегодняшний день одной из важных проблем кардиологии является ранняя диагностика, совершенствование лечения и прогнозирование течения острого коронарного синдрома (ОКС). Учитывая высокую социально-экономическую значимость этой патологии, представляется весьма актуальным внедрение новых методов ранней диагностики, медикаментозной коррекции и оценки прогноза у этой категории больных [2].

ОКС – острый коронарный синдром, имеющий общую морфологическую основу в виде разрыва атеросклеротической бляшки с последующим кровоизлиянием в нее. Все проявления ОКС обусловлены митохондриальной гипоксией. В митохондриях происходит замедление работы аэробного пути окисления глюкозы, в результате чего происходит: 1) перестройка на анаэробный механизм: гликолитическое расщепление глюкозы, продуктом которого является молочная кислота; 2) не происходит превращения пировиноградной кислоты в ацетил – CoA, и весь накопившийся пируват под действием ЛДГ превращается в лактат.

В результате в ЦТК перестает поступать ключевой субстрат – ацетил CoA. Функцию основного его поставщика берет на себя бета-окисление свободных жирных кислот (СЖК), которые не подвергаются биохимическим превращениям пока не активируются. В условиях гипоксии этот путь образования АТФ является метаболически невыгодным. Накопление СЖК оказывает повреждающее влияние на мембранные структуры митохондрий, нарушая их функции.

В условиях гипоксии увеличивается активность Na/Ca насоса, в результате чего происходит накопление в цитозоле кальция. Перегрузка кальцием нарушают сокращение и расслабление кардиомиоцитов, что приводит к аритмии. Кроме того, большое количество кальция повреждает митохондриальные мембраны.

На основании проведенного анализа литературных данных выяснили, что тяжесть митохондриальной дисфункции у пациентов с острым коронарным синдромом коррелирует с выраженностью повышения уровней тропонинов Т и I, мозгового натрийуретического пептида и высокочувствительного С-реактивного белка [3]. У больных с инфарктом миокарда без подъема сегмента ST пороговое значение пиковой концентрации тропонина I более 5 нг/мл через 6-12 ч с момента поступления в стационар и значение высокочувствительного С-реактивного белка на 14-е сутки с момента поступления более 3 мг/дл ассоциируются с максимальным риском серьезных сердечносо-

судистых событий. У больных нестабильной стенокардией уровень высокочувствительного С-реактивного белка менее 1 мг/дл ассоциируется с минимальным риском серьезных сердечно-сосудистых событий [4]. Наибольший уровень летальности и сердечно-сосудистых осложнений отмечен у больных острым инфарктом миокарда с подъемом ST и сниженными (до  $14,89 \pm 1,04$  усл. ед.) показателями митохондриальной сукцинатдегидрогеназы.

Таким образом, можно констатировать, что для диагностики наличия и степени выраженности митохондриальной дисфункции, а также выявление предрасположенности имеет место комплексное определение таких веществ как: СДЛ, ЛДГ, КФК, КФК-МВ, малоновый альдегид, иона Са, а также молекулярно-генетический анализ мтДНК.

### Список литературы

1. Куликов К.Г. Роль митохондриальной дисфункции в патогенезе и прогнозе острого коронарного синдрома и возможности ее медикаментозной коррекции // Автореферат дисс. доктора медицинских наук по ВАК 14.01.05. Москва, 2013. – 48 с.
2. Смирнова Л.А. Изучение связи мутаций митохондриального генома с атеросклеротическим поражением коронарных и сонных артерий // Автореферат диссертации. Москва, 2014. – 35 с.
3. Митохондриальная дисфункция при атеросклерозе и инфаркте миокарда: молекулярные и цитохимические маркеры // БЮЛЛЕТЕНЬ ВСНЦ СО РАМН, 2016. - Том 1. - №3 (109), Часть 2. – С. 201-203.
4. Васюк Ю.А., Куликов К.Г., Кудряков О.Н., Крикунова О.В., Садулаева И.А. Вторичная митохондриальная дисфункция при остром коронарном синдроме // Рациональная фармакотерапия в кардиологии, 2007. - № 1. – С. 5-8.

### БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Сулимов Э.Д., Казарян К.А., Луспикаян А.В., Коновалова О.В.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в работе описана болезнь Паркинсона - хроническое нейродегенеративное заболевание, сопровождающееся прогрессирующим разрушением и гибелью дофаминовых нейронов в ЦНС.

Болезнь Паркинсона была известна и ранее под названием «дрожательный паралич», но подробно и полно её впервые описал в 1817 году Джеймс Паркинсон в своей книге «Эссе о дрожательном параличе». По имени первоописателя эта болезнь и была впоследствии названа болезнью Паркинсона. Обычно связана с поражением базальных ганглиев или их связей с моторными зонами коры. Паркинсонизм у пожилых встречается часто. Исследования показали, что в возрасте 65-74 лет паркинсонизм встречается у 15% лиц, а в возрасте старше 85 лет - более чем у 50%. Цель

*работы:* исследовать новое представление о биохимических дефектах при паркинсонизме.

Формы паркинсонизма. Гетерогенную группу болезней Паркинсона нозологически подразделяют на первичный (идиопатический, генуинный паркинсонизм, дрожательный паралич, *paralysis agitans*) и вторичный (симптоматический) паркинсонизм. К вторичному паркинсонизму относят заболевания головного мозга, при которых обнаруживается паркинсонический синдром: постэнцефалитический, атеросклеротический, лекарственный, токсический. Классическая триада основных симптомов болезней Паркинсона включает ригидность скелетной мускулатуры, гипокинезию и тремор "покоя" конечностей, головы и нижней челюсти. В современной неврологии в качестве четвертого характерного симптома фигурируют постуральные нарушения. Основная часть случаев болезни Паркинсона, за исключением моногенных наследственных форм, относится к категории мультифакториальных нейро-дегенеративных заболеваний и является результатом взаимодействия генетических и средовых факторов [1].

Нейрохимические аспекты паркинсонизма. Роль дофамина в развитии паркинсонизма. Уже в процессе изучения морфологической картины паркинсонизма была подмечена одна особенность, свойственная этому заболеванию и заключающаяся в своеобразном патоморфологическом тропизме: в первую очередь страдают структуры, содержащие пигмент. В настоящее время эта загадка в значительной степени раскрыта. Стало известно, что пигмент нейромеланин, содержащийся в некоторых структурах мозга, образуется из катехоламинов (из дофа и дофамина) путем окислительной полимеризации. Мозг при паркинсонизме постепенно теряет запасы меланина, но значение этого факта длительное время оставалось неясным. Пути синтеза меланина в центральной нервной системе отличаются от таковых в других тканях организма, так как нормальная пигментация черной субстанции имеет место даже у альбиносов. О значении пигментного обмена в патогенезе заболевания, по-видимому, говорит также тот факт, что паркинсонизм встречается достоверно реже среди представителей негроидной расы. Редкие наблюдения, в которых отмечена малигнизация меланомы у больных паркинсонизмом в процессе лечения препаратом 1-дофа, говорят о том же. Существенный прогресс, который был достигнут в последние годы в лечении больных паркинсонизмом, во многом обязан достижениям функциональной нейрохимии, благодаря которым была обоснована дофаминергическая концепция паркинсонизма. Хотя дофамин был впервые синтезирован еще в 1909 г., наличие его в мозге здоровых людей было обнаружено лишь в 1958 г. Нейрохимические аспекты паркинсонизма начали интенсивно разрабатываться с 1960 г., когда выяснилось, что в мозге больных паркинсонизмом имеется дефицит дофамина, образующийся в результате дегенеративного процесса в нейронах черной субстанции. С тех пор усилия многих исследователей направлены на поиски методов и средств, которые позволили бы повысить содержание дофамина в центральной нервной системе этих больных. Сам дофамин не



может быть использован для этой цели, так как он плохо проникает через гематоэнцефалический барьер. В 1960 г. было предложено использовать в лечебных целях не дофамин, а его предшественник — диоксифенилаланин (дофа), который, проникая в центральную нервную систему, подвергается декарбоксилированию и превращается в дофамин, восполняя его дефицит в мозговой ткани. Был использован синтетический левовращающий изомер диоксифенилаланина (1-дофа), который оказался более эффективным, чем правовращающий изомер. Уже в 1961 г. были опубликованы первые результаты лечения больных паркинсонизмом с помощью препарата 1-дофа. Эти работы быстро приобрели мировую известность и послужили стимулом к более широкому изучению моноаминергических биохимических систем мозга человека и животных, а также нейрохимических аспектов паркинсонизма.

Биохимический дефект систем при паркинсонизме, находящихся в сложных регуляторных взаимоотношениях друг с другом, может сопровождаться не только патологическими, но и компенсаторными изменениями в смежных биохимических системах. Наконец, следует иметь в виду также и тот важный факт, что разные клинические формы синдрома паркинсонизма могут существенно различаться по своей патофизиологии и особенностям метаболических нарушений, которые лежат в их основе. Особенно это необходимо учитывать при обсуждении таких полярных клинических форм, как акинетические и дрожательные формы паркинсонизма. Некоторые авторы связывают происхождение паркинсонического тремора с гиперактивностью центральных адренергических аппаратов мозга. Предполагается, что в базальных ганглиях, в частности в хвостатом ядре, имеются бета-адренергические рецепторы. Как будет показано далее, изучение структуры ночного сна у больных с дрожательными формами паркинсонизма дает возможность выявить именно тех больных, которым целесообразно применение бета-адреноблокаторов в комбинации с другими более традиционными средствами. Таким образом, состояние адренергических структур мозга при паркинсонизме характеризуется сложными и неоднозначными нарушениями, которые, по-видимому, коррелируют с клинической формой паркинсонизма и остаются в значительной степени не изученными до сих пор. Однако те факты, которые уже сейчас можно считать достоверными, позволяют говорить об особом значении адренергического субстрата мозга в патогенезе паркинсонизма. С полным основанием можно считать, что паркинсонизм — это болезнь адренергической системы мозга. К адренергической системе мозга относят все нейронные популяции и мозговые структуры, медиатором которых является дофамин или норадреналин. При паркинсонизме страдает в основном центральная медиаторная часть этой системы. Исходя из вышеизложенного можно предположить, что эффективность патогенетического лечения паркинсонизма в значительной степени зависит от правильного учета особенностей биохимического дефекта, степени и характера вовлеченности смежных биохимических систем.

В настоящее время российскими учеными разработана новая теория, устанавливающая, что «белок болезни Паркинсона» нужен для нормального развития мозга. В первую очередь, он необходим выделяющим дофамин клеткам, которые раньше других повреждаются при паркинсонизме. Сотрудники Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии, Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова и Института физиологически активных веществ установили, что происходит с вырабатывающими дофамин нейронами при развитии среднего мозга мышей, если им заблокировать возможность производить альфа-синуклеин — белок, скапливающийся в этих клетках при болезни Паркинсона. Препринт научной статьи опубликован на сайте журнала *Peer J*. [2].

Белок альфа-синуклеин в значительных количествах образуется в нервных клетках. Ряд мутаций в кодирующем его гене приводит к существенному повышению вероятности болезни Паркинсона. При этом альфа-синуклеин образует в нейронах скопления, называемые тельцами Леви. Их появление в клетках среднего мозга, отвечающих за регуляцию движений, приводит к проявлениям паркинсонизма — тремору (дрожанию) конечностей, снижению способности начинать произвольные движения и некоторым другим. Функция альфа-синуклеина, кодируемого геном нормального строения, не вполне ясна. Известно, что его молекулы обычно расположены вблизи синапсов — мест контакта нервных клеток. Учитывая, что «неправильный» альфа-синуклеин вызывает в первую очередь повреждения нейронов среднего мозга, выделяющих дофамин (другое их название — дофаминергические), вероятно, он играет важную роль в их функционировании. Эту гипотезу и проверили российские исследователи. Они получили группу мышей, в клетках которых ген альфа-синуклеина был неактивен. А затем изучили количество и расположение образующих дофамин нейронов на срезах только что образовавшегося среднего мозга эмбрионов этих грызунов.

Подсчет и изучение морфологии дофаминергических нервных клеток в различных участках среднего мозга дал следующие результаты. У мышей с «выключенным» геном альфа-синуклеина нарушалось образование черной субстанции — структуры среднего мозга, регулирующей произвольные движения и получающей наибольшие повреждения при болезни Паркинсона. В ней было значительно меньше дофаминергических нейронов, чем в норме. Более того, они обладали нехарактерной формой. При этом развитие соседней структуры в составе среднего мозга, вентральной области покрышки (отвечает за ощущение удовольствия), не нарушилось. Интересно, что при паркинсонизме нейроны покрышки страдают в гораздо меньшей степени, чем нервные клетки в черной субстанции, хотя в обоих случаях речь идет о дофаминергических нейронах.

В заключение, необходимо отметить, что такие результаты позволяют предположить, что альфа-синуклеин необходим для формирования здоровой черной субстанции у эмбриона. Новая теория, разработанная российскими

учеными, дает новое понимание патогенеза Паркинсонизма, но в этой связи возникает целый ряд новых вопросов: почему замена «нормального» альфа-синуклеина на мутантный, образующий тельца Леви, повреждает зрелые, неделящиеся клетки через много десятилетий после формирования среднего мозга? Отчего его нехватка не влияет на развитие дофаминергических нейронов вентральной области покрышки? Все эти вопросы требуют дополнительных исследований.

### Список литературы

1. Луцкий И. С., Евтушенко С. К., Симонян В. А. Симпозиум «Болезнь Паркинсона (клиника, диагностика, принципы терапии)» // Последипломное образование. — 2011. - № 5 (43). - С. 27-36.
2. Wang Z., Gerstein M., Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics // Nat Rev Genet. - 2009. - Vol. 10, No. 1. – P. 57-63.

## ДОСТИЖЕНИЯ И ВОЗМОЖНОСТИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Терещенко А. А., Шустанова Т.А.

*кафедра общей и клинической биохимии № 2, РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматриваются методы лечения при помощи генной терапии по отношению к человеку, новейшие исследования и разработки в области генетики человека.

Генная терапия предполагает введение в клетки больного генетического материала для компенсации или исправления функций мутантных/отсутствующих генов. Так, если «больной» ген нарушает синтез важного белка, генная терапия навсегда исправляет данный дефект. Инновационный метод впервые в истории человечества позволил избавить целые семьи от болезней, передававшихся в поколениях.

**Цель работы:** изучить новейшие методы лечения при помощи генной терапии, рассмотреть дальнейшие перспективы и анализировать ход развития генной терапии.

Доктор Синтия Данбар (Cynthia Dunbar), научный сотрудник отделения гематологии Национального института сердца, легких и крови США, вместе со своими коллегами опубликовала материалы о новых возможностях редактирования генома и примеры из клинической практики. По мнению американских врачей, современные технологии, включая CRISPR / Cas9, в ближайшие годы превратят генотерапию из дорогостоящего экспериментального метода в повседневную реальность [1, 2].

Современные возможности технологий генной терапии.

- Непосредственное введение *in vivo* вирусных векторов или использование вирусов для доставки терапевтических генов в клетки человека (чаще всего аденовирусный вектор).

- Введение генетически модифицированных стволовых клеток костного мозга, которые должны размножиться в организме больного, со временем заменив дефектные клетки.

Первоначально создаваемая исключительно против наследственных заболеваний, в настоящее время генная терапия активно применяется в лечении рака. Например, инжиниринг лимфоцитов, которые «настраиваются» на поиск и уничтожение злокачественных клеток с определенными маркерами.

2017 год принес настоящий водопад впечатляющих открытий и достижений в генотерапии. Получены обнадеживающие клинические результаты в лечении гемофилии, серповидноклеточной анемии, слепоты (врожденный амавроз Лебера), нейродегенеративных заболеваний, рака (миелома и лимфома). За прошедший год Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) были одобрены три новых вида генотерапии. Еще полтора десятка ожидают рассмотрения или находятся на разных стадиях клинических исследований. Авторы обратили внимание на будущее генной терапии. Несмотря на все проблемы, связанные с предоставлением инновационного лечения в клиниках, в 2018 они ожидают колоссального прогресса. Большую часть разработок в области генной терапии сегодня финансирует Национальный институт здравоохранения США, а испытания сосредоточены в Клиническом центре NIH [3].

### **Список литературы**

1. Fonseca Costa S.S. Impact of the circadian clock on the aging process // Frontal Neurology. 2015.- № 6. - P. 43-45.
2. Selma Masri, Paul Rigor, Marlene Cervantes et al. Partitioning Circadian Transcription by SIRT6 Leads to Segregated Control of Cellular Metabolism // Cell. 2014. - № 158. - P. 659-672.
3. <http://medbe.ru/news/meditsina/gennaya-terapiya-novaya-epokha-meditsiny/>

### **НЕКОТОРЫЕ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ КОЖИ, СВЯЗАННЫЕ С МУТАЦИЯМИ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА**

Черкасова Д.А. , Борисова В.А., Коновалова О.В.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в статье рассматриваются некоторые генетические заболевания, которые проявляются поражением кожи. Также нами подробно изучены диагностика и лечение данных заболеваний.

Пигментная ксеродерма— генетически детерминированное заболевание, которое проявляется высокой чувствительностью к солнечному свету с развитием тяжелых дистрофических, атрофических поражений кожи и злокачественных новообразований.

*Цель работы:* изучить наследственные заболевания кожи, обусловленные мутациями генетического кода.

Наследственный фотодерматоз впервые описан Капоши в 1870 г. Различают 2 генотипа пигментной ксеродермы: передающийся аутосомно-доминантным путем и аутосомно-рецессивным. В основе заболевания лежит генетически обусловленная недостаточность ферментов УФ-эндонуклеазы и полимеразы-1, которые отвечают за восстановление ДНК после ее повреждения УФ-лучами [1-2].

Первые клинические проявления заболевания возникают вскоре после рождения ребенка или в первые три года жизни. После непродолжительной инсоляции на открытых участках тела появляются эритемы и мелкие пигментные пятна желтовато-коричневого цвета, напоминающие веснушки. Постепенно количество пигментных пятен увеличивается, кожа становится сухой с шелушением, появляются телеангиэктазии (расширением сосудов и появлением на кожном покрове синюшно-красных образований) и участки атрофии кожи. Позже на пораженном месте возникают бородавчатые и папилломатозные разрастания, которые трансформируются в плоскоклеточный и базальноклеточный рак или меланому. Образовавшиеся злокачественные опухоли часто склонны к метастазированию и распаду. До сих пор специального лечения не существует. Отмечен положительный эффект от длительного лечения неотидагоном (его назначают для лечения псориаза). Рекомендуются меры, защищающие кожу от инсоляции.

Синдром Ротмунда-Томсона является редким аутосомно-рецессивным заболеванием, которое развивается из-за мутаций в гене RECQL4, расположенном в регионе 8q24. Ключевые особенности синдрома включают раннее развитие светочувствительности, изменения кожи, катаракты, скелетные дисплазии и предрасположенность к развитию остеосаркомы и рака кожи. При синдроме Ротмунда-Томсона, у ребенка развивается неправильная эритема и отек кожи, который вскоре сменяется на сетчатые красно-коричневые пятна, которые связаны с точечными атрофиями и телеангиэктазиями. Эти характерные изменения кожи, как правило, видны на лице, в разгибательных областях конечностей, на ягодицах, на груди, животе, спине. Гиперкератозные поражения на локтях, коленях, руках и ногах можно увидеть в период полового созревания. Пациенты могут иметь редкие волосы на голове, редкие ресницы, брови. Преждевременное поседение также может наблюдаться в некоторых случаях. Аномалии ногтей, такие как дистрофия или атрофия могут встретиться у пациента. Лицам с синдромом Ротмунда-Томсона следует регулярно применять солнцезащитные кремы. Кроме того, кератолитики и ретиноиды были довольно успешными в лечении гиперкератоза. Телеангиэктазии можно лечить лазерной терапией [3-4].

### **Список литературы**

1. Дифференциальная диагностика кожных болезней: Руковод. для врачей. / ред.: Б. А. Беренбейн, А. А. Студницин. – 2е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1989. – 671 с.

2. Козлова С. И., Денисова Н. С., Блинникова О. Е. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование. Справочник. – М.: Медицина, 1987. – 320 с.

3. Жимулев Н. Н. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, 2006. 265 с.

4. Мушамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. М., 2006. -372 с.

## **НОВЫЕ ВЕЩЕСТВА - ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ: ПОСЛЕДСТВИЯ ДЛЯ ОРГАНИЗМА**

Чуприна А.В., Шестакова Т.Е.

*кафедра общей и клинической биохимии № 2, РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в данной статье рассматриваются новые вещества- ингибиторы ферментов дыхательной цепи, какие последствия они оказывают на организм человека, а также патологии цепи переноса электронов.

Все биохимические реакции в клетках любого организма протекают с расходом энергии. Дыхательная цепь – это последовательность специфических структур, которые расположены на внутренней мембране митохондрий и служат для образования АТФ. Аденозинтрифосфат является универсальным источником энергии и способен аккумулировать в себе от 80 до 120 кДж.

Дыхательная цепь электронов - что это такое? Электроны и протоны играют важную роль в образовании энергии. Они создают разность потенциалов на противоположных сторонах мембраны митохондрий, что порождает направленное движение частиц – ток. Дыхательная цепь (она же ЭТЦ, цепь переноса электронов) является посредником при переносе положительно заряженных частиц в межмембранное пространство и отрицательно заряженных частиц в толще внутренней мембраны митохондрий. Главная роль в образовании энергии принадлежит АТФ-синтазе. Этот сложный комплекс видоизменяет энергию направленного движения протонов в энергию биохимических связей. К слову, практически идентичный комплекс находится и в хлоропластах растений. Ряд веществ может ингибировать ферменты дыхательной цепи и блокировать движение электронов от НАДН и ФАДН<sub>2</sub> на кислород. Они называются ингибиторы. В результате прекращается движение электронов, выкачивание ионов H<sup>+</sup> и работа АТФ-синтазы. Синтез АТФ отсутствует, и клетка погибает. Выделяют три основных группы ингибиторов: действующие на I комплекс, например, амитал (производное барбитуровой кислоты), ротенон, действующие на II комплекс, - малонат. (НООС-СН<sub>2</sub>-COOH) есть в соке сахарной свеклы; действующие на III комплекс, например, экспериментальный антибиотик антимицин А, миксотиазол, действующие на IV комплекс: цианиды (-CN), сероводород (H<sub>2</sub>S), угарный газ (CO), оксид азота (NO) [1].

В клетке часто может создаваться ситуация, когда реакции окислительного фосфорилирования идут с определенными вариациями. Эти вариации могут являться следствием нарушений в организме или физиологической реакцией на воздействие. Существует множество ЦПЭ, например: гема b комплекса II, - ограничивает утечку электронов с образованием свободных радикалов кислорода. Генетические мутации в районе гема b или хинон-связывающего сайта приводят к возникновению у новорожденных врожденной параганглиомы. Характеризуются возникновением опухоли головы и шеи, чаще в области каротидного тела - сенсорного образования, контролирующего уровень кислорода в крови. Связано с увеличением продукции ROS. Данная группа заболеваний редко выявляется в неонатальном периоде в связи с тяжелым течением и ранним летальным исходом неонатальных форм. Заподозрить митохондриальную патологию у пациента возможно при наличии у него необычного сочетания различных симптомов, при поражении нескольких органов и тканей в сочетании с неврологической симптоматикой, резком ухудшении состояния пациента и быстром прогрессировании заболевания, сочетании поражения эндокринной и нервной систем, наличии митохондриального заболевания у других родственников больного.

Болезнь Лея- заболевание обусловлено мутациями в митохондриальном геноме, а также мутациями в ядерном геноме, приводящими к изолированной или сочетанной недостаточности комплексов I, II, III, IV в мышцах, ЦНС и других тканях. Тип наследования: для мутаций в митохондриальной ДНК - материнский, для ядерных генов — менделирующий. Мутации митохондриального генома сопровождаются нарушением процессов окислительного фосфорилирования — важнейшего источника энергии для метаболических процессов в клетке. Степень нарушения окислительного фосфорилирования и различная потребность тканей и органов в продукции АТФ определяет клиническую картину заболевания (наибольшая потребность в энергии у ЦНС, скелетных мышц, миокарда, почек, печени, костного мозга, эндокринной системы). Тяжесть дефекта энергетического обмена в митохондриях (цикл Кребса) определяется не только локализацией мутации, но и количеством мутантной мтДНК в клетке. Для митохондриальных болезней характерен выраженный внутрисемейный полиморфизм [2].

Неонатальная летальная форма манифестирует прогрессирующим тахипноэ, респираторным дистресс-синдромом, мышечной гипотонией, лактацидозом. Ребенок вялый, плохо сосет, практически неподвижен. Далее присоединяются неврологические нарушения: энцефалопатия, спастичность, судорожный синдром, задержка психомоторного развития, гипотрофия. При исследовании биоптата скелетной мышцы выявляются Соx-отрицательные миофибриллы.

### **Список литературы**

1. Губарева А. Е. Биологическая химия. учеб. пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 385 с.

2. Вавилова Т.П., Медведев А.Е. Биологическая химия. Биохимия тканей: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 545 с.

## **ИЗУЧЕНИЕ REAL TIME-PCR - СОВРЕМЕННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ЭКСПРЕСС-МЕТОДА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ**

Егорян А.У., Шустанова Т.А.

*кафедра общей и клинической биохимии №2 РостГМУ МЗ России*

**Аннотация:** в данной статье рассматривается метод Real time-PCR в качестве генотипической экспресс-диагностики инфекционных заболеваний, достоинства и недостатки отдельных вариантов модификаций, используемых агентов и выявление их роли в диагностике инфекционных заболеваний в отличие от обычного ПЦР метода.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) известна уже более четверти века и в настоящее время применяется для решения широкого круга научных и практических задач, что обусловлено относительной простотой данного метода, высокой чувствительностью и надежностью при небольшой себестоимости. Долгое время анализ результатов ПЦР проводился по окончании реакции с помощью гель-электрофореза и получил название «анализ по конечной точке». Такой анализ подразумевает контакт продуктов амплификации (ампликонов) с внешней средой, что не исключает загрязнение ими лабораторного пространства. В 90-х годах прошлого столетия все более очевидным становился недостаток ПЦР, являющийся следствием ее главного преимущества – уникальной чувствительности, позволяющей получать необходимое количество ДНК-мишени из единичных копий исходной матрицы. Этот недостаток – угроза получения ложно-положительных результатов в силу возможного загрязнения исследуемых проб. Второй причиной, потребовавшей усовершенствования метода ПЦР, стала необходимость измерения количества ДНК-матрицы в исследуемом материале, что практически невозможно было осуществить при помощи классической ПЦР «по конечной точке». В результате счастливой «ошибки», допущенной одним из сотрудников R. Higuchi, который провел ПЦР в присутствии интеркалирующего красителя – бромистого этидия, считавшегося сильным ингибитором ДНК-полимеразы, была предложена ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) [1].

**Цель работы:** изучить RT-PCR как экспресс-метод генетической диагностики инфекционных заболеваний в сравнении с обычной классической PCR.



Относительно усовершенствованный данный метод также основывается на полимеразной цепной реакции, но в отличие от последнего ПЦР “в реальном времени” имеет ряд значительных преимуществ. Главное - это объединение этапов амплификации и детекции результатов. С помощью нового типа ДНК-амплификаторов появляется возможность оценить кинетику процесса, которая зависит от начального количества исследуемого материала т.е. возможность измерения количества амплифицированной ДНК в реальном времени после каждого цикла амплификации. Это обусловило ряд и других преимуществ. Возможность количественной оценки исходной ДНК матрицы - сведение к минимуму риска получения ложно- позитивных результатов, сокращение времени анализа, высокая специфичность реакции за счет использования высокоспецифичных флуоресцентных зондов, существенное снижение риска контаминации и получения ложноположительных результатов при анализе, упрощение требований к организации ПЦР-лаборатории, автоматическая регистрация и интерпретация полученных данных в электронном формате [2].

Для выявления продуктов амплификации в режиме реального времени используют следующие наиболее распространенные агенты. 1. Использование интеркалирующих агентов. Этот способ детекции основан на том факте, что флуоресценция бромистого этидия и SYBR Green I значительно возрастает при их внедрении в двухцепочечные молекулы ДНК. Таким образом, можно наблюдать за накоплением продуктов амплификации. Очень важно отметить то, что увеличение флуоресценции может быть связано как с накоплением специфического продукта, так и неспецифического (ДНК-артефакты). Для получения корректных результатов необходимо дополнительное изучение полученных ампликонов с помощью построения так называемых "кривых плавления" (melting curves) [3]. 2. Выщепление 5' концевой метки (TaqMan Assay). Данная методика основана на использовании 5'-экзонуклеазной активности полимеразы. В реакционную смесь добавляют ДНК-зонды, в состав которых входит флуоресцентная метка в 5'-положении и гаситель флуоресценции в 3'-положении, а также фосфатная группа в 3'-положении. Эти зонды имеют места посадки внутри амплифицируемой области. Гаситель поглощает испускаемое флуоресцентной меткой излучение, а фосфатная группа в 3'-положении блокирует полимеразу. В ходе ПЦР во время стадии отжига праймеров происходит присоединение ДНК-зонда к комплементарной цепи ДНК. Во время стадии элонгации полимеразы синтезирует комплементарную цепь ДНК и при достижении зонда начинает его расщеплять благодаря наличию 5'-экзонуклеазной активности. Таким образом происходит разъединение флуоресцентной метки и гасителя, что приводит к увеличению детектируемого свечения [4]. 3. Использование зондов с комплементарными концевыми последовательностями (molecular beacons). Данная методика отличается от описанной выше тем, что концевые последовательности зонда представляют собой взаимно комплементарные области, поэтому при температуре отжига праймеров они схлопываются и образуют шпильки. Внутренняя область зондов содержит нуклеотидную последова-

тельность, комплементарную амплифицируемой области. При отжиге праймеров зонды, не присоединившиеся к ДНК матрице, остаются в "схлопнутом" состоянии, так что происходит тушение флуоресценции. Те же зонды, которые отжигаются на матрицу, разворачиваются, и флуоресцентная метка и гаситель расходятся в разные стороны. Таким образом, увеличивается интенсивность свечения [5].

Диагностические исследования. Количественная ПЦР (RT-PCR) применяется для быстрого выявления генов или фрагментов ДНК, являющихся маркерами инфекционных заболеваний, генетических отклонений. Регистрируемое в процессе амплификации нарастание сигнала от отделенного флуорофора прямо пропорционально увеличению концентрации синтезированных специфических продуктов и отражает концентрацию ДНК в исходной матрице. Внедрение этого метода в клинические лаборатории значительно улучшило качество диагностики инфекционных заболеваний. Заболевания, которые можно выявить с помощью RT-PCR: ВИЧ-инфекция; инфекции, которые передаются половым путем; вирусные гепатиты; папилломавирус человека; мононуклеоз; цитомегаловирусная инфекция; герпес; туберкулез; клещевой энцефалит; кандидоз. Кроме того, используется в качестве инструмента для детектирования вновь возникающих заболеваний. Например, новых штаммов гриппа. Использование RT-PCR также позволяет проводить количественные измерения и генотипирование (характеристика штаммов) вирусов, например, вируса гепатита В [6]. Важно отметить, что степень инфекции, которая оценивается, как число копий вирусного генома на единицу ткани пациента, имеет большое значение во многих случаях. Например, вероятность реактивации вируса простого герпеса типа 1 зависит от количества инфицированных ганглиев [7, 8]. В зависимости от того, интегрировал ли вирус в геном пациента (как, например, в случае вируса папилломы человека) или нет, количественный анализ осуществляется с применением обратной транскрипции или без неё. Определение количественных характеристик инфекции позволяет судить о динамике и стадии заболевания, а также об эффективности проводимой терапии.

### Список литературы

1. Higuchi R., Dollinger G., Walsh S., Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences // *Biotechnology*. 1992. V.10. P. 413–417.
2. Бикбулатова С. М., Чемерис Д. А., Никоноров Ю. М., Машков О. И., Гарафутдинов Р. Р., Чемерис А. В., Вахитов В. А. Способы детекции результатов полимеразной цепной реакции в режиме реального времени // *Вестник Башкирского университета*, 2012. – Т. 17, № 1. – С. 59-67.
3. Higuchi R. Kinetic PCR Analysis: Real-time monitoring of DNA amplification reactions // *Biotechnology*. - 1993. - № 11.- 1026-1030.
4. Heid C.A. Real-time quantitative PCR. // *Genome Res.*-1996.-№ 6.-p. 986-994.

5. Tyagi S., Kramer F.R. Molecular beacons: probes that fluoresce upon hybridization // Nat. Biotechnol. - 1996. - № 14.- p.303-308.

6. Yeh S.H. Tsai C.Y. Kao J.H. Liu C.J. Kuo T.J. Lin M.W. Huang W.L. Lu S.F. Jih J. Chen D.S. Others (2004). "Quantification and genotyping of hepatitis B virus in a single reaction by real-time PCR and melting // Journal of Hepatology 41 (4): 659—666.

7. Sawtell N.M. (1998). The Probability of in Vivo Reactivation of Herpes Simplex Virus Type 1 Increases with the Number of Latently Infected Neurons in the Ganglia // Journal of Virology 72 (8)

8. Higuchi R. Kinetic PCR Analysis: Real-time monitoring of DNA amplification reactions // Biotechnology. - 1993.-№ 11.- 1026-1030.

## **АНТИОКСИДАНТНАЯ ФУНКЦИЯ ВИТАМИНОВ**

Хурэлбаатар Золзая, Амаржаргал Цолмон, Грекова Г.А.

*кафедра химии подготовительного факультета по обучению иностранных граждан, ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону*

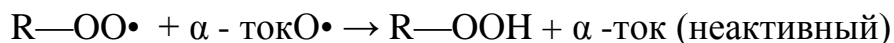
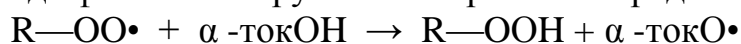
Антиоксиданты (также антиокислители) — вещества, которые ингибируют окисление. Антиоксиданты очищают организм от свободных радикалов, которые постоянно образуются в организме человека в результате многочисленных окислительно-восстановительных процессов. Свободные радикалы - это продукты неполного восстановления кислорода, это молекулы с неспаренными электронами, находящимися на внешней оболочке атома. Они обладают очень высокой реакционной способностью и, как следствие, выраженным повреждающим действием на клеточные макромолекулы. В случае, когда свободные радикалы окисляют липиды, являющиеся основой клеточных мембран, это ведет к нарушению функций мембран клеток нашего организма, к нарушению здоровья и преждевременному старению. Избыточная активация процессов цепного свободнорадикального окисления липидов может привести к повреждению и увеличению проницаемости клеточных мембран, окислительной модификации структурных белков, ферментов, биологически активных веществ.

Антиоксиданты бывают ферментативной природы (ферменты, синтезируемые эукариотическими и прокариотическими клетками) и неферментные. Самыми известными антиоксидантными ферментами являются белки-катализаторы: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и пероксидазы [1]. Антиоксидантные ферменты являются важнейшей (первичной) частью антиоксидантной системы организма. Благодаря антиоксидантным ферментам каждая клетка в норме способна уничтожить избыток свободных радикалов, однако при переизбытке необезвреженных свободных радикалов, существенную роль в защите организма от окислительного стресса играет вторичная антиоксидантная система — антиоксиданты, получаемые с пищей. Наиболее известные неферментные антиоксиданты: аскорбиновая кислота (витамин С), токоферол (витамин Е), β-каротин (провитамин А) и ликопин (в томатах). К

ним также относят полифенолы: флавин и флавоноиды (часто встречаются в овощах), танины (в какао, кофе, чае), антоцианы (в красных ягодах).

Механизм действия таких антирадикальных средств («скэвенджеров» - от англ. "scavengers" - мусорщики) заключается в непосредственном взаимодействии данных препаратов со свободными радикалами с их нейтрализацией. Наиболее изученное антирадикальное средство -  **$\alpha$ -токоферол (витамин Е)**. Строго говоря, термин «витамин Е» является собирательным названием для группы токоферолов -  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , которые обладают сходной биологической активностью. Наибольшая витаминная и антиоксидантная активность присуща  $\alpha$ -токоферолу, в связи с чем именно он нашел применение в медицине.

Витамин Е является природным антиоксидантом, содержащим фенольное кольцо с системой сопряженных двойных связей, защищающим различные вещества от окислительных изменений, участвующим в биосинтезе гема и белков, пролиферации клеток, тканевом дыхании и других важнейших процессах клеточного метаболизма. Он может выполнять структурную функцию, взаимодействуя с фосфолипидами биологических мембран, одновременно тормозя перикисное окисление липидов (ПОЛ) и предупреждая их повреждение. Поток протонов от фонда NADPH и NADH к  $\alpha$ -токоферолу осуществляется цепью антирадикальных эндогенных соединений (глутатион, эрготионин-аскорбат) при участии соответствующих редуктаз и дегидрогеназ. Механизм антиоксидантного действия препарата заключается в переносе водорода фенильной группы на перекисный радикал:



Феноксил - радикал, который образуется при этом, сам по себе достаточно стабилен и в продолжении цепи не участвует. Синергичный эффект оказывает аскорбиновая кислота, восстанавливающая продукт окисления  $\alpha$ -токоферола -  $\alpha$ -токофероксид в  $\alpha$ -токоферол. Как и другие жирорастворимые витамины, витамин Е хорошо всасывается в верхних отделах тонкой кишки и поступает в кровяное русло через лимфатическую систему. В крови связывается с  $\beta$ -липопротеидами. Около 80% введенного в организм  $\alpha$ -токоферола через неделю экскретируется желчью, а небольшая часть выводится в виде метаболитов с мочой [2]. Суммарный антиоксидантный эффект  $\alpha$ -токоферола не слишком выражен, так как в процессе нейтрализации свободных радикалов данным веществом образуются соединения с остаточной радикальной активностью. Другой недостаток  $\alpha$ -токоферола заключается в его липофильности, что затрудняет создание лекарственных форм для парентерального введения, необходимых при оказании неотложной помощи. Выход здесь может быть в создании липосомальных форм  $\alpha$ -токоферола, более эффективных и потенциально пригодных для парентерального введения. Главное достоинство  $\alpha$ -токоферола - очень малая токсичность, как у эндогенного соединения.

Совместно с витамином Е в организме действует и **аскорбиновая кислота (витамин С)**, способная образовывать окислительно-восстановительную пару аскорбиновая кислота/дегидроаскорбиновая кислота. Вероятно, на границе раздела липиды/водная фаза аскорбиновая кислота

обеспечивает защиту  $\alpha$ -токоферола или восстанавливает его окисленную форму после действия свободных радикалов. Кроме того, предполагается, что витамин С может предотвращать или делать обратимым процесс окисления восстановленного глутатиона (GSH) до его функционально неактивной формы (GSSG). Весьма важным обстоятельством является то, что аскорбиновая кислота проявляет выраженный антиоксидантный эффект только в отсутствие металлов переменной валентности (ионов железа и меди); в присутствии же активной формы железа ( $\text{Fe}^{3+}$ ) она может восстанавливать его до двухвалентного железа ( $\text{Fe}^{2+}$ ), которое способно высвобождать гидроксильный радикал по реакции Фентона, проявляя свойства прооксиданта.

Аскорбиновая кислота является мощным антиоксидантом, который задерживает процесс старения, препятствует возникновению рака и сердечных нарушений. Она необходима для поддержания здоровых зубов, десен, хрящей, соединительной ткани, кровеносных сосудов и стенок капилляров. Витамин С нужен для образования коллагена - основного структурного материала организма. Витамин С охраняет другие антиоксиданты (такие как витамин Е и бета-каротин) от разрушения свободными радикалами. Фактически достаточно 10 мг витамина С в день, чтобы избежать его дефицита в организме, но для того чтобы аскорбиновая кислота могла активно функционировать как антиоксидант, дозы должны составлять 80-150 мг/сут..

**Ретинол (витамин А) и  $\beta$ -каротин (провитамин А)** являются составной частью естественной антиоксидантной системы клетки и оказывают определенное антиоксидантное действие, однако оно подтверждено преимущественно в экспериментальных исследованиях на животных. Ретинол способен проникать в гидрофобную зону биомембран и взаимодействовать с лецитино-холестериновыми монослоями на границе раздела фаз, вызывая перестройку мембран клетки, лизосом и митохондрий.  $\beta$ -каротин, а также каротиноиды, не способные к образованию витамина А, выполняют антиоксидантные функции за счет наличия изопреноидных участков в своей формуле. Они являются достаточно эффективными ловушками для синглетного кислорода, в особенности при низком парциальном давлении кислорода. Кроме того, в этом случае они могут действовать и по другому механизму, выступая в качестве антиоксидантных соединений, обрывающих цепи ПОЛ. В то же время при высоком содержании кислорода  $\beta$ -каротин может проявлять прооксидантную активность. Рекомендуемая доза для мужчин составляет 1000 мкг ретинола или 6 мг  $\beta$ -каротина, тогда как для женщин эта доза меньше и составляет 800 мкг ретинола или 4,8 мг  $\beta$ -каротина [3]. Особый интерес представляет комбинированное применение эндогенных антирадикальных антиоксидантов. В настоящее время такие исследования проводятся.

### Список литературы

1. Биохимия: учеб. для вузов / В.П. Комов, В.Н. Шведова. – М.: Дрофа, 2006. – 638 с.

2. Клиническая фармакология: избранные лекции / С.В. Оковитый, В.В. Гайворонская, А.Н. Куликов, С.Н. Шуленин. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 608 с.

3. Оковитый С. В. Клиническая фармакология антиоксидантов / С. В. Окови- тый // ФАРМиндекс: ПРАКТИК. - 2003. - Вып. 5. - С. 85-111.

## **БИОТЕХНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЕ**

Мушохве Линмери, Власенко М.П., Грекова Г.А.

*кафедра химии подготовительного факультета по обучению иностранных граждан, ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону*

Биотехнология — наука, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач (использование живых организмов и биологических процессов в промышленном производстве), а также возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом генной инженерии. Биотехнологию сейчас делят на красную, зелёную, голубую и белую. Красная — для нужд медицины (прежде всего индивидуальной). Зелёная — для сельского хозяйства (например, растения аккумулируют энергию Солнца, думаю, человечество будет это использовать). Голубая — это морские биотехнологии. Ведь в море больше «живого», чем на суше. Белая — связана с промышленностью, в частности, с использованием «отходов» леса. Разберем подробнее биотехнологии в современной медицине.

В наше время быстро развивается микробиологический синтез ферментов, витаминов, аминокислот, антибиотиков и т. п. Перспективно промышленное получение других биологически активных веществ (гормональных препаратов, препаратов, стимулирующих иммунитет, биосинтетические ДНК-вакцины и т. п.) с помощью методов генетической инженерии и культур животных и растительных клеток.

Одним из самых перспективных направлений в этой области является применение стволовых клеток. Ранее считалось, что стволовые клетки, находящиеся во взрослом организме, не являются универсальными, и способны производить лишь некоторые, специфичные для данного вида клеток, типы живой ткани [1]. Позже выяснилось, что одни и те же клетки могут формировать сразу несколько типов тканей. В 2002 году ученые из университета Миннесоты объявила об обнаружении универсального типа взрослых стволовых клеток.

Немного позже, была проведена первая операция по пересадке пациентам тканей, выращенных из искусственных многофункциональных стволовых клеток в клинике Принстонского университета в США группой врачей под руководством японского специалиста. У пациента после проведенной ранее пересадки печени практически полностью отказало сердце. Для восстановления его функций больному были пересажены ткани сердечной мышцы. Их удалось вырастить из индуцированных стволовых

клеток, полученных из клеточной массы удаленной печени больного. Операция прошла удачно, и пациент смог вернуться к нормальной жизни.

За последние 10-15 лет ученым удалось впервые вырастить из стволовых клеток структурно полноценные капиллярные кровеносные сосуды, полноценные клетки головного мозга [2], воспроизвести нервную клетку, клапаны человеческого сердца, ткани печени и клетки мышц. Отдельно следует отметить, что ученые смогли вырастить в лабораторных условиях полноценный мочевой пузырь, часть сердца человека и роговицу глаза. При этом в качестве материала были использованы клетки самих пациентов, нуждающихся в пересадке.

Чуть позже ученые создали тромбоциты из стволовых клеток. Важным достижением было проведение испанскими учеными операции по пересадке выращенной из стволовых клеток трахеи. Данное достижение на практике показало, как пересадка целых тканей может быть проведена без необходимости в дальнейшем приёме иммунодепрессантов. В след за этим были выращены кожа, фрагмент кишечника из стволовой клетки, фрагмент человеческой кости. В Швеции была проведена успешная пересадка вены, выращенной из стволовых клеток пациента. Шведские врачи не рискнули трансплантировать десятилетней девочке, страдающей тяжёлым заболеванием, при котором кровь не поступает к печени и орган отмирает, донорскую вену. Дети плохо переносят иммуносупрессоры, поэтому медики решили пересадить трансплантат, выращенный из стволовых клеток костного мозга самой девочки. Кроме того, стволовые клетки уже прочно вошли в медицинскую практику при лечении рака. Например, когда больные принимают лекарства цитостатики, замедляющие деление раковых клеток или когда им делают химиотерапию, стволовые клетки помогают поддерживать близкий к норме состав крови и уменьшить побочные эффекты. Велика эффективность стволовых клеток при лечении лейкозов. В России уже сейчас кардиохирурги делают особо тяжёлым больным инъекции стволовых клеток, получая обнадеживающие результаты [3].

Область применения клеточных технологий постоянно расширяется: с развитием медицинской науки, стволовые клетки совсем скоро могут стать повсеместно незаменимой основой для новейших способов лечения многих заболеваний. С каждым годом ученые все глубже проникают в понимание основных принципов жизни, благодаря развитию науки. Возможно, уже не далек тот день, когда живую клетку с нужными функциями можно будет «собрать» химическим путем из простых молекул.

### **Список литературы**

1. Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития. - М.: Наука, 2002. - 263 с.
2. Корочкин Л.И., Михайлов А.Т. Введение в нейрогенетику. - М.: Наука, 2000. - 312 с.
3. Репин В.С., Сухих Г.Т. Медицинская клеточная биология. - М.: БЭБиМ, 1998. - 250 с.

## РОЛЬ МАКРОЭЛЕМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Ясин Луна, Колесникова Т. С., Грекова Г.А.

*кафедра химии подготовительного факультета по обучению иностранных граждан, ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону*

В любом живом организме непрерывно протекает множество химических реакций. Совокупность всех химических изменений и всех видов превращений веществ и энергии называется обменом веществ или метаболизмом. Обмен веществ обеспечивает жизнедеятельность организмов, их развитие, связь с окружающей средой и адаптацию к изменению внешних условий.

В метаболизме участвуют и неорганические и органические вещества. Химические элементы, которые образуют эти вещества, называются биогенными элементами. Достоверно биогенными считаются около 30 элементов.

В зависимости от массовой доли в организме человека все биогенные элементы делятся на:

- макроэлементы (массовая доля в организме больше, чем 0.01 %)
- микроэлементы (массовая доля в организме меньше, чем 0.01 %).

К макроэлементам относят: углерод *C*, кислород *O*, водород *H*, азот *N*, фосфор *P*, сера *S*, галогены (*Cl*, *Br*, *I*, *F*), натрий *Na*, калий *K*, кальций *Ca*, магний *Mg*. Последние четыре элемента носят название «металлы жизни» [1]. Именно о функциях этих металлов в организме, а также о последствиях их дефицита и избытка пойдет речь в настоящей работе.

**Натрий.** Один из важнейших микроэлементов в организме человека, его также называют «внеклеточным щелочным катионом». От концентрации натрия зависит водно-электролитный баланс организма, регуляция и распределение жидкости в нем.

В организме человека содержится около 70-100 г натрия. Примерно половина этого количества содержится в межклеточной жидкости, 40 % в костной и хрящевой ткани и 10 % внутри клеток.

Присутствие натрия необходимо в определенном количестве во всех жизненно важных внутренних жидкостях, в первую очередь, для того, чтобы избежать частоты возникновения высокого кровяного давления и сердечного стресса.

Оценить важность роли натрия в организме можно по количеству функций, выполняемых им в организме:

- обеспечивает транспортировку веществ через клеточную мембрану;
- регулирует водный баланс в организме;
- поддерживает кислотно-щелочное равновесие;
- поддерживает осмотическое давление в крови;
- входит в состав желудочного сока и других пищеварительных соков;
- участвует в обмене веществ.

К продуктам питания, богатым натрием, относятся куриные яйца, морская капуста, анчоусы, мидии и другие морепродукты.

**Недостаток натрия** в организме возникает, когда уровень натрия в крови становится меньше, чем 135 ммоль/л и сразу же отражается на внеш-



нем и внутреннем состоянии человека. Кожа становится менее эластичной, суховатой, на ней могут появиться высыпания или покраснения. При нехватке натрия человек чувствует головокружение, сонливость, апатию, могут возникнуть приступы помутнения сознания, потери равновесия, галлюцинации или обмороки. Характерным признаком недостатка натрия считаются судороги мышц нижних конечностей, сильная жажда, тошнота и рвота. Длительная нехватка вещества вызывает резкую потерю веса, ухудшение памяти и интеллектуальных способностей, быструю утомляемость, снижение аппетита, проблемы со сном и мышечную слабость. Хронический недостаток натрия может стать причиной нарушения работы почек, пищеварительного тракта, сердечно-сосудистой и нервно-психической системы.

**Избыток натрия** встречается достаточно редко, у здорового человека «лишний» натрий выводится с мочой без всяких последствий для организма. Перенасыщение организма натрием возможно при употреблении большого количества поваренной соли с пищей, нарушении натриевого обмена и обезвоживании организма [2].

**Калий.** Регулирует кислотно-щелочное равновесие крови, водный баланс межклеточной и клеточной жидкости, водно-солевой баланс, принимает участие в передаче нервных импульсов, активизирует работу некоторых ферментов, углеводный и белковый обмен, улучшает деятельность кишечника. Необходим для осуществления выделительной функции почек. Следует отметить, что средняя суточная потребность в калии зависит от возраста и рода деятельности человека. В среднем она составляет 2 г, для людей, занятых тяжелым физическим трудом, спортсменов доходит до 5 г. **Недостаток калия** в организме характеризуется психическим истощением, усталостью, депрессией, слабостью в мышцах и снижением иммунной защиты от токсических воздействий. Может привести к ухудшению работы надпочечников, почек, сердечной недостаточности и повышению артериального давления, нарушению функции легких и репродуктивным изменениям. К сожалению, причины возникновения дефицита калия в организме изучены не до конца и часто неизвестны.

**Избыток калия** приводит к раздражительности, мышечной слабости, аритмии, нарушениям работы кишечника и повышению риска развития сахарного диабета. Нужно обратить внимание, что встречается недостаток калия также достаточно редко [3].

**Кальций.** Основная роль кальция в организме человека - нормализация работы сердца, регулирование возбудимости нервных и мышечных клеток, участие в процессах свертывания крови. Кальций входит в состав костей и зубов. Однако он является одним из самых трудно усваивающихся элементов. Он плохо всасывается без ненасыщенных жиров, при кипячении переходит в неусвояемые формы, образует нерастворимые соединения с фосфатами и щавелевой кислотой. Усвоение кальция сильно зависит от его соотношения с другими солями, особенно с фосфатами и магнием. Установлено, что, если человек принимает витаминные комплексы с кальцием, он должен убедиться в том, что получает достаточно витамина D. Без него организм не усваивает

кальций. Суточная потребность в кальции для взрослого – 0.8-1 г, ребенка – 1.2 г, беременных и кормящих матерей — до 2 г.

Калий, кальций и магний играют важную роль в питании миокарда, поддержании сосудистого тонуса и регуляции биохимических процессов в организме. Когда клетки организма не получают достаточно кальция из пищи, они начинают забирать его у костей. С возрастом кости становятся хрупкими. Симптомами **недостатка кальция** в организме являются: слабость и утомляемость, спазмы в мышцах, нарушения роста, гипокальциемия (низкий уровень кальция в крови), декальцинация скелета (недостаток кальция в костной ткани), переломы костей, деформация позвонков, нарушения работы иммунной системы и понижение свертываемости крови. В случае **избытка кальция** возникает снижение тонуса гладких мышц, гиперкальциемия, кальциноз (отложения солей кальция в мягких тканях или органах, в составе которых не должно быть солей в нерастворенном состоянии), заболевания сердца, повышение вероятности развития нарушений щитовидной железы, а также выведение из организма железа, цинка, фосфора, магния.

**Магний.** Магний обладает сосудорасширяющим и мочегонным действием. Обмен фосфора и солей магния тесно связаны. Недостаток в пище солей магния нарушает нормальную возбудимость и проводимость нервной системы, сокращение мышц. Средняя суточная потребность взрослого человека в магнии — 400 мг/сут. При нормальном питании потребность организма в магнии, как правило, полностью обеспечивается.

В случае **недостатка магния** наблюдается нарушения работы пищеварительной системы, нервной системы (раздражительность, упадок сил, сонливость), возникновение заболеваний сердечно-сосудистой системы, сбой синтеза гормонов в надпочечниках; появление камней в почках и желчном пузыре, нарушение метаболизма углеводов, и, как следствие, развитие сахарного диабета. **Симптомы избытка магния:** нарушение координации движений; мышечная дрожь и судороги; головокружения, сбой в работе миокарда, ломкость волос и ногтей [4].

Таким образом, можно сделать общий вывод, что рациональное сбалансированное питание, и, в частности, присутствие в ежедневном рационе «металлов жизни», играет важную роль для человеческого организма. Минеральные вещества в необходимом количестве обеспечивают поддержание гомеостаза, участвуют в обеспечении жизнедеятельности. Их дефицит либо избыток, в свою очередь, приводят к специфическим нарушениям или заболеваниям.

### Список литературы

1. Егоров А. С., Иванченко Н. М., Шацкая К. П. Химия внутри нас: Введение в бионеорганическую и биоорганическую химию. Ростов н/Д: Феникс, 2004. - 192 с.
2. Слесарев В. И. Химия: основа химии живого. С.-Пб: Химиздат, 2000. - 267 с.
3. Фримантл М. Химия в действии. М.: Мир, 1991.- 342 с.
4. Макаров К. А. Химия и здоровье. М.: Просвещение, 1985. - 154 с.

## LIPOSOMES: CLASSIFICATION AND APPLICATIONS IN MEDICINE AND PHARMACOLOGY

El Dhaybi Muh., Sultigova M.M., Karapetyan O. Sh.  
*Department of General and Clinical Biochemistry № 2*  
*FSBEI HE RostSMU MOH Russia, Rostov-on-Don*

**Annotation:** since their discovery in the 1960s, liposomes have been studied in depth, and they continue to constitute a field of intense research. Liposomes are valued for their biological and technological advantages, and are considered to be the most successful drug-carrier system known to date. In this review, we briefly describe some important features of the structure of liposomes and their application in medicine and pharmacology.

Liposomes are small artificial vesicles of spherical shape that can be created from cholesterol and natural nontoxic phospholipids (Figure 1). They were first discovered by Bangham and his co-workers in 1961.

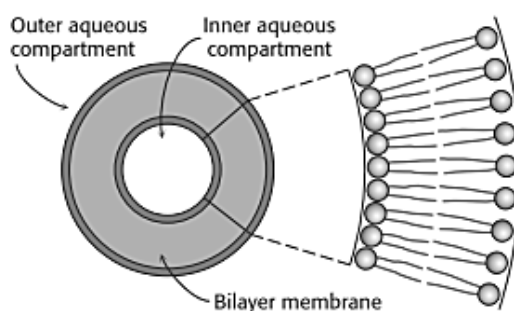


Figure 1. A liposome. A liposome, or lipid vesicle, is a small aqueous compartment surrounded by a lipid bilayer.

Generally, liposomes are definite as spherical vesicles with particle sizes ranging from 30 nm to several micrometers. They consist of one or more lipid bilayers surrounding aqueous units, where the polar head groups are oriented in the pathway of the interior and exterior aqueous phases [2]. Lipids forming liposomes may be natural or synthetic, and liposome constituents are not exclusive of lipids, new generation liposomes can also be formed from polymers (sometimes referred to as polymersomes). The unique feature of liposomes is their ability to compartmentalize and solubilize both hydrophilic and hydrophobic materials by nature [3]. Liposome properties differ considerably with lipid composition, surface charge, size, and the method of preparation (Table 1).

Table 1. Advantages and disadvantages of liposome [4].

Advantages of liposome	Disadvantages of liposome
Liposomes increased efficacy and therapeutic index of drug (actinomycin-D)	Low solubility

Liposome increased stability via encapsulation	Short half-life
Liposomes are non-toxic, flexible, biocompatible, completely biodegradable, and non-immunogenic for systemic and non-systemic administrations	Sometimes phospholipid undergoes oxidation and hydrolysis-like reaction
Liposomes reduce the toxicity of the encapsulated agent (amphotericin B, Taxol)	Leakage and fusion of encapsulated drug/molecules
Liposomes help reduce the exposure of sensitive tissues to toxic drugs	Production cost is high
Site avoidance effect	Fewer stables
Flexibility to couple with site-specific ligands to achieve active targeting	

The liposome size can vary from very small (0.025  $\mu\text{m}$ ) to large (2.5  $\mu\text{m}$ ) vesicles. Moreover, liposomes may have one or bilayer membranes. The vesicle size is an acute parameter in determining the circulation half-life of liposomes, and both size and number of bilayers affect the amount of drug encapsulation in the liposomes. On the basis of their size and number of bilayers, liposomes can also be classified into one of two categories: (1) multilamellar vesicles (MLV) and (2) unilamellar vesicles. Unilamellar vesicles can also be classified into two categories: (1) large unilamellar vesicles (LUV) and (2) small unilamellar vesicles (SUV) (Figure 2) [5].

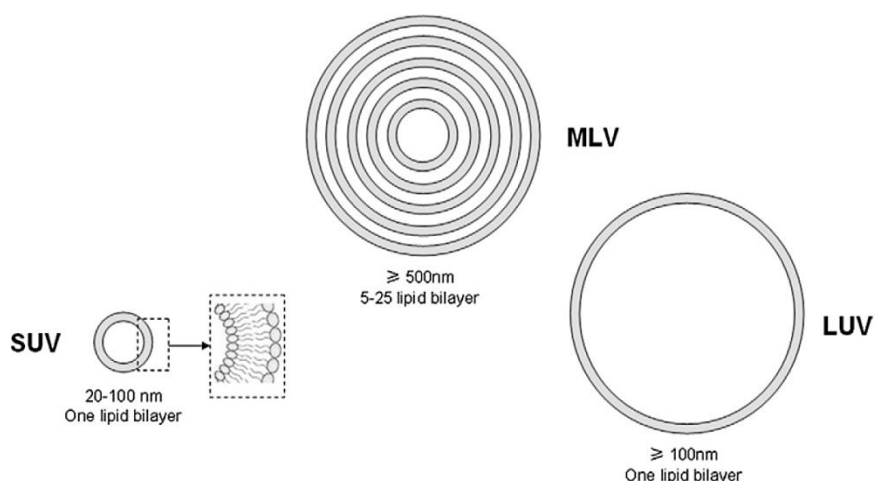


Figure 2. Classification of liposomes with different size and structure).

Whether composed of natural or synthetic lipids or polymers, liposomes are biocompatible and biodegradable which make them suitable for biomedical research. Applications of liposomes in medicine and pharmacology can be divided into diagnostic and therapeutic applications of liposomes containing various markers or drugs, and their use as a tool, a model, or reagent in the basic studies of cell interactions, recognition processes, and mode of action of certain substances [5].

Unfortunately, many drugs have a very narrow therapeutic window, meaning that the therapeutic concentration is not much lower than the toxic one. In several

cases, the toxicity can be reduced or the efficacy can be enhanced by the use of a suitable drug carrier which alters the temporal and spatial delivery of the drug, i.e., its biodistribution and pharmacokinetics. It is clear from many pre-clinical and clinical studies that drugs, for instance antitumor drugs, parceled in liposome demonstration reduced toxicities, while retentive enhanced efficacy.

Advances in liposome design are leading to new applications for the delivery of new biotechnology products, for example antisense oligonucleotides, cloned genes, and recombinant proteins. A vast literature define the viability of formulating wide range of conservative drugs in liposomes, frequently resultant in improved therapeutic activity and/or reduced toxicity compared with the free drug. As a whole, changed pharmacokinetics for liposomal drugs can lead to improved drug bioavailability to particular target cells that live in the circulation, or more prominently, to extravascular disease sites, for example, tumors. The benefits of drug load in liposomes, which can be applied as (colloidal) solution, aerosol, or in (semi) solid forms, such as creams and gels, can be summarized into seven categories (Table 2) [2].

Table 2. Benefits of drug load in liposomes.

	Benefits of drug load in liposome	Examples
.	Improved solubility of lipophilic and amphiphilic drugs	Amphotericin B, porphyrins, minoxidil, some peptides, and anthracyclines, respectively; hydrophilic drugs, such as anti-cancer agent doxorubicin or acyclovir
.	Passive targeting to the cells of the immune system, especially cells of the mononuclear phagocytic system	Antimonials, amphotericin B, porphyrins, vaccines, immunomodulators
.	Sustained release system of systemically or locally administered liposomes	Doxorubicin, cytosine arabinoside, cortisones, biological proteins or peptides such as vasopressin
.	Site-avoidance mechanism	Doxorubicin and amphotericin B
.	Site-specific targeting	Anti-inflammatory drugs, anti-cancer, anti-infection
.	Improved transfer of hydrophilic, charged molecules	Antibiotics, chelators, plasmids, and genes
.	Improved penetration into tissues	Corticosteroids, anesthetics, and insulin

Liposomes with enhanced drug delivery to disease locations, by ability of long circulation residence times, are now achieving clinical acceptance. Also, liposomes promote targeting of particular diseased cells within the disease site. Finally, liposomal drugs exhibit reduced toxicities and retain enhanced efficacy com-

pared with free complements. Only time will tell which of the above applications and speculations will prove to be successful. However, based on the pharmaceutical applications and available products, we can say that liposomes have definitely established their position in modern delivery systems.

### References

1. McKee T., McKee J.R. Biochemistry: The Molecular Basis of Life 5th Edition. Oxford University Press. 2012. 752 p.
2. Akbarzadeh A., et al. Liposome: classification, preparation, and applications // Nanoscale Research Letters. 2013. V.8:102. P. 1-9.
3. Çagdaş M., Sezer A.D., Bucak S. Liposomes as Potential Drug Carrier Systems for Drug Delivery, Application of Nanotechnology in Drug Delivery Sezer A.D., IntechOpen, DOI: 10.5772/58459. Available from: <https://www.intechopen.com/books/application-of-nanotechnology-in-drug-delivery/liposomes-as-potential-drug-carrier-systems-for-drug-delivery>
4. Himanshu A., Sitasharan P., Singhai A.K. Liposomes as drug carriers // IJPLS. 2011. V 2(7). P. 945 – 951.
5. Dang Sh.-Ch., Raheem A., Adil W., Cui L., et.al. Liposomes and Nanotechnology in Drug Development: Focus On Pancreatic Cancer // Gastroenterol Pancreatol Liver Disord. 2017 4(5). P.1-10.

## Содержание

ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА Абдул-Кадырова Л.Р., Шестакова Т.Е.....	3
АУТОИММУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: МЕСТО МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В СОВРЕМЕННОЙ РЕВМАТОЛОГИИ Авагян А.С., Смольянинова Л.П.....	4
РОЛЬ НЕКОДИРУЮЩЕЙ РНК В РАЗВИТИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ИХ ДИАГНОСТИКА Алексеев Э.К., Пискунов К.П., Коновалова О.В.....	8
БИОХИМИЯ ПСИХОСОМАТИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ. ШИЗОФРЕНИЯ Алиева В.Ф., Шустанова Т.А.....	10
МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ Бабюк В.В., Шестакова Т.Е.....	14
СОВРЕМЕННАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ Будагян А.С., Шустанова Т.А.....	15
МИКРО-РНК В ПАТОГЕНЕЗЕ И ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ Бухтин О.В., Шустанова Т.А.....	20
ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ФОРМЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КОШЕК Вакуленко М.Ю., Пономарева В. Ф., Сергеева А.А. ....	22
ГЕНОТЕРАПИЯ НА ПРИМЕРЕ МУКОВИСЦИДОЗА Двалишвили С.Л., Малахова В.А., Ставиский И.М.....	24
БИОМАРКЕРЫ В НЕОТЛОЖНОЙ КАРДИОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ Заргарян К.С., Чёрная А.С., Липилкин П.В., Волкова М.С.....	26
РАДИОИММУНОТЕРАПИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ Камельянова Е.Д., Шустанова Т.А.....	29
СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ (NGS) Козуб В.К., Шустанова Т.А.....	30

ЦИСТАТИН С – СОВРЕМЕННЫЙ МАРКЕР СКОРОСТИ КЛУБОЧКОВОЙ ФИЛЬТРАЦИИ Курипко А.А., Гиголова Г.М., Волкова М.С.....	32
МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИБРАЦИОННОЙ БОЛЕЗНИ: РЕАЛИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ Мищенко И.М., Смольянинова Л.П.....	34
ПОСТГЕНОМНАЯ ЭРА В МЕДИЦИНЕ Логвина М.В., Моргуль А.Р., Коновалова О.В.....	38
ПРИНЦИПЫ И ФОРМЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ Налесная Д.А., Магомедова А.М., Шустанова Т.А.....	40
РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ЛАКТАТА И ПИРУВАТА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ Рябцев А.С., Шустанова Т.А.....	42
МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ СЕРЕДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ Соболь В.С., Макаров М.А., Шестакова Т.Е.....	45
БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА Сулимов Э.Д., Казарян К.А., Луспикаян А.В., Коновалова О.В. ....	47
ДОСТИЖЕНИЯ И ВОЗМОЖНОСТИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ Терещенко А. А., Шустанова Т.А.....	51
НЕКОТОРЫЕ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ КОЖИ, СВЯЗАННЫЕ С МУТАЦИЯМИ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА Черкасова Д.А., Борисова В.А., Коновалова О.В.....	52
НОВЫЕ ВЕЩЕСТВА - ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ: ПОСЛЕДСТВИЯ ДЛЯ ОРГАНИЗМА Чуприна А.В., Шестакова Т.Е.....	54
ИЗУЧЕНИЕ REAL TIME-PCR - СОВРЕМЕННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ЭКСПРЕСС-МЕТОДА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ Егорян А.У., Шустанова Т.А.....	56
АНТИОКСИДАНТНАЯ ФУНКЦИЯ ВИТАМИНОВ Хурэлбаатар Золзая, Амаржаргал Цолмон, Грекова Г.А.....	59



БИОТЕХНОЛОГИИ В СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЕ	
Мушохве Линмери, Власенко М.П., Грекова Г.А.....	62
РОЛЬ МАКРОЭЛЕМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА	
Ясин Луна, Колесникова Т. С., Грекова Г.А.....	64
LIPOSOMES: CLASSIFICATION AND APPLICATIONS IN MEDICINE AND PHARMACOLOGY	
El Dhaybi Muh., Sultigova M.M., Karapetyan O. Sh.....	67