

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПРИ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

С.Н. Щербо. **Медицина XXI века: лабораторная, трансляционная, предиктивно-превентивная, персонализированная и прецизионная.** ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, кафедра клинической лабораторной диагностики ФДПО, г. Москва

Медицина XXI века позиционирована как медицина «4П»: **Предиктивная** (предсказательная); **Предупредительная** (профилактическая); **Партисипаторная** (пациент участник процесса); **Персонализированная** (индивидуальная), а с 2015 г. и **Прецизионная** («5П»). **Персонализированная медицина** (ПМ) представляет собой интегральную медицину, которая включает в себя тестирование на предрасположенности к болезням, с использованием молекулярного анализа на основе ОМИКСных технологий для достижения оптимального медицинского результата для индивидуума, что приведет к улучшению качества жизни, разработке персонализированных лекарственных средств, профилактику, объединение диагностики с мониторингом лечения и медицинским менеджментом заболеваний человека, что в перспективе будет способствовать снижению стоимости медицинской помощи. ПМ является также новой системой организации здравоохранения, моделью организации медицинской помощи, основанной на выборе диагностических, лечебных и профилактических средств, которые были бы оптимальными, экономическими и этически обоснованными у выбранного индивидуума с учетом генетических, физиологических, биохимических и других особенностей. ПМ становится наилучшим способом внедрения новых биотехнологий в медицину (трансляционная медицина) для улучшения понимания патогенетического механизма заболеваний и лечения больных, внедрения инновационных методов лабораторной диагностики, новых медицинских технологий и приборов. Медицина во все времена основное внимание уделяла уже заболевшему человеку и практически не занималась донозологическими состояниями пациента. На рубеже тысячелетий произошел коренной перелом, связанный с новыми подходами к здоровью человека и организации медицинской помощи, что позволит существенно сократить расходы на здравоохранение. Если сегодня врач задается вопросом: «Чем болен пациент?», то в будущем он будет решать проблему: «Чем может заболеть этот человек и что следует предпринять сегодня, чтобы этого не допустить?». Не зная генетической конституции каждого отдельного человека, можно давать результативные рекомендации для популяции в целом (отказ от курения, алкоголя, здоровый образ жизни и т.д.). Предиктивно-превентивная медицина изучает возможность прогнозирования заболевания у данного человека на основе исследования индивидуальных особенностей генома, протеома, микробиома, метаболома и других «Омов». Интегративное персональное омиксное профилирование комбинирует геномные экспрессионные, протеомные и аутоиммунные тесты, проведенные на одном человеке в течение 14 мес и выявляет изменяющиеся молекулярные и медицинские значимые фенотипы. Геномные и экспрессионные данные самого высокого разрешения, лежащие в основе анализа, показали значительные динамические изменения в различных молекулярных компонентах и биологических путях в условиях нормы и патологии.

Задачи ПМ – понять молекулярный механизм заболевания, найти наиболее важные биомаркеры, указать пути создания персонализированного ЛС, которое эффективно действует на целевые (таргетные) мишени, связанные с патологией. Более глубокое понимание для различных подпопуляций патогенетических механизмов возникновения и особенностей развития заболеваний, разделение их на типы и подтипы (особенно успешно это направление раз-

вивается в онкологии), нахождение наиболее эффективных мишеней воздействия ЛС являются важнейшими задачами ПМ. В ближайшее время технологии генотипирования генетического материала человека будут использованы в медицинской практике для создания необходимой информационной базы и алгоритмов ПМ, опирающихся в первую очередь на результаты геномного секвенирования, а также учета эпигеномных и метагеномных факторов. Перспективные технологические разработки должны быть направлены на наблюдение с использованием микробиома и метагеномной идеологии за совокупностью микроорганизмов, колонизирующих человеческое тело, и определение основных факторов, имеющих отношение к инфекционной и соматической патологии. Возможно, что полный переход к ПМ в развитых странах должен произойти между 2015 и 2025 гг., когда технологии секвенирования генома станут общедоступным для мультифакторных заболеваний, которые связаны с нарушениями не в одном конкретном гене, а в десятках и сотнях. Наиболее эффективно использование подходов ПМ в лечении онкологических, сердечно-сосудистых заболеваний, нейродегенеративных, психических и метаболических заболеваний, таких как сахарный диабет и ожирение. После успешного завершения проекта «Геном человека» началась новая постгеномная эра и за прошедшие 10 лет достигнуты колоссальные успехи прежде всего в развитии лабораторных технологий: секвенирование геномов, транскриптомов, протеомов и получены огромные объемы структурной информации. Таким образом, в настоящее время сложились новые предпосылки для переоценки роли лабораторной медицины в общей системе клинических дисциплин, что обусловлено требованиями, которые выдвигаются в связи со стремительным развитием современных подходов и принципов доказательной, предиктивно-превентивной и персонализированной медицины, более глубоким пониманием характера междисциплинарных отношений.

Н.А. Бакунина, С.Н. Щербо. **Предиктивная и персонализированная медицина осложнений эндокринной офтальмопатии.** ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, кафедра клинической лабораторной диагностики ФДПО, г. Москва

Персонализированная медицина основана на применении инновационных биомедицинских технологий для предсказания вероятности возникновения различных патологий у человека, а так же на разработку своевременных профилактических мер и планирования индивидуализированной терапии. В последние годы отмечена тенденция увеличения частоты аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (ЩЖ) и эндокринной офтальмопатии (ЭОП), при которой зачастую высока вероятность снижения зрительных функций вплоть до слепоты и слабовидения. Нарушение функций органа зрения обусловлено развивающейся оптической нейропатией, что встречается у 3–6% больных ЭОП, а в период декомпенсации. ЭОП может наблюдаться при аутоиммунном тиреоидите, гипотиреозе, а иногда предшествовать заболеваниям щитовидной железы. У 18,8% больных глазная симптоматика выявляется задолго до появления признаков поражения щитовидной железы или после ликвидации признаков гипертиреоза, что так же затрудняет своевременную диагностику ЭОП. В 5–10% случаев при ЭОП не выявляется дисфункция ЩЖ. Трудности выявления предвестников декомпенсации экзофтальма приводят к тому, что диагноз устанавливается лишь в запущенных стадиях болезни, когда снижется острота зрения, нарушается цветоощущение, появляются изменения в поле зрения, ухудшается качество жизни пациента, что приводит к необходимости длительной и не всегда эффективной терапии. Сложно-

сти своевременного лечения и профилактики декомпенсации ЭОП, по нашему мнению, связаны и с разнообразием клинической картины ЭОП, в том числе с тем, что при естественном течении ЭОП достаточно часто происходит самопроизвольное разрешение, которое, однако, редко бывает полным. Назрела необходимость в высокоэффективных предиктивных мерах, которые могли бы снизить распространенность ЭОП, в т.ч. у пациентов с заболеваниями щитовидной железы; могли бы уменьшить отдаленные осложнения и улучшить качество жизни больных с ЭОП, что должно уменьшить связанную с этим экономическую нагрузку на систему здравоохранения. С учетом высокого риска и большой распространенности снижения зрения при ЭОП, а также индивидуальной предрасположенности к самопроизвольному разрешению, ЭОП представляет собой интересную модель для предиктивной диагностики, превентивных мер и персонализированного лечения. По нашему мнению, в третичную профилактику осложнений отечного экзофтальма, помимо терапии глюкокортикостероидами, должна быть включена терапия синдрома сухого глаза глазами каплями Рестапис на основе циклоспорина А, который при местном применении оказывает иммуномодулирующее и противовоспалительное действие. Таким образом, потерю зрения при ЭОП можно предотвратить современными методами предиктивной диагностики и персонализированного лечения. Медицинское ведение больных с ЭОП требует принятия мер по распространению осложнений ЭОП, повышения качества жизни больных, что снизит экономическую нагрузку на систему здравоохранения.

М.В. Фридман, Э.А. Брага, Н.Е. Кушлинский. Современные подходы к неинвазивной диагностике остеосаркомы с использованием микроРНК. Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва; Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва; ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва

Обнаружение регуляции активности генов с помощью малых некодирующих молекул – микроРНК (миРНК) – одно из выдающихся открытий в биологии последнего десятилетия, а подавление экспрессии с их участием считают важным и универсальным механизмом, вовлеченным в большинство внутриклеточных сигнальных путей. Нарушения этого механизма выявлены при разных патологиях человека и в первую очередь в развитии опухолей. В лекции будут представлены основные этапы изучения миРНК в клетке и их роль в патогенезе, диагностике и терапии остеосаркомы у детей. МиРНК, выделяемая в плазму крови экзосомами, по составу отличается от внутриклеточных миРНК, но для неинвазивной клинической диагностики пригодна только миРНК плазмы [Zhang et al., 2015]. Стандартной процедурой, применяемой в настоящий момент для надежной оценки уровня миРНК в плазме крови, является ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Следует отметить, что внимание исследователей привлекает оценка чувствительности и специфичности методов по определению миРНК у больных остеосаркомой. К сожалению, даже в тех случаях, когда обнаружены высоко достоверные различия между группами больных и контролем, не всегда проведена оценка чувствительности и специфичности маркеров, которые использованы в работе. Вместе с тем, показано, что уровень экспрессии miR-196a и miR-196b в сыворотке крови больных остеосаркомой достоверно выше, чем в контроле ($p < 0,001$) [Zhang et al., 2014]. Содержание miR-21 в сыворотке больных остеосаркомой также достоверно выше, чем у здоровых людей ($p < 0,001$) [Yuan et al., 2012]. Показано также существенное повышение в плазме крови больных остеосаркомой содержания miR-21 и снижение miR-199a-3p и miR-143. Эти результаты подтверждены на другой выборке и использованы для диагностики заболевания. AUC (полусумма чувствительности и специфичности) оценили как 0,953 (при 95% доверительном интервале) [Ouyang et al., 2013]. Обнаружено, что уровень miR-148a в крови также был существенно выше у больных остеосаркомой по сравнению с кон-

тролем, что позволило достоверно отличить одну группу от другой (AUC=0,783) [Ma et al., 2014]. Проводили исследование уровней миРНК в мониторинге больных остеосаркомой, например, в плазме крови здоровых и больных остеосаркомой до операции и/или химиотерапии и через месяц после операции. Обнаружено повышение содержания miR-195-5p, miR-199a-3p, miR-320a и miR-374a-5p. Повышенное содержание этих четырех миРНК позволило отличить больных остеосаркомой от здоровых с высокими значениями показателей чувствительности и специфичности (показатель AUC составил 0,9608 с 95% доверительным интервалом 0,9307–0,9912). После операции концентрация этих миРНК в плазме крови существенно уменьшалась [Lian et al., 2015]. Предварительные данные показали возможность использования полиморфного варианта miR-34a (rs72631823), который обнаружен в плазме с использованием стандартных протоколов ПЦР и секвенирования, как маркера генетической предрасположенности к остеосаркоме. Данный полиморфный вариант является редким (частота аллеля менее 1%) во всех популяциях человека, но среди больных остеосаркомой частота его была в несколько раз повышена ($p < 0,001$). Данные ПЦР-РВ подтвердили, что среди его носителей понижена концентрация miR-34a в плазме. Влияние этого полиморфного варианта на уровень экспрессии гена miR-34a и на ген-мишень c-Met подтверждено также *in vitro* для клеточных линий остеосаркомы. В работе исследованы образцы плазмы крови от 103 пациентов и 201 контроля [Lv et al., 2014]. Ввиду важного значения miR-34a как онкосупрессора вообще и при остеосаркоме в частности [Misso et al., 2014], типирование по этому варианту представляется перспективным. В лекции будут представлены современные данные по определению различных миРНК и их возможному применению в диагностике, прогнозе и целенаправленной таргетной терапии больных остеосаркомой.

М.Л. Фишпенко. Качественный и количественный анализ соматических мутаций в клинико-диагностической лаборатории. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

Инициация злокачественной трансформации клеток человека связана с возникновением в их геномах соматических мутаций, которые накапливаются в течение всей жизни индивида и сопровождаются дополнительной эпигенетической и транскриптомной дисрегуляцией.

Известно, что соматические мутации могут быть нейтральными или же изменять функциональную активность белкового продукта несущего их гена. «Инактивирующие» мутации генов онко-супрессоров и «активирующие» в онкогенах формируют фенотип опухолевых клеток, их спектр варьирует в зависимости от гистологического типа опухоли и может меняться при ее прогрессии и под действием лекарственной терапии. Именно соматические изменения генома стимулировали концепцию целенаправленной таргетной терапии, в основе которой лежит поиск и применение лекарственных препаратов, инактивирующих измененный белок или же целый сигнальный путь.

Лавинообразное накопление данных о спектре и функциональной роли соматических мутаций, произошедшее в последнее десятилетие в результате стремительного прогресса методов структурного анализа ДНК, увеличило терапевтический и диагностический потенциал соматических мутаций. Например, их не инвазивная детекция в биологических жидкостях может заменять анализ биопсийного материала или служить суррогатным маркером успеха лечения или формирования к нему резистентности.

В настоящей лекции попытаемся оценить эффективность существующих в настоящее время методов детекции и количественной оценки соматических мутаций, адекватных для применения в клинико-диагностических лабораториях, а также протоколы «хорошей практики» их использования вместе с внутренним и внешним контролем качества.

Д.С. Михайленко^{1,2}, Д.В. Перепечин¹, М.В. Григорьева¹, Д.В. Залетаев², А.В. Сивков¹. Молекулярно-генетическая диагностика онкоурологических заболеваний. ¹НИИ уро-

логии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 105425, г. Москва; ²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, г. Москва

Рак предстательной железы (РПЖ) и рак мочевого пузыря (РМП) относятся к наиболее частым онкоурологическим заболеваниям. Основной лабораторный метод диагностики РПЖ – определение уровня простатспецифического антигена (ПСА) в крови, однако его концентрация может быть повышена не только при РПЖ, но и при воспалении, доброкачественной гиперплазии (ДГПЖ) или интраэпителиальной неоплазии (ПИН) простаты. Чувствительность цитологического анализа мочи при РМП существенно ограничена на первой стадии заболевания. В связи с этим, актуален поиск новых молекулярных маркеров для диагностики РПЖ и РМП. В последние годы описаны молекулярно-генетические изменения, которые характерны для указанных заболеваний и могут быть выявлены в осадке мочи или первичных биоптатах. Так, при первичной диагностике РПЖ, а также для решения вопроса о целесообразности повторной биопсии при сохраняющемся повышенном ПСА и отрицательном результате первой биопсии может быть применен анализ гена *PCA3* в клетках из осадка мочи. Ген *PCA3* гиперэкспрессируется при РПЖ относительно нормы, простатита, ДГПЖ и ПИН. Зарубежными исследователями разработан набор ProgenSA для анализа *PCA3* в диагностических целях с использованием метода изотермической амплификации нуклеиновых кислот, в настоящее время в других организациях проводятся разработки тест-систем для определения экспрессии *PCA3* различными методами. Материал первичной биопсии с сомнительным результатом может быть проанализирован набором ProstateCore MitomicTest на наличие делеции mtDel3,4kb для аргументации назначения повторной биопсии. Эта делеция присутствует в митохондриальной ДНК как в РПЖ, так и в непосредственно прилегающем к нему морфологически неизмененном эпителии («поле канцеризации»). Кроме того, разработаны тест-системы OncotypeDX и Prolaris для определения в первичных биоптатах 12 и 31 прогностических экспрессионных маркеров РПЖ соответственно.

Цель настоящей работы – комплексный анализ экспрессии гена *PCA3*, химерного онкогена *TMPRSS2:ERG* и мутаций гена *FGFR3* в осадках мочи как потенциальных маркеров для неинвазивной диагностики основных онкоурологических заболеваний.

Исследовали 29 образцов осадка мочи, полученных от больных РПЖ (10 образцов), ДГПЖ/ПИН – (16 образцов) и простатитом (3 образца). Экспрессию генов *PCA3* и *TMPRSS2:ERG* определяли методом ПЦР в реальном времени с TaqMan-зондами относительно эндогенного (*GAPDH*) и тканеспецифичного (*KLK3*) контролей. Гиперэкспрессия *PCA3* была характерна для РПЖ: диагностическая точность при пороговом значении deltaCt(*PCA3-KLK3*) равном 0,98 составила 84% для осадков мочи. Экспрессия химерного онкогена *TMPRSS2:ERG* выявлена в 50% РПЖ и 17% случаев ПИН. Методом ПЦР с последующим секвенированием 7 и 10 экзонов *FGFR3* исследовали 16 образцов осадков мочи от больных РМП, группу контроля составили 24 пациента с циститом и мочекаменной болезнью. В 31% случаев РМП обнаружены миссенс-мутации: с.746С→G (p.S249C), с.1124А→G (p.Y375C), с.1144G→C (p.G382R) и 2 случая с.1156T→C (p.F386L).

Таким образом, различные исследовательские коллективы выявили молекулярно-генетические маркеры РПЖ и РМП, одни из которых уже входят в состав диагностических тест-систем, другие являются предметом прикладных НИР. В частности, нами показано, что анализ экспрессии и мутаций генов *PCA3*, *TMPRSS2-ERG* и *FGFR3* может быть использован как компонент неинвазивной диагностики РПЖ и РМП по осадку мочи.

Д.В. Буланов. Ядерно-транскрипционные факторы: новые аспекты в иммуногистохимической диагностике злокачественных новообразований без выявленного первичного очага. Европейский Медицинский Центр, Москва

Цель – изучение линейной дифференцировки (тканеспецифичных свойств) опухолевых клеток с использованием антител ядерно-транскрипционных факторов (ЯТФ) для проведения морфологической диагностики и дифференциальной диагностики в ряду метастатических низкодифференцированных злокачественных опухолей без выявленного первичного очага.

Исследовали образцы новообразований от 35 пациентов с различными метастатическими опухолями без четких признаков органной принадлежности. Экспрессию ЯТФ в опухолевых клетках определяли с помощью ИГХ метода с использованием автоматического иммунопейнера Ventana™ BenchMark Ultra (с системой визуализации ultraView Universal DAB Detection™) на серийных срезах с парафиновых блоков с применением антител органоспецифичных ЯТФ: PAX-8 (линейная/тканеспецифичная дифференцировка: щитовидная железа, почка, müllerian system, нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы); GATA-3 (линейная/тканеспецифичная дифференцировка: молочная железа, уротелий); NKX 3-1 (линейная/тканеспецифичная дифференцировка: простата); SATB-2 (линейная/тканеспецифичная дифференцировка: толстая кишка).

При ИГХ исследовании экспрессия ЯТФ PAX-8 отмечена во всех случаях светлоклеточного почечно-клеточного рака, что коррелировало с обнаружением иммунопозитивного окрашивания опухолевых клеток в реакции с другими маркерами почечно-клеточной карциномы, в частности с CD10; AMACR (p504s); в сочетании с коэкспрессией Pan-Ck (AE1/AE3) и Vimentin. В данном исследовании отмечено слабое и умеренное ядерного типа окрашивание нейроэндокринных карцином поджелудочной железы в реакции с ЯТФ PAX-8, что позволяет использовать его в практике патоморфологической дифференциальной диагностики метастатических карцином с нейроэндокринным типом клеточной дифференцировки с целью определения первичной локализации опухоли в поджелудочной железе. В ряду трипл-негативных (ER-, PR-, HER2/neu-) РМЖ со слабой и отрицательной реакцией с опухоль-специфичными и широко используемыми в рутинной практике патолога антителами: Mammoglobin и GCDFFP-15, отмечена высокая чувствительность и специфичность экспрессии ЯТФ GATA3, позволяющего провести точную диагностику и дифференциальную диагностику метастатического трипл-негативного РМЖ. Наряду с чем иммунопозитивное ядерного типа окрашивание в реакции с антителом органоспецифичного ЯТФ GATA3 отмечено в нашем исследовании во всех низкодифференцированных уротелиальных карциномах, при обязательном условии коэкспрессии в опухолевых клетках характерных для уротелиального рака ИГХ маркеров: p63; Ck-5; при слабом и неравномерном, часто фокальном окрашивании с антителами уротелиальной дифференцировки: Thrombomodulin (CD141) и Uroplakin II (BC21). Во всех первичных и метастатических низкодифференцированных карциномах простаты отмечено диффузное ядерного типа окрашивание опухолевых клеток в реакции с антителом NKX 3-1, при существенно низком уровне экспрессии клеток опухоли с рядом тканеспецифичных ИГХ маркеров: prostate-specific antigen (PSA); prostate specific membrane antigen (PSMA); prostatic acid phosphatase (PAP); P504S (a-methylacyl-CoA racemase, AMACR). В колоректальных карциномах различной степени гистологической дифференцировки, включая метастатические, отмечено диффузное ядерного типа окрашивание опухолевых клеток в реакции с ЯТФ SATB-2 при позитивном внутреннем контроле в ядрах крипталльных эпителиоцитов.

Активное использование новых маркеров (ядерно-транскрипционных факторов), определяющих линейноспецифичные и прогностически значимые биологические свойства опухолевой клетки, позволяют патологу на современном этапе, оптимизируя имеющиеся ИГХ алгоритмы осуществлять точную морфологическую диагностику злокачественных опухолей различного гистогенеза (без выявленного первичного очага).

Н.В. Любимова, М.Г. Томс, Т.Ю. Харитиди, Т.К. Чурикова, Ю.С. Тимофеев. Биохимические маркеры нейроэндокринных опухолей. Опыт применения в России. ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва

Нейроэндокринные опухоли (НЭО) образуют гетерогенную группу новообразований, биологические характеристики которых зависят от анатомической локализации, клетко-предшественников, а также способности продуцировать и секретировать различные биологически активные пептиды и амины. Современная лабораторная диагностика НЭО основывается на исследовании продуцируемых опухолевыми клетками соединений, которые могут определяться в различных видах биологического материала. В качестве дополнительных к морфологическим и иммуногистохимическим методам диагностики НЭО используют биохимические маркеры, определяемые в биологических жидкостях. В настоящее время наиболее востребованными являются универсальный маркер хромогранин-А (ХгА) и специфические маркеры серотонина и 5-гидроксининдолилуксусная кислота (5-ГИУК).

Цель исследования – оценка клинической значимости биохимических маркеров НЭО при их сравнительном определении в крови и моче больных НЭО и практически здоровых людей.

Обследовали 302 больных НЭО различных локализаций в возрасте от 18 до 84 лет. В группу контроля включены 66 практически здоровых мужчин и женщин в возрасте от 18 до 80 лет. Определение ХгА в плазме крови, серотонина в сыворотке крови и 5-ГИУК в суточной моче проводили стандартизованными методами ИФА при использовании тест-систем «Chromogranin A ELISA kit» (Dako), «Serotonin ELISA» и «5-HIAA ELISA» (IBL).

Уровни секреции ХгА, серотонина и экскреции с мочой 5-ГИУК у больных НЭО достоверно ($p < 0,001$) превышали соответствующие показатели у практически здоровых мужчин и женщин. Для больных НЭО характерна выраженная вариабельность ХгА, максимальные концентрации маркера зафиксированы у больных НЭО желудка (102000 Ед/л) и легкого (29603 Ед/л). В контрольной группе медиана ХгА составила 15,3 Ед/л при вариабельности от 2,8 до 47 Ед/л. При сравнительном анализе по отношению к контролю достоверное повышение медианы ХгА было установлено у больных со всеми типами НЭО: желудка (59,1 Ед/л), поджелудочной железы (135,9 Ед/л), тонкой кишки (183,9 Ед/л), толстой кишки (148,4 Ед/л), легких и средостения (97,4 Ед/л). Оценка диагностической значимости ХгА с учетом порогового уровня 33 Ед/л (при специфичности 98,5%) показала высокую диагностическую чувствительность в общей группе НЭО – 85,8%, которая достигала максимума при НЭО поджелудочной железы (92,8%) и желудка (84,9%). Секреция ХгА коррелировала с распространенностью и биологической активностью опухолевого процесса. Повышение уровня ХгА в плазме крови являлось первым маркером развития рецидива у пациентов с НЭО кишечника и поджелудочной железы после радикального удаления опухоли. Серийное определение маркера отражало прогрессирование, стабилизацию или положительный эффект лечения аналогами соматостатина или химиотерапии. Прослежена связь выживаемости без прогрессирования с уровнями ХгА до начала лечения у 30 больных НЭО на фоне терапии препаратом Афинитор. Уровни ХгА > 100 Ед/л были достоверно ассоциированы с менее благоприятным прогнозом 1-летней выживаемости без прогрессирования, которая составила 13,7% при ХгА > 100 Ед/л и 65,9% – при низких значениях ХгА. Медианы уровней серотонина и 5-ГИУК были максимальными у пациентов с карциноидным синдромом, которые достигали соответственно 1265 нг/мл и 152 мкмоль/сутки, достоверно превышая соответствующие медианы у больных НЭО без признаков карциноидного синдрома (261,7 нг/мл и 42,0 мкмоль/сутки), а также контроля (168 нг/мл и 30,0 мкмоль/сутки).

Полученные данные свидетельствуют о возможности ис-

пользования ХгА, серотонина и 5-ГИУК в целях повышения точности диагностики, оценки распространенности и биологической активности НЭО.

В.В. Делекторская, И.Н. Перегородиев, В.Ю. Бохан. Клинико-морфологические особенности нейроэндокринных новообразований желудка. ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва

Нейроэндокринные новообразования (НЭН) желудка образуют гетерогенную группу опухолей диффузной нейроэндокринной системы, клинико-морфологические характеристики и биологическое поведение которых отличаются значительным разнообразием. Согласно классификации ВОЗ 2010 г. НЭН желудка можно разделить на нейроэндокринные опухоли (НЭО) и нейроэндокринный рак (НЭР). Термин НЭО объединяет высокодифференцированные опухоли низкой и промежуточной степеней злокачественности (НЭО G1 и НЭО G2). Термин НЭР относится к низкодифференцированным новообразованиям высокой степени злокачественности (G3).

В процессе морфологической диагностики НЭО и НЭР желудка наряду с гистологической оценкой опухоли большое значение имеет иммуногистохимическое (ИГХ) исследование, которое дает возможность оценить экспрессию базовых для постановки диагноза нейроэндокринных маркеров (хромогранина А и синаптофизина) и определить уровень пролиферативной активности опухолевых клеток (индекс Ki-67). Кроме того, в последние годы в связи с расширением наших представлений о биологии этих новообразований идет активное изучение новых молекулярных маркеров, ассоциированных с особенностями лекарственной чувствительности опухолей данного типа. К числу таких маркеров относятся рецепторы соматостатина 2 и 5 подтипов (SSTR2 и 5), которые контролируют пролиферативную активность опухолевых клеток и рассматриваются как предполагаемые терапевтические мишени и прогностические факторы НЭО. Взаимосвязь особенностей экспрессии SSTR с клинико-морфологическими параметрами и исходом заболевания при НЭН желудка изучена недостаточно.

Цель исследования – анализ клинико-морфологических и иммунофенотипических особенностей различных вариантов НЭН желудка и их связь с различными уровнями экспрессии SSTR 2 и 5 в опухоли.

В исследование включено 39 больных НЭН желудка, среди которых 22 (56%) мужчины и 17 женщин (44%) в возрасте от 19 до 87 лет. Иммуногистохимическое исследование выполнялось на серийных парафиновых срезах опухолевой ткани с использованием антител к синаптофизину, хромогранину А, CD56, Ki-67 (клон MIB-1), SSTR2A (клон UMB-1) и SSTR5 (клон UMB-4).

Иммуногистохимическое исследование подтвердило диагноз НЭО или НЭР желудка путем выявления во всех исследованных случаях положительной экспрессии хромогранина А, синаптофизина или CD56. Высокий уровень экспрессии SSTR2A (2/3+) в виде интенсивной мембранной реакции наблюдался в 51% случаев (20/39). Позитивная популяция опухолевых клеток варьировала от 15 до 90%. Экспрессия SSTR5 была низкой или негативной (1+/0) в 87% (34/39) наблюдений.

НЭО желудка G2 были обнаружены в 36% (14/39) случаев, при этом индекс пролиферативной активности Ki-67 составлял менее 2% положительно окрашенных ядер опухолевых клеток. При этом, метастазы в лимфатических узлах наблюдались в 5% (2/39) опухолей и отсутствовали случаи неблагоприятного исхода заболевания. Экспрессия SSTR2A составила 0 в 21% (3/14), 1+ – в 14% (2/14), 2+ – в 36% (5/14) и 3+ в 29% (4/14) наблюдений.

НЭО желудка G2 были выявлены в 39% (15/39) случаев, индекс Ki-67 при этом составлял 3–18%. Метастазы в лимфатических узлах и печени были выявлены в 18% (7/39) и 2,5% (1/39) опухолей, соответственно, и случаи смерти от прогрессирования заболевания – в 15% (6/39) наблюдений.

Экспрессия SSTR2A была оценена как 0 в 33% (5/15), 1+ – в 7% (1/15), 2+ – в 7% (1/15) и 3+ – в 53% (8/15) случаев.

НЭР G3 был диагностирован в 26% (10/39) случаев, которые демонстрировали высокий уровень Ki-67, составляющий от 35 до 80%. Гистологический анализ позволил классифицировать опухоли как крупноклеточный тип в 6 и как мелкоклеточный тип – в 4 случаях. Метастазы в лимфатических узлах наблюдались в 8% (3/39), в печени – в 10% (4/39), смерть от заболевания – в 18% (7/39) наблюдений соответственно. Экспрессия SSTR2A составила 0 в 30% (3/10), 1+ – в 20% (2/10), 2+ – в 50% (5/10) и 3+ – в 0% (0/10) случаев.

Изучение взаимосвязи экспрессии SSTR2A и клинко-морфологических особенностей заболевания выявило уменьшение уровня экспрессии рецепторов при глубокой локальной инвазии опухоли в стенку желудка ($p=0,033$), увеличении среднего размера опухоли ($p=0,005$) и высоком индексе Ki-67 ($p=0,027$). Экспрессия рецепторов не была достоверно ассоциирована с исходом заболевания.

Проведенный анализ клинко-морфологических факторов в НЭН желудка позволил продемонстрировать взаимосвязь высокого уровня экспрессии SSTR2A в опухоли с факторами более благоприятного течения заболевания. Кроме того, полученные данные представляют интерес для дальнейшего исследования SSTR2A в опухоли как маркера эффективности лечения НЭР желудка с применением аналогов соматостатина в группе рецептор-позитивных пациентов.

А.А. Иванников, М.М. Давыдов, Н.А. Огнерубов, В.Л. Чанг, Е.С. Герштейн. Сравнительный анализ содержания матричных металлопротеиназ в опухоли и непораженной слизистой у больных раком желудка. ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва; ФГБОУ ВПО «Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина», Тамбов

Фундаментальными свойствами злокачественных опухолей считают способность их к инвазии в окружающие ткани и метастазирование в отдаленные органы. При этом доказано, что опухолевая клетка на всех этапах инвазии и метастазирования находится в тесном контакте с внеклеточным матриксом (ВКМ), поэтому одним из главных молекулярных механизмов, лежащих в основе этих процессов, считается разрушение окружающей базальной мембраны и ВКМ ассоциированными с опухолью матриксными металлопротеиназами (ММП). Роль ММП в прогрессии и метастазировании опухолей впервые была определена в 80-х годах прошлого столетия и в настоящее время выявлено более 20 ММП. Изучение спектра, уровня и соотношения экспрессии различных видов матриксных металлопротеиназ (ММП) может иметь значение не только в прогнозе, но и для разработки эффективного применения новых ингибиторов ММП, специфичных для опухолей определенной локализации.

Цель настоящего исследования – изучение содержания ММП-2, 7, 9 типа в опухоли и непораженной слизистой у больных раком желудка.

Определение уровней ММП проводили в первичной опухоли у 67 больных раком желудка в различных стадиях опухолевого процесса иммуноферментным методом с использованием следующих реактивов: ММП-2 – Quantikine®, «Human/Mouse/Rat MMP-2 (total) ELISA»; ММП-7 – Quantikine®, «Human MMP-7 (total) ELISA»; ММП-9 – Quantikine®, «Human MMP-9 (total) ELISA» (все фирмы R&D systems, США). Статистический анализ результатов проводили на персональном компьютере с использованием программ Statistica 7 и SPSS.

Значения показателей ММП оценивали непараметрическими критериями, а в качестве центральной характеристики содержания ММП-2, 7 и 9 в ткани опухоли и непораженной слизистой желудка указывали медиану. Установлено достоверное превышение содержания ММП-2, 7, 9 в опухоли по сравнению с неизменной слизистой желудка. Определили также частоту превышения содержания показателей ММП в

ткани опухоли по сравнению с неизменной слизистой и величину этого превышения. Так, содержание белков ММП-7, ММП-9, ММП-2 в ткани опухоли достоверно превышало таковое в неизменной слизистой желудка (соответственно медианы 1,1 и 0 нг/мг белка, 150 и 77,9 нг/мг белка, 32,6 и 15,9 нг/мг белка). Частота превышения белка ММП-7 составила 70,1%, белка ММП-9 – 72,1%, белка ММП-2 – 80,6%. Не обнаружены корреляционные зависимости между содержанием изученных показателей в опухоли и неизменной слизистой у больных раком желудка в общей группе. Различия между содержанием изучаемых белков в опухоли и неизменной слизистой были наибольшими по показателю ММП-7. Частота одновременного превышения содержания ММП-2, 7, 9 составила 26 из 61 (42,6%).

С помощью высокочувствительного иммуноферментного анализа нами выявлено достоверно более высокое содержание ММП-2, 7 и 9 в первичной опухоли больных раком желудка по сравнению с непораженной слизистой данного органа. В работе обсуждается связь изученных показателей со степенью инвазии опухоли в стенку желудка, распространенностью опухолевого процесса, степенью дифференцировки опухоли и склонностью к регионарному метастазированию в лимфатические узлы, а также роль исследованных маркеров в патогенетических механизмах рака желудка и его прогнозе. Проводится анализ работ по использованию различных ингибиторов ММП в лечении больных раком желудка наряду с другими лекарственными препаратами.

Э.А. Брага^{1,2}, В.И. Логинов^{1,2}, И.В. Пронина¹, А.М. Бурденный², В.В. Хоконова², А.В. Карпухин¹, Т.П. Казубская³, Н.Е. Кушлинский. Экспрессия и метилирование генов микроРНК в опухолях почки: маркеры диагностики и прогноза. ¹ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Москва; ²ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва; ³ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва

Метилирование CpG-островков промоторных районов генов и взаимодействие микроРНК с матричной РНК на посттранскрипционном уровне относятся к совокупности эпигенетических механизмов, которые осуществляют тонкую и динамичную регуляцию генов и сигнальных путей клетки. Идентификация новых генов, связанных с патогенезом опухолей, и определение механизмов их регуляции открывает новые возможности для выявления современных диагностических и прогностических маркеров, а также мишеней для таргетной терапии.

Цель исследования – идентификация генов микроРНК, экспрессия которых регулируется посредством метилирования, определение их генов-мишеней, а также новых онкомаркеров.

Образцы опухолей и окружающей гистологически неизменной ткани от 50 больных скПР собраны и клинически охарактеризованы. Анализ метилирования выполнен методом бисульфитной конверсии ДНК с последующей метилспецифичной ПЦР. Анализ уровня мРНК и микроРНК выполнен методом ОТ-ПЦР с применением В2М в качестве контроля. Анализ уровня микроРНК выполнен методом ПЦР в реальном времени с применением лицензионных наборов фирмы Applied Biosystems (США); в качестве контроля использовали RNU6B.

Исследовали изменение содержания 20 микроРНК (hsa-mir-219, -203, -148a, -129, -9, -34a, -34b, -34c-3p, -127, -193a-5p, -191, -17, -24-2*, -339-3p, -212, -375, -125b, -124a, -132, -137) в 20 парных образцах опухолей по сравнению с гистологически нормальной тканью почки, взятой у того же пациента. Исследовали метилирование 14 генов микроРНК в 50 парных образцах опухолей по сравнению с гистологически нормальной тканью почки. Показано значимое снижение содержания в 10–350 раз ($p<0,05$) с частотой 50–90% для 9 микроРНК: mir-129, -375, -34b, -124a, -125b, -127, -203, -34c-3p, -9. Статистически значимое ($p<10^{-2}$ по Фишеру) преобладание случаев метилирования в опухолях по сравнению

с гистологически непораженной тканью почки определено для 9 генов микроРНК (*miR-9-1/-3*, *-34b/c*, *-132*, *-124a-1/-2/-3*, *-129-2*, *-137*) в опухолях больных скПКР, гиперметилирование 5 генов микроРНК (*mir-129-2*, *-137*, *-124a-1/-2/-3*) при скПКР показано впервые. Выявлена связь между снижением экспрессии и метилированием для генов 5 микроРНК (*mir-129*, *-34b*, *-124a*, *-34c-3p*, *-9*). Установлены значимые корреляции ($p < 10^{-6}$ по Спирману) между экспрессией генов 3p, исследованной ранее, и метилированием следующих генов микроРНК: *RAR-beta2* (*miR-124a-3*, *-132*); *SEMA3B* (*miR-191*); *RASSF1A* (*miR-129-2*, *-148a*, *-203*, *-193a*, *-124a-3*); *RHOA* (*miR-9-1/-3*); *NKIRAS1* (*miR-129-2*); *USP4* (*miR-124a-1/-2/-3*, *-193a*, *-129-2*, *-137*); *DAG1* (*miR-148a*, *-212*); *CHL1* (*miR-9-3*, *-34b/c*, *-124a-2*). Следует отметить, что ранее также была показана связь между метилированием и дерегуляцией этих генов 3p. В данной работе показана роль метилирования в регуляции экспрессии группы генов микроРНК и опосредованно группы генов хромосомы 3p. Итак, можно заключить, что регуляция экспрессии генов может осуществляться на разных уровнях – с участием метилирования их промоторных районов, путем взаимодействия с микроРНК и, опосредованно, через метилирование генов микроРНК.

На основе данных по метилированию генов микроРНК с применением ROC-анализа составлены системы диагностических маркеров скПКР с чувствительностью и специфичностью до 80%. Определены гены микроРНК, связанные с прогрессией (*miR-9-1*, *-129-2*, *-137*) и метастазированием скПКР (*miR-148a*, *-9-3* и *-129-2*), которые представляют новые маркеры прогноза скПКР.

Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-00828-а.

И.В. Бабкина, Ю.Н. Соловьев, И.В. Булычева, М.Д. Алиев.

Интерферон гамма в сыворотке крови больных саркомой Юинга, пограничными и доброкачественными опухолями костей. ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования – сравнительный иммуноферментный анализ содержания интерферона гамма (ИФН- γ) в сыворотке крови больных саркомой Юинга, пограничными (гигантоклеточная опухоль кости – ГКО) и доброкачественными новообразованиями костей.

Обследовали 60 больных опухолями костей (доброкачественные – 11, пограничные – 22, саркома Юинга – 27) – 38 мужчин и 22 женщины в возрасте 14–75 лет (медиана – 25). Контрольная группа состояла из 14 практически здоровых людей, 8 мужчин и 6 женщин в возрасте от 14 до 30 лет (медиана – 22,5). У всех больных диагноз установлен впервые и подтвержден данными гистологического исследования опухоли. Определение ИФН- γ проводили до начала специфического лечения с использованием реактивов фирмы «Bender MedSystems» (Австрия).

ИФН- γ обнаружили в сыворотке крови всех обследованных практически здоровых людей и больных опухолями костей. Среднее содержание ИФН- γ в сыворотке крови практически здоровых людей было достоверно выше чем у больных и составило $30,7 \pm 3,9$ пг/мл (медиана – 29,4; пределы колебаний 9,7–52,9), у пациентов с саркомой Юинга – $23,7 \pm 1,8$ пг/мл (медиана – 20,8; пределы колебаний 9,7–68,3), однако различия были статистически недостоверны ($p = 0,08$). Среднее содержание ИФН- γ в сыворотке крови больных доброкачественными опухолями костей достоверно не отличалось от показателей практически здоровых людей и составило $31,1 \pm 3,9$ пг/мл (медиана 29,0; пределы колебаний 14,7–61,5), и было достоверно выше, чем у больных пограничными – $18,1 \pm 1,6$ пг/мл (медиана – 15,2; пределы колебаний 9,7–37,9; $p = 0,001$) и саркомой Юинга ($p = 0,01$). В контрольной группе у мужчин уровни цитокина были достоверно ниже, чем у женщин $23,9 \pm 3,8$ пг/мл (медиана – 23,9; пределы колебаний 9,7–43,5) и $39,7 \pm 6,3$ пг/мл (медиана – 44,3; пределы колебаний 13,0–52,9; $p = 0,045$), выявлена обратная корреляционная зависимость между возрастом и содержанием ИФН- γ в сыворотке крови практически здоровых людей ($r = -0,66$; $p = 0,011$).

У больных опухолями костей достоверных различий в содержании ИФН- γ в сыворотке крови с учетом пола и возраста не выявили. Все пациенты с саркомой Юинга были под наблюдением от 6 до 88 месяцев. За период наблюдения 12/44,4% пациентов с саркомой Юинга умерли, 15/55,5% – живы. Показатели общей 3- и 5-летней выживаемости составили 59%. Нами проведен анализ общей выживаемости этих пациентов с учетом содержания ИФН- γ в сыворотке крови. Пациентов разделили на 2 группы: в первую включили 17 больных с уровнями ИФН- γ ниже среднего содержания по группе (24,0 пг/мл), во вторую – 10 больных, у которых ИФН- γ был выше среднего уровня маркера. В первой группе за период наблюдения умерли 7/41,1% больных, живы – 10/58,8%, во второй – умерли 5/50% пациентов, живы – 5/50%. У пациентов первой группы общая 3-летняя выживаемость составила 61%, 5-летняя – 54%. У больных второй группы (с содержанием ИФН- $\gamma > 24,0$ пг/мл) 3-летняя общая выживаемость составила 54%, 5-летняя – 36%.

Среднее содержание ИФН- γ в сыворотке крови практически здоровых людей и больных доброкачественными новообразованиями костей было достоверно выше, чем у пациентов с пограничными опухолями костей и саркомой Юинга. У практически здоровых людей выявлена обратная корреляционная зависимость между возрастом и содержанием ИФН- γ в сыворотке крови. У больных опухолями костей взаимосвязи между возрастом пациентов и содержанием ИФН- γ не выявлено. Общая 3- и 5-летняя выживаемость больных саркомой Юинга при уровнях ИФН- $\gamma > 24$ пг/мл в сыворотке крови была ниже, чем при уровнях ИФН- $\gamma < 24$ пг/мл, однако различия статистически недостоверны ($p = 0,36$). Обсуждается роль ИФН- γ в клиническом течении первичных злокачественных опухолей костей и его связь с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания.

А.А. Насырова¹, Г.А. Олефиренко¹, Л.В. Макарова¹, А.О. Шевченко^{1,2}, Б.Л. Миронков¹, О.П. Шевченко^{1,3}. **Связь уровня антител к кардиолипину со степенью распространенности стенотического поражения коронарного русла трансплантата у реципиентов сердца.** ¹ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва; ²ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва; ³Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

Известно, что повышенный уровень антител к кардиолипину (АКЛ) имеет прогностическое значение в отношении развития болезни коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) – наиболее частой причины, ограничивающей длительность выживания пациентов после трансплантации сердца.

При болезни коронарных артерий пересаженного сердца (или васкулопатии трансплантата) имеют место окклюзионные поражения коронарных сосудов и повышенное тромбообразование. В этих процессах могут принимать участие антитела к фосфолипидам клеточных мембран. Антитела к кардиолипину (АКЛ) связываются с кардиолипином клеток эндотелия, оказывая повреждающее действие на мембраны клеток эндотелия, а также вызывая гиперэкспрессию клеточных молекул адгезии, увеличивая адгезию моноцитов к поверхности эндотелия.

Цель – изучить связь уровней антител к кардиолипину, определяемых в процессе дотрансплантационного обследования, с распространенностью стенотического поражения коронарных сосудов трансплантата сердца.

В исследование включено 25 пациентов с застойной сердечной недостаточностью, в возрасте от 18 до 54 лет, из них 20 мужчин и 5 женщин. У всех пациентов на этапе дотрансплантационного обследования измеряли уровень АКЛ методом твердофазного иммуноферментного анализа. Распространенность стенотического поражения сосудов трансплантата оценивали по результатам коронароангиографиче-

ского исследования, проводимого в разные сроки после ТС. Максимальная длительность наблюдения составила 10 лет.

У 15 реципиентов сердца за время наблюдения после трансплантации не было выявлено коронароангиографических признаков поражения сосудов трансплантата. У этих пациентов средний уровень АКЛ до трансплантации составил $18,5 \pm 4,5$ МЕ/мл. Ни у одного из пациентов этой группы содержание АКЛ в крови не превысило верхней границы референтных значений, которая составляет 23 МЕ/мл. У 4 пациентов с поражением одной ветви коронарных артерий средний уровень АКЛ составил $23 \pm 6,6$ МЕ/мл, и у всех больных был на 10-20% выше верхней границы референтных значений. У 6 пациентов с многососудистым поражением коронарных артерий трансплантата уровень АКЛ составил $38,0 \pm 4,4$ МЕ/мл и был достоверно выше, чем у реципиентов без признаков васкулопатии трансплантата и реципиентов с однососудистым поражением ($p < 0,01$ и $p < 0,01$ соответственно) и у всех пациентов был выше, чем верхняя граница референтных значений более, чем на 21%.

Величина уровня АКЛ в плазме крови пациентов, ожидающих трансплантацию сердца, связана с распространенностью стенотического поражения коронарных сосудов трансплантата у реципиентов сердца.

Измерение уровня АКЛ может быть использовано на этапе дооперационного обследования для прогнозирования отдаленных результатов трансплантации сердца и выявления пациентов с высоким риском развития многососудистого поражения коронарного русла трансплантата сердца.

Р.М. Курабекова¹, О.Е. Гичкун^{1,2}, О.М. Цирульникова^{1,2}, Г.А. Олефиренко¹, И.Е. Цирульникова¹, О.П. Шевченко^{1,2}. Гормон роста и инсулиноподобный фактор роста-1 у детей с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы. ¹ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва; ²Кафедра трансплантологии и искусственных органов, ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Минздрава России, Москва

Для детей с циррозом печени, развившемся в исходе врожденных заболеваний гепатобилиарной системы, характерна задержка физического развития. Регуляция роста у детей осуществляется с помощью гормона роста (ГР), который секретируется передней долей гипофиза, и, кроме регуляции роста, также отвечает за анаболические эффекты у детей и взрослых. Основным посредником анаболических и митогенных эффектов гормона роста является инсулиноподобный фактор роста-1 (ИФР-1), который продуцируется преимущественно гепатоцитами и ингибирует секрецию гормона роста гипофизом по механизму отрицательной обратной связи.

Цель – оценить содержание гормона роста и инсулиноподобного фактора роста-1 в плазме у детей с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы и динамику их концентрации после родственной трансплантации фрагмента печени.

Обследовано 52 ребенка с терминальной стадией цирроза в исходе врожденных заболеваний печени в возрасте от 4 до 36 (14 ± 6) месяцев. После трансплантации левого латерального сектора печени от живого родственного донора все пациенты получали 2- или 3-компонентную иммуносупрессивную терапию, включавшую такролимус. Концентрация гормона роста и инсулиноподобного фактора роста-1 в плазме крови пациентов измеряли методом иммуноферментного анализа.

У детей с циррозом печени средний уровень ИФР-1 составил $21,0 \pm 29,5$ мкг/л и был значительно ниже, чем у здоровых детей того же возраста ($52,2 \pm 26,3$ мкг/л, $p < 0,001$). Концентрация гормона роста у детей с циррозом печени в среднем составила $3,32 \pm 7,7$ нг/мл и была достоверно выше, чем у здоровых детей ($1,16 \pm 1,46$ нг/мл, $p = 0,01$). Сравнительный анализ показал положительную корреляцию уровня ИФР-1, и отрицательную – уровня ГР с тяжестью печеночной недостаточности (индекс PELD, pediatric end-stage liver disease), $r = 0,79$ и $r = -0,66$

соответственно, $p < 0,001$. Уже через месяц после трансплантации печени средний уровень ГР снизился до $1,36 \pm 1,19$ нг/мл, а ИФР-1 – повысился до $100,7 \pm 87,1$ мкг/л. Через год после трансплантации печени состояние детей характеризовалось значительным улучшением антропометрических параметров, при этом концентрация гормона роста в крови ($2,58 \pm 2,3$ нг/мл, $p = 0,5$) была сопоставима с его концентрацией у здоровых детей. Содержание ИФР-1 также нормализовалось ($86,4 \pm 63,8$ мкг/л) и его уровень не имел достоверных отличий от такового у здоровых детей того же возраста.

Цирроз печени у детей сопровождается повышением концентрации гормона роста в плазме крови, связанным с уменьшением продукции инсулиноподобного фактора роста-1 печенью. Трансплантация печени детям с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы сопровождается улучшением антропометрических показателей при восстановлении гормональной системы гормон роста – ИФР-1.

Р.М. Курабекова¹, О.М. Цирульникова^{1,2}, Г.А. Олефиренко¹, И.Е. Цирульникова¹, Ц.Э.Очир-Горяева¹, О.П. Шевченко^{1,2}. Уровень трансформирующего фактора роста β1 при циррозе и трансплантации печени у детей раннего возраста. ¹ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва; ²Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

Трансформирующий фактор роста бета 1 (TGF-β1) является клеточным цитокином с плейотропными свойствами, который играет ключевую роль не только в поддержании иммунного гомеостаза, но и в развитии фиброза печени. Показано, что его концентрация в ткани и в плазме крови изменяется при различных заболеваниях печени. TGF-β1 рассматривается, как перспективный биомаркер в трансплантации печени.

Цель – анализ динамики уровней TGF-β1 у детей-реципиентов при трансплантации печени от родственного донора и оценка связи уровня цитокина с течением посттрансплантационного периода.

Обследовано 127 детей в возрасте от 3 до 72 месяцев (медиана – 8), из них 57 мальчиков и 70 девочек с циррозом печени, развившимся в исходе врожденных заболеваний гепатобилиарной системы (в том числе атрезии и гипоплазии желчевыводящих путей – 91, болезни Байлера – 13, синдрома Аладжиля – 6, синдрома Кароли – 3 и др. – 14). Всем пациентам была проведена трансплантация левого латерального сектора печени от живого родственного донора: 98 пациентам был пересажен фрагмент печени от идентичного или совместимого по системе АВ0 донора, а 29 – от несовместимого донора. Концентрацию TGF-β1 в образцах плазмы крови измеряли методом ИФА.

Средний уровень TGF-β1 в плазме крови детей, страдающих циррозом печени, развившимся в исходе врожденных заболеваний гепатобилиарной системы, составил $5,2 \pm 5,5$ нг/мл. Через месяц после трансплантации печени уровень TGF-β1 в плазме крови реципиентов повысился до $8,1 \pm 9,6$ нг/мл ($p = 0,02$). Спустя год после трансплантации среднее содержание TGF-β1 у реципиентов фрагмента печени составляло $7,7 \pm 8,4$ нг/мл и достоверно ($p = 0,001$) отличалось от уровня до трансплантации. Не выявлено связи уровня TGF-β1 до, через месяц и год после трансплантации с полом, возрастом, диагнозом, а также совместимостью реципиента и донором по системе АВ0. Обнаружена отрицательная корреляция ($r = -0,23$, $p < 0,05$) уровня TGF-β1 до трансплантации с развитием дисфункций трансплантата: у реципиентов с дисфункцией уровень цитокина до трансплантации составил $2,0 \pm 1,3$ нг/мл и был ниже, чем у остальных реципиентов ($5,9 \pm 5,1$ нг/мл, $p = 0,047$).

У детей раннего возраста с циррозом печени в исходе врожденных заболеваний печени и желчевыводящих путей уровень TGF-β1, ниже, чем у здоровых детей того же возраста. После трансплантации фрагмента печени уровень TGF-β1

в плазме крови детей-реципиентов увеличивается и не зависит от пола, возраста, исходного диагноза и совместимости с донором печени по системе АВ0. Низкий уровень цитокина в крови до трансплантации коррелировал с развитием дисфункции трансплантата. Измерение уровня цитокина в крови может иметь значение для прогнозирования развития дисфункции трансплантата.

О.Е. Гичкин^{1,2}, Г.А. Олефиренко¹, Р.М. Курабекова¹, Л.В. Макарова¹, И.Е. Цирульникова¹, О.П. Шевченко^{1,2}. Уровень биомаркеров иммунной системы не различается при родственной печени детям от АВ0 совместимого и несовместимого донора. ¹ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва; ²Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова располагает уникальным для мировой практики опытом пересадки печени детям раннего возраста от донора, несовместимого по группе крови. Установлено, что анализ и контроль динамики концентрации биомаркеров, отражающих активность различных звеньев иммунной системы, позволяет прогнозировать (растворимая форма лиганда CD40, sCD40L) и оценивать течение (неоптерин, НП и растворимая форма CD30, sCD30) посттрансплантационного периода при родственной трансплантации печени (ТП) детям с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы.

Цель – провести сравнительный анализ уровней sCD30 (маркер активации Т-лимфоцитов), sCD40L (костимуляция Т-лимфоцитов), НП (индикатор активации макрофагов) у детей раннего возраста при родственной ТП, от донора несовместимого (АВ0н) и совместимого (АВ0с) по группе крови.

Обследовано 140 детей с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы (в том числе с атрезией и гипоплазией желчевыводящих путей – 109, болезнью Байлера – 13, синдромом Аладжиля – 6, синдромом Кароли – 5 и др. – 7) в возрасте от 3–50 (12 ± 10) месяцев до, через месяц и через год после трансплантации левого латерального сектора печени от живого родственного донора. У 9 пациентов до и/или после ТП обнаруживались антигрупповые антитела в титре более 1/8. Этим пациентам после ТП проводились сеансы плазмафереза; трое – получали ритуксимаб – препарат моноклональных антител к CD20 антигену. Эти пациенты составили группу, условно обозначенную «антиА/В». Все пациенты получали 2- или 3-компонентную иммуносупрессивную терапию, включающую такролимус.

В группах АВ0н (n=20) и АВ0с (n=111) уровни неоптерина, sCD30 и sCD40L не отличались до (p=0,29, p=0,27, p=0,053 соответственно), спустя месяц (p=0,66, p=0,83, p=0,22 соответственно) и через год после трансплантации (p=0,26, p=0,78, p=0,45 соответственно). В группе пациентов «анти-А/В» спустя месяц и год после трансплантации уровень sCD30 достоверно ниже, чем в группе АВ0с и АВ0н (p=0,009, p=0,001 соответственно), что может быть связано с проведением сеансов плазмафереза и приемом ритуксимаба.

У детей после АВ0-несовместимой родственной трансплантации печени уровни иммунных биомаркеров через один месяц и спустя год не превышают таковые после АВ0-совместимой трансплантации, что может служить дополнительным подтверждением безопасности трансплантации печени от несовместимого по группе крови донора.

Л. А. Грачева, Л. А. Харламова, Л. В. Петрова, А. Л. Румянцев, А. Л. Валов, Д. Е. Халикова, А. А. Болозов. Предсуществующие анти-НLA и МlСА антитела, отмена их влияния при трансплантации почки. ФГБУ Российская детская клиническая больница Минздрава Российской Федерации, Москва

Цель исследования – изучить способ отмены влияния предсуществующих анти-НLA и МlСА антител при трансплантации почки.

Задачи исследования:

– установить влияние предсуществующих анти-НLA и МlСА антител с различным процентом панель-реакционных антител (сPRA) на функцию трансплантата аллогенных почек у детей после трансплантации в 1, 2, 6, 12, 18, 24 мес после трансплантации;

– оценить влияние ритуксимаба, добавленного в качестве дополнительного компонента в индукционную фазу терапии, на функцию трансплантата аллогенных почек у пациентов с высоким сPRA.

Было обследовано 120 детей (13,8 ± 0,8 лет – средний возраст) (2009–2013) до трансплантации аллогенной почки и после операции в течение 2 лет. Определяли предсуществующие анти- НLA I, II класса и МlСА антитела мультиплексным анализом (Luminex 200-технология, MFI) с различным сPRA. Для отмены влияния предсуществующих антител в стандартный протокол иммуносупрессии в индукционную фазу терапии добавили ритуксимаб. Скорость клубочковой фильтрации (GFR мл/мин, Schwartz) оценивали у детей с сPRA = 0%; с сPRA ≤ 50%; с сPRA > 50% в 1, 2, 6, 12, 18, 24 мес после трансплантации. Отторжение почек оценивали по уровням: GFR, креатинина (Cr). Биоптаты почек изучались в соответствии с классификацией Banff в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова».

98 пациентов сPRA = 0% составили 1-ю группу. 22 пациента были разделены на 2 группы: сPRA ≤ 50% – 2-я группа; сPRA > 50% – 3-я группа. GFR у детей с сPRA > 50% была хуже, чем у пациентов без предсуществующих анти-НLA антител, начиная с 1 мес после трансплантации аллогенной почки (p ≤ 0,05; Kruskal-Wallis ANOVA). У 4-х детей сPRA > 50% развилось антитело-опосредованное отторжение (ABMR). GFR у пациентов, которых лечили для отмены ABMR была стабильной до 6 мес после лечения (73,45 мл/мин), но затем GFR снижалась (55,4 мл/мин, 45,1 мл/мин, 43,9 мл/мин, 41, 9 мл/мин в 6, 12, 18 и 24 мес соответственно). Терапия ритуксимабом, добавленным в качестве дополнительного компонента в фазу индукции иммуносупрессии у детей с предсуществующими анти-НLA антителами сPRA > 50%, уменьшала частоту Т-клеточно-опосредованного отторжения (TCMR) почек и отменяла ABMR почек (24% TCMR и 10% ABMR в группе пациентов с сPRA > 50% против 9% TCMR в группе пациентов с сPRA > 50%, получающих ритуксимаб в фазу индукции).

Ритуксимаб, добавленный в качестве дополнительного компонента в фазу индукции иммуносупрессии после трансплантации почки, ингибирует иммунопатогенное действие предсуществующих анти- НLA и МlСА антител ингибирует образование и иммунопатогенное действие посттрансплантационных антител. Это одноцентровое исследование, для более подробной информации необходимо рандомизированное многоцентровое исследование.

А.О. Шевченко^{1,2}, Г.А. Олефиренко¹, Е.А. Стаханова¹, А.В. Ефимова¹, О.П. Шевченко^{1,3}. Уровень растворимых рецепторов связывания конечных продуктов гликозилирования (sRAGE) связан с концентрацией плацентарного фактора роста у пациентов с трансплантационным сердцем. ¹ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва; ²ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва; ³Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Минздрава России, Москва

Конечные продукты гликозилирования белков, липидов и нуклеиновых кислот (AGE, advanced glycation end products), связываясь со специфическими рецепторами (RAGE) на поверхности эндотелиальных, гладкомышечных клеток и моноцитов способствуют развитию дисфункции коронарных сосудов, атеросклероза и тромбоза. Уровень растворимой формы (soluble receptor for advanced glycation end products;

sRAGE) отражает экспрессию рецепторов на поверхности клеток. Концентрация sRAGE повышена в крови у пациентов с ишемической болезнью сердца. Роль указанного маркера при повреждении сосудов трансплантата сердца не изучена.

Цель – изучить связь содержания sRAGE с уровнями биомаркеров риска повреждения коронарных сосудов сердца и сердечного трансплантата: плацентарного фактора роста (PIGF) – маркера неангиогенеза, растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L) – маркера тромбообразования и ассоциированного с беременностью белка А (PAPP-A) – регулятора биодоступности инсулиноподобного фактора роста, у больных сердечной недостаточностью и пациентов с трансплантированным сердцем.

Под наблюдением находилось 83 пациента, в том числе 74 мужчины и 9 женщин (средний возраст 42 ± 14), с терминальной стадией сердечной недостаточности (III–IV функциональный класс по NYHA). Уровни биомаркеров измеряли методом иммуноферментного анализа до и через год после трансплантации сердца. Все пациенты после трансплантации сердца получали 3-х компонентную иммуносупрессивную терапию, включавшую такролимус, кортикостероиды и микрофенолата мофетил.

Средний уровень sRAGE в плазме крови пациентов с застойной сердечной недостаточностью был достоверно выше ($1232,9 \pm 1196,2$ пкг/мл), чем у здоровых лиц (791 ± 413 пкг/мл,

$p=0,04$) и не коррелировал с возрастом и полом пациентов ($p \geq 0,05$). Уровни PIGF, sCD40L и PAPP-A, измеренные на этапе дотрансплантационного обследования, составили соответственно $22,2 \pm 20,1$ пкг/мл, $4,0 \pm 4,0$ нг/мл и $60,3 \pm 46,1$ мМЕ/л и имели прогностическое значение в отношении развития посттрансплантационных осложнений. Частота сердечно-сосудистых осложнений после трансплантации достоверно выше у пациентов с исходными уровнями PAPP-A ≥ 11 мМЕ/л (RR 4,27; 95% CI 1,61 до 11,31; $p=0,0006$), sCD40L $\geq 1,6$ нг/мл (RR 2,08; 95% CI 1,05 до 4,11; $p=0,003$) и PIGF ≥ 12 пкг/мл (RR 2,43; 95% CI 1,019 до 4,44; $p=0,02$). Через год после трансплантации среднее содержание sRAGE в плазме крови реципиентов составило $795,3 \pm 613,6$ пкг/мл, было достоверно ниже, чем до операции ($p=0,003$) и не отличалось от такового у здоровых лиц. Уровень sRAGE в крови реципиентов не коррелировал с содержанием sCD40L и PAPP-A; обнаружена положительная корреляция уровней sRAGE и PIGF ($23,1 \pm 16,8$ пкг/мл), $r=0,39$ ($p < 0,05$).

Содержание sRAGE в плазме крови пациентов с застойной сердечной недостаточностью выше, чем у здоровых лиц и не коррелирует с уровнем маркеров васкулопатии трансплантата. После трансплантации сердца повышенный уровень sRAGE снижается и его содержание положительно коррелирует с уровнем PIGF.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

С.Н. Щербо, Д.С. Щербо. Микробиом и метагеном в лабораторной и персонализированной медицине. ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, кафедра клинической лабораторной диагностики ФДПО, г. Москва

В современной медицине сравнение соотношений микроорганизмов людей в норме и при различных заболеваниях, позволяет установить их влияние на развитие патологических процессов. Понятия микробиом и метагеном были введены в конце прошлого века. Осуществлены ряд международных проектов в области микробиологии с применением традиционных и современных молекулярно-генетических методов выявления микроорганизмов: гибридизационные, амплификационные методы, а также секвенирование нуклеиновых кислот. Анализ литературных данных по изучению индивидуального состояния микробиоты различных органов и тканей человеческого организма, позволяет считать микробиоту и метагеном объектами исследования в персонализированной медицине. Так, по составу микрофлоры желудочно-кишечного тракта люди могут быть разделены на три энтеротипа. Причины разделения на энтеротипы множество: состав микрофлоры может определяться той же группой крови или метаболическими процессами, присущими индивидууму, или теми бактериями, что первыми попали в пищеварительный тракт новорожденного. Попытки каталогизировать микрофлору кишечника, выявить взаимодействие бактерий между собой предпринимаются для того, чтобы выяснить, какая диета показана человеку, к каким болезням он предрасположен и как отреагирует на прием того или иного лекарственного препарата. Прослеживается связь врожденного иммунитета человека и симбиотических взаимоотношений с микроорганизмами, которые установили взаимовыгодные отношения с хозяевами. Равновесие между потенциально вредными и полезными бактериями в кишечнике поддерживает баланс между здоровьем и болезнью. При нарушении баланса, например, за счет изменений в диете, из-за стресса или приема антибиотиков, иммунные реакции в кишечнике также претерпевают изменения. Указанные взаимоотношения микробов и организма-носителя, получившие название дисбиоз или дисбактериоз, были связаны с синдромом раз-

драженного кишечника и раком кишечника, а также с тучностью и диабетом.

В последние годы появились доказательства того, что бактерии присутствуют в амниотической жидкости даже у здоровых новорожденных, но число и разнообразие микроорганизмов достаточно низкое, а заселение микрофлоры происходит поэтапно. В многочисленных исследованиях проанализирован состав микробиома полости рта, желудка, кишечника и кожи, микробиоциноз которых является высокоорганизованной экосистемой, оказывающей влияние путем качественных и количественных сдвигов в различных жизненных условиях (здоровье/болезнь). Кишечник человека заселяют грамположительные, грамотрицательные, аэробные и анаэробные микроорганизмы, которые заключены в биопленку Микрофлора кишечника является сложной метаболической системой симбиотного пищеварения, способной активировать реакции врожденного иммунитета. Кожа человека обладает сложной и многогранной микробной флорой, заселяющей поверхность и глубинные слои, которая сформировалась в ходе длительного взаимодействия между организмом человека и бактериями из окружающей среды. Видовой состав микробных популяций на различных участках кожи может существенно изменяться в зависимости от температуры, влажности, pH, а также пола, генотипа и иммунного статуса хозяина, в том числе активности, с которой используются различными косметическими средствами.

Е.С. Герштейн, Ю.С. Тимофеев, А.А. Зуев, Е.А. Короткова, Е.А. Тен, И.В. Булычева, Ю.Н. Соловьев, М.Д. Алиев. Компоненты системы RANK/RANKL/OPG в сыворотке крови больных первичными опухолями костей. ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва

Система RANK/RANKL/OPG включает рецептор активатора ядерного транскрипционного фактора NF-κB (RANK), его лиганд RANKL и природный блокатор лиганд-рецепторного взаимодействия остеопротегерин (OPG). Присоединение RANKL к рецептору стимулирует остеокластогенез, способствуя резорбции костной ткани, тогда как OPG связывает RANKL и ингибирует пролиферацию и дифференцировку остеокластов, предотвращая костную резорбцию.