|  |
| --- |
| ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  ЛУГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ПЕДИАТРИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  ЧИТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ  УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ЛЕСОТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ |
| МАТЕРИАЛЫ ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНОЙ МОЛОДЕЖНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ  **«МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА:**  **НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ»**  C:\Users\Admin\Desktop\бх турнир и конф по молек мед\картиночки мол мед\4.jpg |
| **17 ФЕВРАЛЯ 2017 ГОДА**  **ОРЕНБУРГ** |

**УДК 616-056.7-07-08:575:577.2] (063)**

**ББК 52.54я43**

**М 75**

**Редакционная коллегия:**

**А.А**. **Никоноров** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии;

**Е.Н. Лебедева** – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии Оренбургского государственного медицинского университета;

**С.Н. Афонина –** кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии Оренбургского государственного медицинского университета;

**Е.В. Попова** - кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии Оренбургского государственного медицинского университета;

**Л.В. Гирина** – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры биологической химии Оренбургского государственного медицинского университета;

**Н.В. Винокурова** – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры биологической химии Оренбургского государственного медицинского университета;

**И.В. Мачнева** - ассистент кафедры биологической химии Оренбургского государственного медицинского университета.

**Л.В. Голинская** – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии Оренбургского государственного медицинского университета.

Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием «Молекулярная медицина: настоящее и будущее» - Оренбург, ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, 2017. – 342 с.

**Приветствие участникам конференции от декана факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова профессора Всеволода Арсеньевича Ткачука**

**Уважаемые организаторы и участники научной молодежной конференции в Оренбургском государственном медицинском университете!**

**Примите мои искренние поздравления с очень своевременной тематикой конференции и столь широким диапазоном интересов в области молекулярной биологии и медицины! Я очень дорожу нашей давней дружбой с Вячеславом Петровичем Твердохлибом, профессором А.А. Никоноровым и его коллективом. Знаю, что внимание к студенческим научным поискам и создало в течение последних 30 лет известную школу оренбургских биохимиков, патофизиологов, клиницистов, развивших теорию адаптационной терапии и профилактики, создавших первые в стране лечебные комплексы «Урал-1», «Горный воздух», существенно обогатившие практику широкой витаминизации всех слоев населения Оренбуржья, работников промышленных предприятий. И очень рад тому, что эта работа выполняется с активным участием сотрудников Университета и его студентов.**

****

****

**Всеволод Арсеньевич Ткачук**

**Академик РАМН и РАН. Декан Факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова. Директор Института регенеративной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова и действующий президент Национального общества регенеративной медицины**

**Организаторы:**

Кафедра биологической химии

ФГБОУ ВО «Оребургский государственный медицинский университет» Минздрава России

СНО ОрГМУ им. Ф.М. Лазаренко

***Участники конференции:***

* + Кафедра биологии ОрГМУ
  + Кафедра биофизики и математики ОрГМУ
  + Кафедра истории Отечества
  + Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии ОрГМУ
  + Кафедра неврологии и медицинской генетики ОрГМУ
  + Кафедра общественного здоровья и здравоохранения № 1 ОрГМУ
  + Кафедра общей и коммунальной гигиены ОрГМУ
  + Кафедра судебной медицины и правоведения ОрГМУ
  + Кафедра факультетской педиатрии и эндокринологии ОрГМУ
  + Кафедра фармакологии ОрГМУ
  + Кафедра философии ОрГМУ
  + Кафедра химии и фармацевтической химии ОрГМУ
  + Кафедра химии и биотехнологий ОГАУ
  + Кафедра химии и методики преподавания химии ОГПУ
  + Библиотека ОрГМУ
  + Кафедра медицинской химии **ЛУГАНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**
  + Кафедра биологической химии **САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО ПЕДИАТРИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**
  + Кафедра акушерства и гинекологии **БАШКИРСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**
  + Кафедра лабораторной диагностики **ЧИТИНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ**
  + Кафедра ландшафтного строительства, кафедра химии **УРАЛЬСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ЛЕСОТЕХНИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**
  + Кафедра биологической химии **ЮЖНО-УРАЛЬСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**
  + Кафедра основ агрономии **БЕЛОРУССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АГРАРНО-ТЕХНИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**
  + Кафедра медицинской биохимии **КАЗАНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА – ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА: БУДУЩЕЕ РОЖДАЕТСЯ СЕГОДНЯ**

*Овчинникова Т.А .*

*Научный руководитель: к.б.н., доцент Е.Н. Лебедева*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Со времен становления медицинской науки параллельно с учениями о терапии и хирургии развивались представления о профилактике. Врачи всех эпох мечтали найти способы для предупреждения развития заболеваний или обнаружения их на самых ранних этапах, позволяющие без труда предотвратить наступление беды. «Противодействуй болезни вначале; поздно думать о лекарствах, когда болезнь укоренилась от долгого промедления», – говорил Овидий. Действительно, до недавнего времени не существовало надежных и высокоинформативных методов выявления донозологических (доклинических) признаков нарушения здоровья, тем более – генетической предрасположенности к тем или иным болезням. Кардинальный перелом во взглядах на роль и место медицины в структуре охраны здоровья произошел на рубеже 1980–1990–х гг. в связи с внедрением в практику нанотехнологий, позволяющих проникать внутрь биоструктур и создавать в них условия для визуализации очагов поражения, скрытых от глаз врача–клинициста. Это утвердило ученых в представлении о том, что первыми признаками болезни являются не клинические симптомы, а, напротив, постепенно формирующийся прогрессирующий патологический процесс, который может годами оставаться «молчащим». Сегодня ни у врачей, ни у пациентов не осталось сомнений, что именно от того, насколько рано удастся обнаружить патологический процесс, будет зависеть и успех лечения: чем скорее поставлен диагноз, тем выше вероятность благоприятного прогноза и тем ниже риск хронизации болезни и инвалидизации пациента.

Медицина сегодня стоит на пороге революционных перемен. Стремительный прогресс фундаментальных наук в последние десятилетия позволил, наконец, приблизиться к заветной мечте всех поколений врачей – возможности выявления патологических процессов, ответственных за развитие конкретного заболевания у конкретного индивидуума, на начальной стадии. Следующим шагом должно стать таргетное (точечное) вмешательство в процесс, способное прервать его у данного пациента. Эти ключевые принципы объединило в себе новое направление в структуре национальных систем здравоохранения, стремительно развивающееся во многих странах мира: превентивная, предиктивная и персонифицированная медицина (ПППМ) Термин «предиктивная» происходит от латинского глагола «praedico», что означает «говорить наперед, предупреждать». Таким образом, задачей предиктивной медицины является не совершенствование методов лечения уже существующих заболеваний, а, по известному определению французского ученого, лауреата Нобелевской премии Дж. Доссэ, «предсказание вероятности их возникновения».

Оценить потенциальный индивидуальный риск возникновения определенной болезни можно посредством широко известного, но еще не являющегося стандартом медицинской помощи генетического тестирования. Однако уже на следующем этапе – экспрессии продуктов тех или иных генетических полиморфизмов, ответственных за появление болезни, – с катастрофической скоростью изменяется спектр разнообразных молекул, секретируемых клетками пораженного органа или системы, – так называемых «биомаркеров». Грамотное использование этой информации даст врачу уникальную возможность следить за динамикой патологического процесса, определять прогноз и терапевтические мишени, актуальные для конкретного пациента.

Хорошо известно, что прогрессирующие изменения в содержании таких биомаркеров, как холестерин, липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП) и С–реактивный белок (СРБ) могут определять индивидуальные риски развития атеросклероза и сердечно–сосудистых болезней, а мероприятия, направленные на нормализацию вышеупомянутых показателей, способны снижать риски инсультов и инфарктов во много раз. Это – распространенный пример того, что стойкие изменения в содержании молекул–биомаркеров являются индикатором начинающегося неблагополучия.

Именно поэтому следующим за генетическим тестированием (генотипированием) шагом должно стать фенотипирование, или анализ изменений в содержании биомаркерных молекул. Очевидно, что именно этот анализ позволяет выявить не наличие предрасположенности к болезни, а реально начавшийся патологический процесс в его доклинической стадии. А вовремя принятые меры профилактики зачастую позволяют отвести угрозу болезни. Эти меры и составляют ядро превенции – второго «кита» ПППМ. Известный французский философ, математик и физик Б. Паскаль говорил: «Предвидеть – значит управлять». В свете концепции ПППМ эта фраза приобретает новый смысл для врача и больного: «Предвидеть – значит не допустить!».

Термин «персонифицированная медицина» (personalized medicine) впервые появился в названии монографии американского исследователя К. Джейна. Ей предшествовал ряд работ, среди которых особо следует упомянуть исследования Л. Голланда (США), предложившего необычный аналитический протокол с названием «Индивидуальная (ориентированная на пациента) диагностика и лечение», согласно которому составление многофакторной базы данных на каждого пациента предполагает учет его индивидуальных биологических и психосоциальных особенностей. Таким образом, ПППМ – это альтернативная идеология и методология современного здравоохранения, суть которой заключается в персонифицированном управлении состоянием здоровья и резервами организма ради сохранения благополучия пациента, а не «ремонта» вышедшего из строя организма.

**НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ**

*Бикмаева Ю.А., Ахметгареева А.А.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В последние годы ученые многих стран активно обсуждают концепцию персонифицированной, или предикативной (предупредительной) медицины – она, по прогнозам, способна существенно повысить качество лечения. Раннее выявление рисков возникновения того или иного заболевания у конкретного пациента, оптимальная для него врачебная помощь уже в ближайшей перспективе могут стать реальностью.

Персонификация лечения является одной из самых актуальных проблем медицинской практики. Под персонификацией терапевтического лечения следует понимать назначение лучше других подходящего пациенту лекарственного препарата или метода лечения, основанное на современной научной медицинской информации. Персонифицированный подход широко используется в различных областях медицины. Он постулируется как основной при переливании крови, трансплантации органов и тканей, клеточной терапии, так как обеспечивает безопасность этих медицинских технологий. Однако в сложившейся терапевтической практике преимущественно используется патогенетический принцип назначения лекарственных средств и физических методов лечения, учитывающий особенности течения патологического процесса в рамках конкретной нозологической формы.

Персонификация лечения является одной из самых актуальных проблем медицинской практики. Под персонификацией терапевтического лечения следует понимать назначение лучше других подходящего пациенту лекарственного препарата или метода лечения, основанное на современной научной медицинской информации.

Персонифицированный подход широко используется в различных областях медицины. Он постулируется как основной при переливании крови, трансплантации органов и тканей, клеточной терапии, так как обеспечивает безопасность этих медицинских технологий. Однако в сложившейся терапевтической практике преимущественно используется патогенетический принцип назначения лекарственных средств и физических методов лечения, учитывающий особенности течения патологического процесса в рамках конкретной нозологической формы.

При сочетанной патологии, широко представленной в клинике внутренних болезней, такую методологию лечения нельзя признать адекватной, так как она требует назначения разных фармакологических препаратов и физических методов при ограниченной возможности учета вариантов их взаимодействия. Кроме того, в условиях полипрагмазии теряется принцип персонализированного лечения и реабилитации.

Современные подходы к персонификации терапии связаны также с выбором тактики лечения в зависимости от сопутствующей патологии, о чем свидетельствуют данные 6-го доклада экспертов Объединенного национального комитета США по артериальной гипергензии. Наличие у пациента сопутствующих заболеваний диктует необходимость выбора одних групп лекарственных препаратов и отказа от других. Новый этап оптимизации лечения терапевтических больных связан с внедрением в клиническую практику генетических исследований, в основе которых лежат технологии молекулярной диагностики. В настоящее время интенсивно разрабатываются и внедряются такие технологии, как генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов, определение гаплотииа, исследование протеомикса, изучение экспрессии генов с помощью технологии биочип / микроэррей. Вследствие разработки указанных технологий сформировались новые направления в фармакологии: фармакогенетика, фармакогеномикаи фармакопротеомика.

Предметом изучения фармакогенетики выступает генетическая изменчивость пациентов, определяющая специфическое лечение. Особый акцент делается на изучении вариаций в гене, предположительно ответственном за эффект лекарственного препарата. Предмет изучения фармакогеномики изменчивость лекарств. При этом оценка всего открытия, поиска и разработки новых лекарственных препаратов. Индивидуализированная терапия может строиться на различиях в белковой -экспрессии, а не только на генотипическом полиморфизме. Фармакопротеомика, основанная на стратификации пациентов на базе анализа белков, призвана помочь найти соответствие специфической терапии специфическому маркеру в подгруппе пациентов. Кроме того, фармакопротеомика призвана увеличить предсказуемость результатов ранних этапов разработки лекарственного средства и выявить неинвазивные биомаркеры токсичности или эффективности препарата. Новые направления фармакологии составили основу интенсивно развиваемой в последние годы за рубежом персонифицированной медицины, цель которой состоит в том, чтобы проектировать лечение пациента согласно его генотипу. Более широкий термин «интегративиая медицина» включает в себя разработку на основании геномных данных персонифицированных лекарств, оценку предрасположенности к заболеваниям и к лекарственным препаратам, превентивную медицину, комбинацию диагностики и лечения, мониторинг терапии.

Благодаря мощной финансовой поддержке фармацевтических компаний ожидалось, что персонифицированная медицина станет неотъемлемой частью медицинской практики к 2010 г. Однако на пути реализации этой задачи возникли существенные проблемы. Одна из них состоит в ограниченном применении фармакогенетических методик. Еще одна проблема заключается в том, что инициатива развития интегративной медицины, продвигаемая биофармацевтической отраслью, пока не находит должной поддержки правительств и органов здравоохранения. Кроме того, потребуется обработка огромных массивов данных при ограниченных человеческих ресурсах в области биоинформатики, как и большая работа по просвещению работников здравоохранения и пациентов в вопросах преимуществ и ограничений персонализированной медицины. Однако самая серьезная проблема состоит в том, что персонализированная медицина, по мнению разработчиков этого направления, невозможна в развивающихся странах, а значит, и в странах с незначительным финансированием здравоохранения.  
Вероятно, технологии молекулярной диагностики будут определять успехи терапевтической практики в ближайшие годы. Однако возможность широкого внедрения всего комплекса этих технологий в короткие сроки сомнительна.  
Исходя из реалий сегодняшнего дня нам представляется рациональным иной методологический подход к понятию «персонифицированная медицина», более широкий по сравнению с используемым сейчас в фармакотерапии. Во-первых, персонификация лечения не должна ограничиваться только лекарственной терапией.

Следует учитывать возможности дифференцированного применения и нелекарственных, в частности физических, методов лечения. Во-вторых, персонифицированная медицина должна строиться на комплексном исследовании не только генетических, но и фенотипических характеристик пациента. В частности, у кардиологических больных основными фенотипическими признаками являются показатели, отражающие метаболический и гемодинамический профиль пациента.  
Кроме того, при персонализации лечения необходимо учитывать такие клинические особенности патологии, как субъективно неманифесгированные и ко-морбидные формы заболеваний. Коморбидная патология включает в себя заболевания,патогенетически связанные с основным и сопутствующие, влияющие на подходы к лечению основного заболевания. При проведении исследований по персонализации лечения методологически важно выделить адекватные группы контроля, в том числе плацебо-контроля.

Литература

1. Горбунова B.H. Молекулярные основы медицинской генетики. СПб., 1999. 212
2. Куишковский M.C. Гипертоническая болезнь (эссенцнальная гипертензия): Причины, механизмы, клиника, лечение. СПб., 1995. - 311с.
3. Чазов Е. И. Проблемы лечения ишемической болезни сердца // Терапевт, арх. 2000. Т. 72. № 9. С. 5−9.
4. Шанин В. Ю. Стрельников А.А., Коровин А. Е., Крысюк О Б. Патофизиологические основы реабилитации участников войн // Медицинская реабилитация раненых и больных: Руководство для врачей. Под ред. Ю. Н. Шанина. СПб., 1997. - С. 82- 116.
5. Шестой доклад ОНК,Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure // Arch. Intern. Med. 1997. Vol. 157. N 21. P. 2413 -2446.
6. Herrmann S.M., Paul М. Studying genotype-phenotype relationships: cardiovascular disease as an example // J. Mol. Med. 2002. Vol. 123. P. 1673−1671.
7. Jain K.K. Personalized Medicine // Trends Mol. Med. 2002. Vol. 4. N 6. P. 548 558.

**ИСТОРИЯ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ БИОФИЗИКИ**

*Альшеева З.Т, Анохина А.В.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра Общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Биофизика – это наука, изучающая физические и физико-химические процессы, протекающие в биосистемах на разных уровнях организации и являющиеся основой физиологических актов. Её возникновение обусловлено интенсивным развитием блока естественных наук, испытывающих потребность в раскрытии физической и физико-химической сущности живых систем. Поэтому становление биофизики можно оценивать как прогресс в физике, тесно связанный с достижениями математики, химии и биологии.

Первым, кто сказал, что живые объекты подчиняются тем же законам и содержат те же частицы материи, что и неживые, был греческий философ Эпикур (примерно 300 лет до нашей эры). Свою историю биофизика начинает вести с фундаментального трактата Цицерона (II-III век н.э.) «Физиология». Это название происходит от слова физика – так тогда называли науку о природе. Науку же о живой природе Цицерон назвал физиологией. Такое название уже свидетельствует о большой роли физики в формировании науки о жизни.

Изучение физических свойств биологических объектов началось в XVII веке – с тех пор, когда были заложены основы первого раздела физики – механики. В биологии в то время наиболее интенсивное развитие получила анатомия. В этот период опубликованы работы У. Гарвея (1628) «Кровообращение»; Р. Декарта (1637) «Диоптика»; Дж. Борелли (1680) «О движении животных», в которых были представлены основы биомеханики. В 1660 году А. Левенгук изобрел микроскоп, который сразу же нашел широчайшее применение в биологических исследованиях, став, по сути, первым истинно биофизическим методом изучения живой природы. Серьезный шаг в развитии биофизики связан с открытием Л. Гальвани биологического электричества (1791). Он обнаружил феномен подергивания лягушачьих лапок в ответ на электрический разряд и предположил главную роль электричества в нервно-мышечной передаче.

В XIX в. развитие биологии сопровождалось обогащением знаний о физико-химических свойствах биологических структур и процессов. Огромное значение имело создание электролитической теории растворов С. Аррениуса, ионной теории биоэлектрических явлений В. Нернста. Были получены основные представления о природе и роли потенциалов действия в механизме возникновения и распространения возбуждения по нерву (Г. Гельмгольц, Э. Дюбуа-Реймон, Ю. Бернштейн, Германия); значение осмотических и электрических явлений в жизни клеток и тканей было выяснено благодаря работам Ж. Лёба (США), В. Нернста и Р. Гербера (Германия). Всё это позволило Дюбуа-Реймону сделать вывод о том, что в материальных частицах организмов не обнаруживается никаких новых сил, которые не могли бы действовать вне их. Такая принципиальная позиция положила конец объяснениям процессов жизнедеятельности действиями каких-то особых «живых факторов, не поддающихся физическим измерениям».

Этапом в развитии биофизики было рассмотрение с физико-химической точки зрения реакций, возникающих в живых клетках при действии различных фармакологических и токсических веществ, в частности наркотических. Овертон (1899) на модели масло — вода установил, что наркотическое действие вещества тем больше, чем выше его растворимость в липидах. Эта модель привела к построению Овертоном первой биофизической теории наркоза. Другая теория (теория Траубе) выдвигала в качестве действующего фактора капиллярно-активные свойства наркотиков. По этой теории должна быть зависимость между поверхностным натяжением и наркотической активностью. Эти исследования были вызваны необходимостью познания механизмов действия отравляющих веществ, примененных в первой мировой войне, и нахождения способов защиты от них.

Исследования Шаде, создавшего свою школу в медицинской биофизике, привели к созданию теории воспалительного процесса. Воспаление рассматривалось им как активный процесс набухания коллоидов соединительной ткани под действием повышенной кислотности среды с последующим изменением их ионного состава и электрического заряда («Физическая химия во внутренней медицине», 1911). Эта теория была дополнена исследованиями Д.Абрамсона, который объяснял миграцию лейкоцитов из кровеносного русла в воспалительный очаг с позиций активного электротаксиса. Особую роль сыграло открытие осмотического давления белков крови при поддержании осмотического равновесия в кровяном русле. Оно вызвало существенный прогресс в создании искусственных кровезаменителей и нашло практическое применение при создании кровезаменителей в первую мировую войну.

Значительный вклад в развитие биофизики внесли отечественные учёные. И.М. Сеченов исследовал закономерности растворения газов в крови, биомеханику движений. К.А. Тимирязев определил фотосинтетическую активность отдельных участков солнечного спектра, установив закономерности, связывающие скорость процесса фотосинтеза и поглощение хлорофиллом в листьях света разного спектрального состава. Лазареву принадлежит заслуга в развитии ионной теории возбуждения (1916), изучении кинетики фотохимических реакций. Он создал первую советскую школу биофизиков, объединил вокруг себя большую группу крупных учёных (в их число входили С.И. Вавилов, С.В. Кравков, В.В. Шулейкин, С.В. Дерягин и др.). В 1919 им был создан в Москве Институт биологической физики Наркомздрава, где велись работы по ионной теории возбуждения, изучению кинетики реакций, идущих под действием света, исследовались спектры поглощения и флуоресценции биологических объектов, а также процессы первичного воздействия на организм различных факторов внешней среды. В конце 20-х - середине 30-х годов русский генетик Тимофеев-Ресовский, немецким биофизик Циммер и физик-теоретик Дельбрюк изучали закономерности возникновения мутаций под действием рентгеновских лучей и других жестких излучений. Главная идея состояла в том, что квант излучения или частица ионизируют атомы внутриклеточного вещества, при этом возникают мутации генов («Классическая зеленая тетрадь», 1935г).

Во 2-й половине XX века успехи в биофизике непосредственно связаны с достижениями в области физики и химии, с развитием и совершенствованием методов исследований и теоретических подходов, применением электронно-вычислительной техники. С развитием биофизики в биологию проникли такие точные экспериментальные методы исследований как спектральные, изотопные, дифракционные, радиоспектроскопические.

Таким образом, важное значение для развития биологии и медицины имеют полученные доказательства закона сохранения энергии (первый закон термодинамики), утверждение принципов химической кинетики как основы динамического поведения биологических систем, концепция открытых систем и второго закона термодинамики в биологических системах, наконец, вывод об отсутствии каких-либо особых «живых» форм энергии. Все это способствовало формированию ведущего современного направления биологической науки – физико-химической биологии, в котором биофизика занимает важное место.

Литература

1. И.В. Ковалев, И.В. Петрова, Л.В. Капилевич, А.В. Носарев, Е.Ю. Дьякова. Лекции по биофизике: Учебно-методическоепособие/под редакцией проф. Баскакова М.Б.– Томск, 2007. - 175 с.
2. Тимофеев-Ресовский Н. В. Воспоминания: Истории, рассказанные им самим, с письмами, фотографиями и документами / сост. и ред. Дубровина Н. - М.: Согласие, 2000., 880 с. - 120 с. ил.
3. http://vivovoco.astronet.ru/VV/PAPERS/NATURE/GENECODE.HTM
4. http://бмэ.орг/index.php/БИОФИЗИКА
5. http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0162:article

**ИСТОРИКО-МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ**

*Султанова Н.М., Шукумова Ж.Б.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра: общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Современное человеческое общество живет и продолжает развиваться, активно используя достижения науки и техники, и практически немыслимо остановиться на этом пути или вернуться назад, отказавшись от использования знаний об окружающем мире, которыми человечество уже обладает. Накоплением этих знаний, поиском закономерностей в них и их применением на практике занимается наука.

В современной науке на границе химии и биологии возникло множество новых наук, которые отличаются используемыми методами, целями и объектами изучения. Одной из таких наук стала физико-химическая биология.

Французский физиолог Франсуа Мажанди (1783-1855) впервые показал огромное значение белка в жизни организмов (кормил собак пищей, в которой отсутствовал белок: сахар, оливковое масло и вода).

Немецкий химик Юстус Либих (1803-1873) детально разработал учение о полноценности пищи и полагал, что углеводы и жиры служат топливом для организма. Возник вопрос: равно ли количественно тепло, полученной организмом от такого “топлива”, теплу, получаемому при сжигании углеводов и жиров вне организма.

Макс Рубнер (1854-1932) экспериментально доказал приложимость закона сохранения энергии к организму животного. К 1894 году он установил, что энергия, выделяемая пищевыми продуктами в организме, точно равна энергии, которую можно получить при сжигании этих продуктов вне организма.

Эти исследования нанесли серьезный удар по витализму. Еще в XVIII веке химики обнаружили, что реакцию иногда можно ускорить введением веществ, которые, по всей видимости, не принимают в ней участия. Это явление в 1835 году Берцелиус назвал катализом.

Казалось вероятным, что химические процессы в живых тканях могут протекать при очень мягких условиях, потому что в тканях присутствуют различные катализаторы, которых не существует в неживой природе.

В 1833 году французский химик Ансельм Пэйян (1795-1871) экстрагировал из проросшего ячменя вещество, которое расщепляло крахмал до сахара. Он назвал это вещество диастазой. Диастаза и другие подобные вещества были названы ферментами. Во второй половине XIX века стало ясно, что ферменты являются катализаторами.

В 1897 году немецкий химик Эдуард Бухнер (1860-1917) доказал, что ферменты могут с успехом действовать и вне клеток. Это было серьезным ударом по витализму, однако это не было его окончательным разгромом. Предстояло еще многое узнать о молекулах белка.

На протяжении прошлого столетия ферменты считались таинственными веществами, которые выявлялись лишь по их действию. В 1926 году американский биохимик Джеймс Самнер (1887-1955) выделил фермент, катализирующий реакцию расщепления мочевины на аммиак и углекислый газ (уреазу) и доказал его белковую природу. В 1930-1935 годах подобные работы были проделаны в отношении пепсина (желудок), трипсина и химотрипсина (поджелудочная железа).

Особенно значительный вклад в изучение белков внесли шведский химик Теодор Сведберг, американский химик Лайнус Полинг, английские биохимики Макс Фердинанд Перутц, Джон Каудери Кэндрю, Фредерик Сэнгер.

К середине XX века секреты молекулы белка были раскрыты. Но вдруг оказалось, что химическая основа жизни вовсе не белок, а другое вещество. В 1944 году американский бактериолог Освальд Теодор Эвери с сотрудниками доказал, что генетической функцией обладают не белки, а нуклеиновые кислоты. С этого момента началось энергичное изучение нуклеиновых кислот. В 1953 году структура молекул нуклеиновых кислот была расшифрована (работа английского биохимика Фрэнсиса Крика и американского биохимика Джеймса Уотсона).

Открытие Крика и Уотсона положило начало бурному развитию молекулярной биологии, или, как ее теперь чаще называют, физико-химической биологии. К главным достижениям этой науки относятся расшифровка генетического кода и открытие механизмов биосинтеза белка, искусственный синтез гена и пересадка генов. В результате родилась генетическая инженерия, успехи которой вызывают как надежды на управление наследственностью, так и опасения, связанные с возможностью создания особо опасного биологического оружия.

В развитии биотехнологии выделяют следующие периоды:

1. Эмпирическая биотехнология неотделима от цивилизации, преимущественно как сфера производства (с древнейших времен — приготовление теста, получение молочнокислых продуктов, сыро- и виноделие, пивоварение, ферментация табака и чая, выделка кож и обработка растительных волокон). В течение тысячелетий человек применял в своих целях ферментативные процессы, не имея понятия ни о ферментах, ни о клетках с их видовой специфичностью и, тем более, генетическим аппаратом. Причем прогресс точных наук долгое время не влиял на технологические приемы, используемые в эмпирической биотехнологии.
2. Быстрое развитие биотехнологии как научной дисциплины с середины XIX в. было инициировано работами Л. Пастера (1822 — 1895). Именно Л. Пастер ввел понятие биообъекта, не прибегая, впрочем, к такому термину, доказал «живую природу» брожений: каждое осуществлявшееся в производственных условиях брожение (спиртовое, уксусно-, молочнокислое и т.д.) вызывается своим микроорганизмом, а срыв производственного процесса обусловлен несоблюдением чистоты культуры микроорганизма, являющегося в данном случае биообъектом.

Позднее, приступив к работам в области медицины, Л. Пастер исходил из своей концепции о причине заразных болезней, сводя ее в каждом случае к конкретному, определенному микроорганизму. Хотя техника того времени не позволяла увидеть возбудителя инфекции, как, например, в случае вируса бешенства, однако Л. Пастер считал, что «мы его не видим, но мы им управляем».

Ослабленный патоген и животное, в организм которого он введен, могут рассматриваться как своеобразный биообъект, а получаемая вакцина - как биотехнологический препарат. Л. Пастер создал строго научные основы получения вакцин, тогда как замечательные достижения Э. Дженнера в борьбе с оспой были результатом освоения эмпирического опыта индийской медицины.

1. Современная биотехнология, основанная на достижениях молекулярной биологии, молекулярной генетики и биоорганической химии (на практическом воплощении этих достижений), выросла из биотехнологии Л. Пастера и, являясь также строго научной, отличается от последней прежде всего тем, что способна создавать и использовать в производстве неприродные биообъекты, что отражается как на производственном процессе в целом, так и на свойствах новых биотехнологических продуктов.

Литература

1. Вакула В.Л., Биотехнология: что это такое? - Москва, «Молодая гвардия», 1989г. - №3. - С.3.
2. Егоров Н.С. Биотехнология: проблемы и перспективы' – Москва, «Высшая школа». -1987. [2 с.3].
3. Сассон А., Москва, «Мир» 1987. – С.3.
4. http://biofile.ru/bio/21612.html [4 с.1].
5. <http://www.biorosinfo.ru> [2 с.2].

**ИСТОРИЯ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

*Терехова А.В., Антифеева Е.А.*

*Научный руководитель: д.м.н. профессор Л.И. Каспрук*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Молекулярная медицина, которую называют медициной будущего, это одновременно и кардинально иной подход к поиску причин болезни и ее предупреждению, и новый взгляд на старые методы лечения. Молекулярная медицина – результат активного вовлечения новейших научных достижений в клиническую практику. Развитие медицины начиналось с наблюдения и описания болезней, применения первых «эмпирических» лекарств и изучение их пользы и вреда. То есть происходило накопление определенного опыта лечения. В XX веке этот процесс перешел в более научную стадию, когда начались попытки исследования дающих эффект применяемых методов и средств лечения. Уже можно было говорить о получении относительно статистически достоверных данных.

Серьезный прорыв произошел в конце XX века, когда начали активно формироваться новые направления науки: биохимия и молекулярная биология. Организм человека стал рассматриваться как взаимосвязанный механизм именно на молекулярном уровне. Выяснилось, что при развитии иного заболевания молекулярные процессы, присущие здоровому организму, претерпевают значительные изменения именно на уровне межмолекулярного взаимодействия. Таким образом, появилась идея управлять молекулярными взаимодействиями при патологических изменениях, направленно изменяя эти взаимодействия, чем и занимается молекулярная медицина. Уже в подходе к постановке диагноза молекулярная медицина принципиально отличается от обычной. Главный вопрос традиционной медицины: "Чем вы болеете?", а молекулярной: "Чем вы можете заболеть при вашем геноме?". То есть молекулярная медицина выявляет генетическую предрасположенность к различным болезням человека.

Генная терапия не просто устраняет определенные симптомы заболевания, а корректирует функции клеток и организма в целом. Её терапевтический эффект может достигаться различными путями: замена "больного" гена на "здоровый", направленная коррекция структуры и, соответственно, функции "больного" гена, частичное или полное подавление "больного" гена. И еще один важный принцип молекулярной медицины: любое медикаментозное лечение должно подбираться строго индивидуально, учитывая особенности генома больного. Оно должно подгоняться под пациента, как костюм под заказчика. Этим занимается недавно возникшая наука - фармакогенетика.

Методы молекулярной диагностики позволяют выявить не только гены наследственных болезней, но и гены предрасположенности к тому или иному заболеванию. Среди болезней, вызванных наличием в геноме генов предрасположенности, различают заболевания "с поздним началом" и мультифакториальные болезни. Заболевания с "поздним началом" (например, рак молочной железы, хорея Гентингтона, болезнь Альцгеймера, семейный полипозный рак толстого кишечника, нейродегенеративных ряд заболеваний) генетически могут быть обнаружены при рождении ребенка, однако видимые симптомы развиваются в позднем возрасте. Мультифакториальные болезни (например, атеросклероз, гипертония, диабет, онкологические заболевания) также определяются при рождении, но проявляются только при неблагоприятных внешних факторах.

И в том, и в другом случае молекулярная диагностика дает возможность врачу поставить диагноз задолго до появления симптомов болезни и, если это возможно, заблаговременно принять профилактические меры или начать лечение. Молекулярная геномика уже применяется в Европе и Соединенных Штатах для решения разнообразных задач медицины и медицинской генетики. Например, в Великобритании созданы информационные центры, и каждый, позвонивший туда, может получить консультацию по любым вопросам, касающимся своей наследственности и генетической предрасположенности к различным заболеваниям. Во Франции создана и используется на практике компьютерная экспертная система Сезам (SESAM - Systeme Expert Specialisee aux Analyses Medicales) для определения склонности человека к различным заболеваниям. Она включает собственно экспертную систему оценки риска возникновения заболевания, основанную на многочисленных лабораторных (иммунологических, биохимических, серологических и генетических) тестах (более 80), программу для обучения врачей основам молекулярной медицины, медицинское консультирование по результатам лабораторных тестов и популярный справочник для населения. Программа прекрасно зарекомендовала себя во Франции, и хочется верить, что российские медики в недалеком будущем тоже смогут ее использовать. Подведем итоги. Молекулярная геномика развивается стремительно. Ее прорыв в практическую медицину в Европе и Америке уже произошел и скоро будет ощутим в мировом масштабе.

Для цивилизованных стран этот прорыв в перспективе означает рождение генетически здорового потомства, значительное удлинение средней продолжительности жизни, здоровую старость. Эпоха социальных и экономических реформ в России в конце ХХ века совпала по времени с мировой революцией в биологии. Это привело к катастрофическим последствиям для всей отечественной биологической науки вообще и для генетики в частности. Хочется надеяться, что Россия, где молекулярная геномика пока еще находится на начальных, зачаточных стадиях развития, все же когда-нибудь станет в этом плане страной цивилизованной. Но пока в нашей стране век геномики, а тем более молекулярной медицины еще не настал, да и российское общество к его приходу не готово.

Многие социальные и юридические аспекты этой сложной проблемы пока не решены и в развитых странах, где, они активно разрабатываются. Задача российских ученых-генетиков, практических врачей и организаторов здравоохранения - по крайней мере, не отстать от мирового процесса утверждения юридических и правовых норм молекулярной медицины. Это позволит нашей стране даже при современном весьма скромном научном потенциале быстро и эффективно воспользоваться плодами "генетического древа познания", выращенного, к сожалению, не нами.

Литература

1. Наука и жизнь, медицина на пороге революции
2. Доктор медицинских наук В. Баранов
3. Режим доступа: <https://m.nkj.ru/archive/articles/8251>
4. Молекулярная медицина: зачем копаться в наших ДНК
5. Режим доступа: <http://www.pravda.ru/health/prophylaxis>
6. Молекулярная медицина призвана предсказать развитие болезней. Интервью директора Института молекулярной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова профессора Андрея Замятнина.
7. http://medportal.ru/mednovosti/news/2016/12/16/156molecular

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕВОЛЮЦИИ В БИОЛОГИИ: ИСТОРИЯ ВОПРОСА**

*Важнова А.С., Иванова К.Г.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Научно-техническая революция (НТР) - это период времени, в течение которого происходит качественный скачок в развитии науки и техники, коренным образом преобразующий производительные силы общества. Достижениями НТР в первую очередь воспользовались экономически развитые страны, которые превратили их в ускоритель научно-технического прогресса. Прогресс в биологии именно за последнее столетие был необыкновенно велик [1, стр. 121].

Важнейшее событие: появление молекулярной биологии. Всё началось с открытия Джеймсом Уотсоном и Френсисом Криком в 1953 году структуры молекулы ДНК. После этого прорыва были быстро открыты способы кодирования наследственной информации. Наиболее знаменитое сейчас последствие этого прорыва — расшифровка генетического кода человека [5, с. 10].

Успехи генной инженерии дали возможность в 1997 г. впервые клонировать (копировать, искусственно создать) сложный организм млекопитающего — овцу Долли. Большая международная программа «Геном человека» позволила определить место каждого из многих миллионов атомов в молекуле ДНК. Человечество вплотную подошло к искусственному созданию человека. От этого шага международное учёное сообщество скорее останавливают моральные аспекты, чем техническая недостижимость этого чуда [2, с. 415].

Нельзя не отметить, что человечество в эпоху научно-технической революции весьма преуспело в создании многообразных средств, подавляющих, калечащих, деформирующих биологические основы человеческого существа, — это и нервно-психологические стрессы, и химические препараты, загрязняющие атмосферу, воду, почву, и многое другое. Не случайно в наши дни одной из глобальных проблем стала проблема сохранения человека как биологического вида. Это заставляет во многом переосмысливать проблему соотношения биологического и социального в человеке [1, с. 121].

В 1900 году были, так сказать, переоткрыты законы Менделя такими учеными, как Де Фриз и др. Вскоре за этим последовало открытие цитологов о том, что генетический материал клеточных структур содержится в хромосомах. В 1910-1915 годах рабочая группа ученого Томаса Хант Моргана на основе опытов с плодовой мушкой (дрозофилой) разработала так называемую «менделевскую хромосомную теорию наследственности». Биологи выяснили, что гены в хромосомах расположены линейно, по типу «бусы на нитке». Де Фриз – это первый ученый, который сделал предположение о мутации генов. Далее было дано понятие дрейфа генов. А в 1980 году американский физик-экспериментатор Луис Альварес выдвинул метеоритную гипотезу вымирания динозавров [4, с. 88].

Еще более выдающиеся открытия ждали ученых в недалеком будущем. В начале XX века началось активное исследование витаминов. Немного ранее были открыты пути метаболизма ядов и лекарственных веществ, белков и жирных кислот. В 1920-1930 годах ученые Карл и Герти Кори, а также Ханс Кребс дали описание превращений углеводов. Это положило начало изучению синтеза порфиринов и стероидов. В конце века Фрицем Липманом было сделано следующее открытие: аденозинтрифосфат был признан универсальным переносчиком биохимической энергии в клетке, а главной энергетической «станцией» ее была названа митохондрия. Приборы для проведения лабораторных опытов усложнялись, появлялись новые методы получения знаний, такие как электрофорез и хроматография. Биохимия, являвшаяся одним из разделов медицины, выделилась в отдельную науку [4, с. 46].

Все новые смежные дисциплины появлялись при изучении биологии. Многие ученые старались установить природу гена. При проведении исследований с этой целью появился новый термин «молекулярная биология». Объектом изучения стали вирусы и бактерии. Был выделен бактериофаг – вирус, который избирательно поражал клетки определенной бактерии. Опыты также проводились на мушках дрозофилах, с хлебной плесенью, кукурузой и так далее. История развития биологии такова, что новые открытия совершались с появлением совершенно нового оборудования для исследований. Так, вскоре был изобретен электронный микроскоп и высокоскоростная центрифуга. Эти приборы позволили ученым открыть следующее: генетический материал в хромосомах представлен ДНК, а не белком, как считалось ранее; была восстановлена структура ДНК в виде известной нам сегодня двойной спирали [2, с. 389].

Развитие современной биологии не стоит на месте. Генная инженерия – это еще один «побочный продукт» изучения данной дисциплины. Именно этой науке мы обязаны появлением некоторых лекарственных средств, таких как инсулин и треонин. Несмотря на то что она в данное время находится на стадии развития и изучения, в недалеком будущем мы, возможно, уже сможем «вкусить» ее плоды. Это и новые вакцины против опаснейших заболеваний, и сорта культурных растений, не подвергающихся засухе, холоду, болезням, действиям вредителей. Многие ученые полагают, что при помощи достижений данной науки мы сможем забыть о применении вредных пестицидов и гербицидов. Однако развитие этой дисциплины вызывает у современного общества неоднозначную оценку. Многие люди не без основания опасаются, что результатом исследований может стать появление устойчивых к антибиотикам и другим лекарственным средствам возбудителей опаснейших заболеваний человека и животных [2, с. 415].

В 1988 г. По инициативе американских ученых У. Гилберта Дж. Уотсона была создана международная организация «Геном человека» для координации работ по определению полной нуклеотидной последовательности всей ДНК человека. Цель этой организации создать подробную карту человеческого генома, то есть изучить полный набор генов отдельного человека. В 1999 году было расшифровано более 2 десятков генов. В 2001 году был сделан первый «набросок» генома человека. В 2006 году работа была закончена [3, с. 202].

Наномедицина – лечение при помощи особых микроустройств.

Разрабатываются методы «выращивания» органов человека (тканей печени, волос, клапанов сердца, клеток мышц и так далее).

Создание искусственных органов человека, которые по своим характеристикам не будут уступать природным (синтетические мышцы и так далее) [1, стр. 121].

Литература

1. Горелов А.А. Концепции современного естествознания: Курс лекций. М.: Центр, 2001. – 121 с.
2. Заяц Р.Г. Биология для поступающих в вузы. М.: Вышэйшая школа, 2001. – 389. 415 с.
3. Соловых Г.Н. Цитология: учебное пособие. Оренбург: ОрГМУ, 2012. – 202 с.
4. Чебышев Н.В., Кузнецов С.В., Зайчикова C.Г., Гуленков С.В., Козарь М.В. М.: Новая волна. 2012. – 46, 88 с.
5. Ярыгин В.Н., Васильева В.И., Волков И.Н., Синельщикова В.В. Биология. Кн. 1. М.: Издательство «Высшая школа», 2004. – 10 с.

**ИЗ ИСТОРИИ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

*Мустаева Р.Р., Ярочкин М.М.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Генную инженерию используют для получения необходимых, нужных качеств изменяемого или модифицированного организма, также она непосредственным образом вмешиваться в генетический аппарат организма, в отличие от традиционной селекции, в результате которой генотип подвергается лишь косвенным изменениям.

Генная инженерия нашла широкое распространение в таких областях применения, как медицина, ветеринария, фармакология, пищевая промышленность и сельское хозяйство.

Одним из основных направлений генной инженерии можно считать сельское хозяйство. И это неудивительно, ведь вопрос об обеспечении продуктами питания населения, как всегда, стоит наиболее остро, а особенно в развивающихся странах, где прирост населения наиболее высок. Таким образом, можно говорить о необходимости поиска решений по выходу из продовольственного кризиса в короткие сроки. Возникает потребность в применении иных подходов повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Селекция в той или иной степени может решить возникшие проблемы на основании новых методов, появившихся благодаря достижениям генной инженерии, являющейся составной частью современной биотехнологии, теоретической основой которой выступает молекулярная биология. Смысл новой технологии заключается в направленном, по заранее заданной программе конструирования молекулярных генетических систем вне организма(invitro) с последующим внедрением созданных конструкций в организм. Формально датой рождения генетической инженерии считают 1972 год, когда в Стенфордском университете П. Берг, С. Коэн, Х. Бойер с сотрудниками создали первую рекомбинантную ДНК, содержавшую фрагменты ДНК вируса SV40, бактериофага и E. coli.

Еще 10 лет тому назад биотехнология растений заметно отставала в своем развитии, но в последнее время наблюдается быстрый выброс на рынок трансгенных растений с новыми полезными признаками.

Если говорить о примерах генных модификациях продуктов питания, то можно вспомнить такие, как морозоустойчивый помидор в ДНК которого был внедрен ген морской камбалы или для создания пшеницы, что будет устойчива к жаре, взяли ген скорпиона. В 2009 г вышел в продажу сорт розы «Applase» с цветками синего цвета. Осуществилась многолетняя мечта селекционеров, пытавшихся вывести «синюю розу». Учёные признают, что ГМО нужно рассматривать как ускоренное развитие селекции.

Но, по мнению некоторых генетиков, ДНК генномодифицированных продуктов переваривается в организме не до конца, и отдельные молекулы могут попадать из кишечника в клетку или ядро, а затем интегрироваться в хромосому, встраиваться в геном человека и вызывать мутации, на первый взгляд, такие болезни как бесплодие, онкологические заболевания.

Основные риски потребление в пищу ГМО продуктов – это **у**гнетение иммунитета, аллергические реакции и метаболические расстройства, в результате непосредственного действия трансгенных белков, различные нарушения здоровья в результате появления в ГМО новых, незапланированных белков или токсичных для человека продуктов метаболизма, появление устойчивости патогенной микрофлоры человека к антибиотикам. И этот список можно продолжать, ведь влияние генномодификаций полностью не раскрыто.

Выращивание таких продуктов в России запрещено, но после отмены обязательной сертификации, выявить нарушения становится сложнее, да и обычный обыватель не в состоянии проверить каждый продукт за недостатком владения временем и информацией о нем, так что тут выводы очевидны.

У нас в стране нет такого понятия как обязательное информирование покупателя о том, что производитель использует ГМО продукты. На многих этикетках можно увидеть яркую и броскую наклейку «без ГМО» и потребителю остается только слепо верить этому факту, учитывая, что ни одна компания не будет афишировать использование подобных продуктов в своем производстве, зная, что это «красная тряпка для быка».

Не нужно капитализировать то, что до конца не изучено, мы должны знать и иметь право выбора, так в Европе давно уже ГМО продукты маркируются. Если говорить о том, что они помогут планете спастись от голода, то можно глубоко заблуждаться, ведь находясь около 30 лет в практике, ситуация с нехваткой этих ресурсов почти не изменилась, а появилось только много отрицательного влияния, идет прогресс науки, но регресс биосферы, голод не исчезает, а появляются патологии.

Стремление человека к совершенствованию себя и окружающего мира давно известно. Но на сегодняшний день мы подошли к такому развитию биотехнологий, что это стремление грозит потерей биологической сущности. Необходимо верить здравому смыслу. Да, безусловно, наука обеспечивает развитие человечества, но с такими последствиями, от которых не совсем понятно как защититься.

Литература

1. Бирс Р., Э. Бэсит. Рекомбинантные молекулы: Значение для науки и практики. Москва. Изд-во Мир. 1980.
2. Егоров Н. С., Самуилов В. Д. Современные методы создания промышленных штаммов микроорганизмов // Биотехнология. Кн. 2. М.: Высшая школа, 1988.
3. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия. Ч. 1. Новосибирск: Изд-во Новосибирского ун-та, 1994.
4. Фаворова О. О. Лечение генами – фантастика или реальность? // Соросовский образовательный журнал. № 2. - 1997.
5. Верма А.М. Генотерапия // В мире науки. - 1991.
6. Лещинская И.Б. Генетическая инженерия // Соросовский образовательный журнал. - 1996.

**ИСТОРИКО-МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

*Даутова Ю.М., Сайфутдинова Н.А.*

*Научный руководитель: проф., д.м.н. Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

На рубеже 50 - 60-х годов были выяснены свойства генетического кода, а к концу 60-х годов его универсальность была подтверждена экспериментально. Шло интенсивное развитие молекулярной генетики, объектами которой стали E. coli, ее вирусы и плазмиды . В 70-х годах был открыт ряд ферментов, катализирующих реакции превращения ДНК. Особая роль в развитии методов генной инженерии принадлежит..рестриктазам…и…ДНК-лигазам.

В 1962 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик совершили одно из величайших открытий XX века, установив молекулярную структуру ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты, из которой и состоят гены) и определив ее роль в передаче наследственной информации. Десятью годами позже группа американских исследователей сообщила о выделении в лаборатории первой гибридной (рекомбинантной) молекулы ДНК – то есть вещества, объединившего в себе гены разных организмов.  Историю развития генетической инженерии можно условно разделить на три этапа.

Первый этап связан с доказательством принципиальной возможности получения рекомбинантных молекул ДНК invitro.  Была доказана возможность создания рекомбинантных молекул с использованием исходных молекул ДНК из различных видов и штаммов бактерий, их жизнеспособность, стабильность и функционирование. Второй этап связан с началом работ по получению рекомбинантных молекул ДНК между хромосомными генами прокариот и различными плазмидами, доказательством их стабильности и жизнеспособности. Третий этап - начало работ по включению в векторные молекулы ДНК (ДНК, используемые для переноса генов и способные встраиваться в генетический аппарат клетки-реципиента) генов эукариот, главным образом, животных.

Формально датой рождения генетической инженерии следует считать 1972 год, когда в Стенфордском университете П. Берг, С. Коэн, Х. Бойер с сотрудниками создали первую рекомбинантную ДНК, содержавшую фрагменты ДНК вируса SV40, бактериофага и E. coli.  Современный уровень наших знаний биохимии, молекулярной биологии и генетики позволяет рассчитывать на успешное развитие новой биотехнологии – генной инженерии, т.е. совокупности методов, позволяющих путем операций invitro (в пробирке) переносить генетическую информацию из одного организма в другой. Перенос генов дает возможность преодолевать межвидовые барьеры и передавать отдельные наследственные признаки одних организмов другим. Цель генной инженерии – не воплощение в реальность мифов о кентаврах, а получение клеток (в первую очередь бактериальных), способных в промышленных масштабах нарабатывать некоторые «человеческие» белки.

Так, с 1980 г. Гормон роста человека – соматотропин получают из бактерии E. Coli (кишечной палочки). Соматотропин представляет собой полипептидную цепь, состоящую из 191 аминокислоты. Он вырабатывается в гипофизе и контролирует рост человеческого тела; его недостаток приводит к карликовости. Соматотропин – единственное средство лечения детей, страдающих карликовостью из-за недостатка этого гормона. До развития генной инженерии его выделяли из гипофизов от трупов. Соматотропин, синтезированный в специально сконструированных клетках бактерий, имеет очевидные преимущества: он доступен в больших количествах, его препараты являются биохимически чистыми и свободными от вирусных загрязнений.

В 1979 г. из 60 млн. больных сахарным диабетом во всем мире лишь 4 млн. получали препарат инсулина – гормона поджелудочной железы, регулирующий уровень сахара в крови и клетках. Инсулин выделяли из поджелудочной железы забиваемых коров и свиней, что сложно и дорого. С 1982 г. этот гормон получают в промышленных масштабах из бактерий E. coli, содержащих ген человеческого инсулина.   
Результаты достижений генной инженерии: возможность идентификации патологических генов, разработки молекул, важных для человека, что позволило использовать их в широком уровне (инсулин, гормоны роста, вакцины), создание растений и животных с особыми признаками. Итак, имеем следующие цели генетической инженерии: диагностическая, терапевтическая,продуктивная, перестройки, экспериментальная (деструктивная).

Генная инженерия делает возможным генную терапию. Ее задача - "расшифровать" человеческий геном, то есть познать полную информацию на тему наследственного оснащение человека. На сегодня известно, что многие болезни имеет наследственную основу. Чтобы их предотвратить или лечить, необходимо познать генотип человека. Генная терапия - это введение в человеческий организм или клетки гена, т.е. фрагмента ДНК, с целью предупреждения или лечения патологических состояний. Генетические манипуляции несправедливые, когда редуцирующих человеческую жизнь в качестве предмета, если при этом забывают, что имеют дело с лицом умным и свободным.

Литература

1. Заяц Р.С. Основы медицинской генетики. – Мн.: Высшая школа, 1998.− С. 60-65.
2. Мутовин Г.Р. Основы клинической генетики. – М.:Высшая школа, 1997. – С. 83-84

**ИСТОРИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ В РОССИИ**

*Корнишин Н.В., Мурадов С.Н.*

*Научный руководитель: профессор, д.м.н. Каспрук Л. И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Биотехнология — дисциплина, изучающая возможности использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач, а также возможности создания живых организмов с необходимыми свойствами методом генной инженерии. Биотехнологией часто называют применение генной инженерии в XX-XXI веках, но термин относится и к более широкому комплексу процессов модификации биологических организмов для обеспечения потребностей человека, начиная с модификации растений и животных путём искусственного отбора и гибридизации. С помощью современных методов традиционные биотехнологические производства получили возможность улучшить качество пищевых продуктов и увеличить продуктивность живых организмов.

До 1971 года термин «биотехнология» использовался, большей частью, в пищевой промышленности и сельском хозяйстве. С 1970 года учёные используют термин в применении к лабораторным методам, таким, как использование рекомбинантной ДНК и культур клеток, выращиваемых in vitro (с лат.«в стекле»).

Биотехнология основана на генетике, молекулярной биологии, биохимии, эмбриологии и клеточной биологии, а также прикладных дисциплинах — химической и информационной технологиях и робототехнике.

Использование в промышленном производстве микроорганизмов или их ферментов обеспечивающих технологический процесс, известно издревле, однако систематизированные научные исследования позволили существенно расширить арсенал методов и средств биотехнологии.

Так, в 1814 году петербургский академик К.С. Кирхгоф открыл явление биологического катализа и пытался биокаталитическим путём получить сахар из доступного отечественного сырья (до середины XIX века сахар получали только из сахарного тростника).

В начале XX века активно развивалась бродильная и микробиологическая промышленность. В эти же годы были предприняты первые попытки наладить производство антибиотиков, пищевых концентратов, полученных из дрожжей, осуществить контроль ферментации продуктов растительного и животного происхождения.

Первый антибиотик — пенициллин — удалось выделить и очистить до приемлемого уровня в 1940 году, что дало новые задачи: поиск и налаживание промышленного производства лекарственных веществ, продуцируемых микроорганизмами, работа над удешевлением и повышением уровня биобезопасности новых лекарственных препаратов.

Сегодня приходится констатировать, что биотехнологический потенциал России выглядит весьма скромно. Объем продаж на рынке биотехнологической продукции в России в целом не превышает 1 млрд. дол. США/год, в то время как на мировом рынке он приближается к 100 млрд. Для сравнения, рынок Китая и Индии, который начал стремительно развиваться только в самые последние годы, уже достиг 3,8 млрд. дол.

Рынок биотехнологической продукции России представлен в настоящее время следующими направлениями:

- фармацевтические препараты,

- ферменты и ферментные препараты,

- живые культуры микроорганизмов,

- дрожжи,

- биопрепараты для добывающих отраслей промышленности,

- препараты для сельского хозяйства,

- препараты для защиты окружающей среды.

Функционируют два сегмента: традиционные препараты и продукты и современные. Традиционные продукты - это антибиотики, ферменты, стероиды, витамины, вакцины и др. В этой области работают около 50 отечественных предприятий, однако в научном плане традиционная медицинская биотехнология обеспечена весьма слабо. Современная (или новейшая) медицинская биотехнология, производящая интерфероны, интерлейкины, колонистимулирующие факторы, моноклональные антитела, генно-инженерный инсулин, набирает мощь.

С конца 90-х гг. началась активная работа по получению новых биотехнологических препаратов. В 2000 г. было выведено на общемировой рынок около 42 новых активных субстанций, и доля биотехнологических препаратов составляла в нем более 35 %. В 2001 г. всего было выведено на рынок 52 биотехнологических препарата. Доля препаратов современной биотехнологии составляет сегодня около 10 % от общей медицинской биотехнологии России.

Следует подчеркнуть, что современная биотехнология для реализации своего потенциала требует значительных материальных и людских затрат.

Развитие биотехнологии, налаживание производств для выпуска высокотехнологичной продукции невозможны без высоких капиталовложений и наличия грамотных специалистов. Период после прекращения существования СССР, перестроечный процесс производства и экономики нашей страны негативно отразились на биотехнологической промышленности в целом. И тому есть объективные причины.

Среди таковых - резкое снижение финансирования науки и этой отрасли. Если в СССР на науку тратилось 7 % валового внутреннего продукта (ВВП), то в России в последние 10 лет только 0,3-0,5 %. По данным журнала «В мире науки», на биотехнологию Россия тратит в год 40 млн. дол., а США - 100 млрд. дол. Доля России в мировом производстве биотехнологической промышленности составляла в 1980 г. 5 %, а в России в 2000 г. - 0,17 % (в абсолютном выражении объемы продаж упали с 1,5 до 0,4 млрд. дол.). Осознание необходимости развития отечественной биотехнологии и понимание, что без этого невозможен дальнейший научно-технической прогресс страны, приводят к тому, что на уровне лиц, принимающих решения, начинают предприниматься усилия в этом направлении. Свидетельство тому – специальные слушания в Государственной думе РФ, а также проект «Развитие биотехнологии в Российской Федерации в 2008-2020 гг.».

В 2005 г. в рамках Третьего съезда Общества биотехнологов России была обсуждена и принята Программа «Развитие биотехнологии в российской Федерации на 2006-2015 гг.». От выполнения этой государственной программы зависит, впишется ли Россия в мировую тенденцию развития биотехнологии.

Целью Программы является развертывание работ в области теоретической и практической биотехнологии в России на базе современных инновационных подходов для производства импортозамещающей отечественной биотехнологической продукции.

К задачам Программы относятся: - формирование и реализация национальных приоритетных проектов в биотехнологии;

- разработка теории и методологии фундаментальной биотехнологии;

-внедрение новейших достижений в сфере геномики, биоинформатики, нанотехнологий в соответствии с наиболее важными приоритетами (генетический паспорт, биочипы и др.);

-создание современных образовательных программ и системы подготовки кадров в области биотехнологии;

-реализация целевых практических проектов по медицинской, сельскохозяйственной, пищевой, экологической, промышленной биотехнологии с целью обеспечения населения отечественной биотехнологической продукцией.

Таким образом**,** социальный эффект от реализации программы при достижении намеченных показателей ожидается значительным, в том числе это решение проблем трудозанятости и сохранение квалифицированных кадров. Основным результатом реализации Программы станет обеспечение населения отечественной биотехнологической продукцией, решение жизненно важных социальных и экономических задач.

Литература

1. <http://medbe.ru/materials/problemy-i-metody-biotekhnologii/rol-biotekhnologii-v-sovremennom-mire-razvitie-biotekhnologiy-v-rossii/>
2. http://www.biotechnolog.ru/prombt/prombt4\_1.htm
3. [https://ru.wikipedia.org](https://ru.wikipedia.org/)
4. [http://sovman.ru/article/4307](http://sovman.ru/article/4307/)

**ИСТОРИЯ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ И ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В ОБЛАСТИ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ**

*Месяц Д.С., Крайкова А.А.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Уже сегодня биотехнология стремительно выдвигается на передний край научно-технического прогресса. Этому способствует бурное развитие современной молекулярной биологии и генетики, опирающихся на достижения химии и физики, и острая практическая потребность в новых технологиях хозяйственной деятельности человека.

История научно-исследовательской и производственной деятельности в области биотехнологии началась с эры брожений и эры антибиотиков (1941-1969). Эра новой биотехнологии (после 1975 ᴦ.) началась после открытия Дж.Уотсоном и Ф.Криком (лауреатами Нобелевской премии) строения ДНК[1, c.12-13].

Генная инженерия [4, c.178-185] занимает одно из ведущих мест в современных биотехнологиях, так как благодаря исследованиям и полученному опыту, уже сейчас создаются запрограммированные гены ДНК, которые позволяют получить необходимый результат. Несмотря на то, что первые успешные опыты в генной инженерии проводились в 40-ых годах прошлого века, настоящий прорыв метод получил благодаря разработке первого человеческого рекомбинантного инсулина[4, c. 182] в 1970 году. Сегодня среди достижений генной инженерии выделяют: лосося с удвоенным темпом роста, деревья, скорость роста которых намного выше скорости обычных деревьев, эко-свинья, отходы которой содержат минимальное количество фосфора, что помогает избежать загрязнения ближайших водоемов и т.д.

На сегодняшний день методы генной инженерии позволили осуществить синтез в промышленных количествах таких гормонов, как интерферон [4, c. 183] и соматотропин [4, c. 184](гормон роста), которые необходимы для лечения ряда генетических болезней человека — некоторых видов злокачественных образований, карликовости.

Очень важное направление клеточной инженерии связано с ранними стадиями эмбриогенеза. Например, оплодотворение яйцеклеток в пробирке уже сейчас позволяет преодолевать некоторые распространенные формы бесплодия у человека.

Первый «ребенок из пробирки» родился в 1978 году в Великобритании – Луиза Браун, а в нашей стране – в 1986 году - Елена Донцова [5, c. 166-169].

На первом этапе женщина принимает гормональные лекарственные средства, что ведет к созреванию в одном цикле десяти и более яйцеклеток, которые извлекают из ее организма. Чтобы повысить вероятность успеха, все яйцеклетки оплодотворяются. Через несколько часов оплодотворенная яйцеклетка начинает делиться, и спустя примерно трое суток три-четыре ранних эмбриона переносят в матку. Оставшиеся живые эмбрионы хранятся в замороженном виде при температуре жидкого азота и в случае неудачи на этапе переноса эмбриона в матку могут быть использованы при повторных попытках[5, c. 166-169].

Клонирование – точное воспроизведение генетического материала любого объекта путем точного копирования ДНК. На сегодняшний день существует только один успешный эксперимент клонирования с помощью метода «переноса ядра» – овца Долли. Эксперимент был поставлен Яном Вилмутом и Китом Кэмпбеллом в Рослинском институте, в Шотландии, близ Эдинбурга в 1996 году. Эксперимент считается прорывом в технологиях, сравнимым с расщеплением атома[2] .

Попытки создать полноценные клоны теплокровных животных предпринимались ещё до успеха с Долли. Среди таких — получение овец Меган и Мораг, созданных той же группой исследователей. Но, в отличие от Долли, эти овцы были получены из эмбриональных клеток.

Долли — первое теплокровное животное, которое было получено из ядра взрослой (соматической), а не половой или стволовой клетки. В естественных условиях каждый организм сочетает генетические признаки отца и матери. В случае с Долли генетический «родитель» был только один — овца-прототип. Долли родилась 5 июля 1996 в Шотландии. В начале у неё не было даже имени. Ей был присвоен только лабораторный идентификационный номер 6LL3. Имя Долли (англ. Dolly — Куколка) появилось позже, по предложению одного изветеринаров, помогавших учёным при её рождении. Долли жила как самая обычная овца. Умела выпрашивать лакомство у людей и родила шестерых ягнят. С осени 2001 года у Долли был обнаружен артрит, ей стало трудно ходить. Но заболевание успешно лечили противовоспалительным препаратом [2].

14 февраля 2003 на седьмом году её жизни Долли пришлось усыпить. Причиной послужили прогрессирующее заболевание легких, вызванное ретровирусомJSRV [3], и тяжелый артрит [2].

Гибридизация – процесс образования гибридов с помощью объединения разного генетического материала в одной клетке. Первый результат успешной гибридизации получил Г. Харрис в 1965 году за гетерокарионы, образованные клетками человека и мыши. Данный метод успешно используется в сельскохозяйственной селекции для получения более стойких сортов зерновых, а также для одомашнивания некоторых видов животных и диких растений[1, c. 252].

Важно также производство такого достаточно дешевого биотоплива, как биосинтетический этанол, который кроме того является важнымсырьем для микробиологической промышленности при получении пищевых и кормовых белков, а также белково-липидных кормовых препаратов[1, c.135].

Развитие биотехнологических методов существенно изменяет жизнь человека в лучшую сторону, посредством повышения качества пищи, использования новых медицинских препаратов, а также понижения уровня загрязнения экологии планеты.

Литература

1. Биотехнология / Т. Г. Волова. – Новосибирск: Изд-во Сибирского отделения Российской Академии наук, 1999. – 252 с. Режим доступа: window.edu.ru/window\_catalog/pdf2txt?p\_id=9435
2. Сайт по биотехнологии. – режим доступа: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Долли_(овца)>
3. Сайт по биотехнологии. – режим доступа: <https://en.wikipedia.org/wiki/Jaagsiekte_sheep_retrovirus>
4. Серия «Эрудит». Химия. – М.: ООО ТД «Издательство Мир книги», 2007. – 192 с.: ил. – С. 178-185.
5. Серия «Эрудит». Эволюция человека. – М.: ООО ТД «Издательство Мир книги», 2007. – 192 с.: ил. – С. 166-169.

**ОСНОВЫ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОЛИТИКИ В ОБЛАСТИ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ:**

**ИСТОРИЯ ВОПРОСА**

*Щербовских А.И., Ризванова Л.Х.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф.Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

4 декабря 2003г. Президент Российской Федерации В.В.Путин утвердил "Основы государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2010 года и дальнейшую перспективу".

Данный документ определяет цель, основные принципы, приоритетные направления, задачи и меры государственной поддержки в области обеспечения химической и биологической безопасности личности, общества и государства (далее - химическая и биологическая безопасность), а также механизмы и этапы реализации государственной политики в этой области.

Целью государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности является последовательное снижение до минимально приемлемого уровня риска воздействия опасных химических и биологических факторов на население, производственную и социальную инфраструктуру и экологическую систему.

Обеспечение химической и биологической безопасности Российской Федерации (как подсистемы единой государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций), предусматривающей категорирование, прогнозирование, предупреждение и парирование угроз химической и биологической безопасности, ликвидацию последствий чрезвычайных ситуации в итоге воздействия химической и биологической причин.

Решение этих задач достигается путем создания государственной системы обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации (как подсистемы единой государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций), предусматривающей категорирование, прогнозирование, предупреждение и парирование угроз химической и биологической безопасности, ликвидацию последствий чрезвычайных ситуаций в результате воздействия химических и биологических факторов.

Основу государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности составляют совершенствование и упрочение системы химической и биологической безопасности в Российской Федерации с целью последовательного снижения до приемлемого уровня риска воздействия опасных химических и биологических факторов на биосферу, техносферу и экологическую систему.

В Российской Федерации в настоящее время функционирует свыше 10 тыс. потенциально опасных химических объектов, относящихся к топливно-энергетическому комплексу, цветной и черной металлургии, химической, целлюлозно-бумажной, горнодобывающей и перерабатывающей, пищевой и другим отраслям промышленности и сельского хозяйства (при этом 70 процентов из них расположены в 146 городах с населением более 100 тыс. человек).

Подавляющее большинство этих объектов было построено и введено в эксплуатацию 40−50 лет назад. При нормативном сроке эксплуатации до 15 лет химико-технологическое оборудование к настоящему времени многократно выработало свои ресурсы, морально устарело и физически изношено. Обеспечение химической безопасности на таких объектах, как правило, нацелено прежде всего на решение проблем, связанных с антропогенным воздействием на население и окружающую среду. Основной подход к снижению химической опасности многочисленных объектов, включая повышение их антитеррористической устойчивости, базируется на принципе естественной безопасности, присущей самим объектам.

Литература

1. Из постановления правительства о стратегии национальной безопасности Российской Федерации до 2020 года (Указ Президента Российской Федерации от 12 мая 2009 г № 537).
2. Федеральная целевая программа «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009−2013 годы) (постановление Правительства Р Ф от 27 октября 2008 г № 791)».
3. Государственный доклад о состоянии защиты населения и территории Российской Федерации от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера в 2008 году.

**ИСТОРИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ПАЛЕОНТОЛОГИИ**

*Егорова С.С., Максютова А.А.*

*Научный руководитель: проф., д.м.н. Каспрук Л.И.*

*Кафедра Общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Переход на молекулярный уровень познания органических соединений в геологических объектах связан как с развитием методов идентификации органических соединений, так и с переносом достижений в выяснении химического состава биологических объектов и процессов их функционирования из неонтологии в палеонтологию. Подобную тенденцию отмечал еще в 1917-1918 гг. Я. В. Самойлов, который считал, что настало время для расширения палеонтологических исканий в сторону раскрытия прошлой жизни в ее биохимических проявлениях. Палеонтология биохимическая (физиологическая), естественно, должна пользоваться и другими методами изучения, чем палеонтология морфологическая, а именно — геохимическими методами.

Предвидение Я. В. Самойлова оправдалось лишь в 50-х годах нашего столетия, когда внедрение современного молекулярного уровня в исследования ископаемых остатков организмов привело к появлению палеобиохимии.

Развитие палеобиохимии дало начало к обособлению в качестве самостоятельных научных направлений такие дисциплины, как органическая геохимия и биогеохимия органического вещества, а в конце 60-х годов — к обособлению молекулярной палеонтологии.

Термин «молекулярная палеонтология» предложил выдающийся ученый-биохимик Мелвин Кальвин. Предметом новой науки Кальвин считал ископаемые молекулярные остатки органических соединений, по структуре которых можно судить об их биохимическом происхождении.

Как и молекулярная биология, молекулярная палеонтология, но применительно к ископаемым остаткам, в первую очередь пытается исследовать основную молекулу, в которой закодирована информация об организме, т.е. ДНК. Однако некоторые важные особенности того или иного вида можно выявить путем изучения и других биологических макромолекул — белков, липидов, углеводов.

Результаты экспериментов молекулярных палеонтологов порождают дискуссии и множество противоречивых суждений. Это обусловлено рядом причин:

• отсутствием эмпирических данных о принципиальной возможности сохранения биологических макромолекул в течение длительных, геологических периодов времени;

• как правило, малым количеством исходного биологического материала, что обычно не позволяет провести достаточно исчерпывающее исследование повторно;

• уникальностью каждого образца, поскольку невероятно обнаружение даже двух ископаемых остатков, для которых все условиях их сохранения были бы одинаковыми. Это приводит к тому, что нет возможности корректно воспроизвести полученные теми или иными авторами аналитические опыты;

• большой степенью загрязненности ископаемых образцов посторонними высокомолекулярными примесями, что затрудняет идентификацию истинно эндогенного материала.

В связи с этим, значимость данных, полученных в рамках молекулярной палеонтологии, корректность ее подходов и методов часто подвергаются сомнениям, что отмечают ведущие специалисты в этой области.

Основная цель дисциплины — это, конечно, попытки найти эволюционную связь на молекулярном уровне между теми или иными классами и семействами животных, подкрепить, так сказать, "научные эволюционные построения" путем исследования ископаемых ДНК. Но разрешима ли эта задача? Полагаю, что цель может быть достигнута, если анатомические элементы ископаемых будут исследованы аналитическими методами, позволяющими идентифицировать их состав и молекулярную структуру. К примеру, метод ионного распыления позволил проявить клеточные микроструктуры в углях разного геологического возраста и даже в графитах. Стало очевидным, что тончайшие детали клеточного строения сохраняются в ископаемом растительном веществе значительно чаще, чем это можно было предположить, но остаются незамеченными при обычных методах подготовки препаратов углей к микроскопическим исследованиям.

Вследствие крайне низкой сохранности ДНК в ископаемых образцах необходимо сделать вывод о том, что на настоящий момент наилучшие данные все же получены при исследовании не ДНК, а белков. И стоит предположить, что так же останется и в будущее время, какого бы прогресса ни достигли методы биологических исследований.

Изучение древних макромолекул — дело сомнительное и в некотором смысле, можно сказать, безнадежное (в особенности для ДНК), однако непреклонное упорство и настойчивость человека не знают границ, и еще неизвестно, куда и какой дорогой они приведут нас по пути стремления познания всех тайн древнего загадочного мира.

Литература

1. Дегенс Э.Т. Геохимия осадочных образований. — М.: Мир, 1967. — 209 с.
2. Кальвин М. Химическая эволюция. — М.: Мир, 1971. — 140 с.
3. Михайлова И.А., Бондаренко О.Б. Палеонтология. Часть 1. 2-е изд, перераб. и доп. — М.: МГУ, 2006. — С. 137-143.

**ОБ ИСТОРИИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ**

*Глущенко А.А., Солодкова А.А.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

**Генетика в последние годы является сердцевиной всей биологической науки. Из генетики выросла такая развивающаяся наука как молекулярная генетика. Она несомненно широко используется в практике сельского хозяйства и медицины (т. н. генная инженерия путём замены вредных генов полезными, в том числе искусственно синтезированными; управление мутационным процессом; борьба с вирусными болезнями и злокачественными опухолями путём вмешательства в процессы репликации нуклеиновых кислот и опухолеродных вирусов.**

**Молекулярная генетика выделилась в самостоятельное направление в 40-х гг. 20 в. в связи с внедрением в биологию новых физических и**[**химических**](http://atomistry.com/)**методов, что позволило гораздо глубже и точнее, чем раньше, изучать строение и функции отдельных компонентов клетки. Большую роль в быстром развитии молекулярной генетики сыграло перенесение центра тяжести генетических исследований с высших организмов (**[**эукариотов**](http://bse.sci-lib.com/article127383.html)**) - основных объектов классической генетики, на низшие (**[**прокариоты**](http://bse.sci-lib.com/article093224.html)**) - бактерии и многие другие микроорганизмы, а также вирусы. Молекулярная генетика изучает молекулярные основы генетических процессов как у низших, так и у высших организмов и не включает частной генетики прокариотов, занимающей видное место в генетике микроорганизмов.** Выдающейся вехой в изучении нуклеиновых кислот стало открытие О. Эйвери и сотр. (1944). Они показали, что с помощью чистой ДНК наследуемый признак может быть перенесен из одной клетки в другую и что ДНК является носителем генетической информации. Это положение получило вскоре убедительное подтверждение в экспериментах А. Херши и М. Чейз с ДНК бактериофагов.

В 1953 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик сумели правильно интерпретировать данные рентгеноструктурного анализа ДНК, накопленные в лабораториях Р. Франклина и М. Уилкинса, и на ИМ Яих основе построить модель пространственной структуры ДНК. Они показали, что макромолекула ДНК - это регулярная двойная спираль. Из анализа модели следовало, что после расплетания двойной спирали на каждой из цепей может быть построена комплементарная ей новая, в результате чего образуются две дочерние молекулы, не отличимые от материнской ДНК. Через пять лет М. Мезельсон и Ф. Сталь экспериментально подтвердили этот механизм, а несколько раньше (1956) А. Корнберг открыл фермент ДНК-полимеразу, который на расплетенных цепях, как на матрицах, синтезирует новые, комплементарные им цепи ДНК.

 Открытие генетической роли ДНК потребовало решения другой фундаментальной задачи – проблемы кода, с помощью которого нуклеотидный текст переводится на язык аминокислот – структурных единиц белка. Впервые эту задачу правильно сформулировал в начале 1950-х годов Г. Гамов, который предсказал, что этот код должен быть трехбуквенным и неперекрывающимся. Экспериментально общие свойства генетического кода были установлены Ф. Криком, С. Бреннером и сотр. к концу 1950-х – началу 1960-х годов. К этому же времени в общих чертах были выяснены функции и принципы структурной организации РНК. Были открыты рибосомы и рибосомные РНК, транспортные РНК и, наконец, информационные РНК. Стало ясным, что в совокупности все эти РНК служат промежуточным звеном при переносе генетической информации от ДНК к белкам. Было доказано, что собственно биосинтез цепей белка происходит на рибосомах, где генетическая информация, переписанная (транскрибированная) с ДНК в виде мРНК, транслируется с помощью тРНК.

В 1960 г. сразу в нескольких лабораториях был открыт фермент РНК-полимераза, осуществляющая синтез РНК на ДНК-матрицах. Таким образом, идея Ф. Крика о передаче генетической информации от ДНК к белку через РНК была подтверждена.

Генетический аминокислотный код был полностью расшифрован в 1961-1966 гг. усилиями лабораторий М. Ниренберга, С. Очоа и Г. Кораны.

Открытие основных компонентов систем транскрипции и трансляции послужило важным стимулом в изучении механизма регуляции этих процессов. В 1961 г. Ф. Жакоб и Ж. Моно опубликовали схему регуляции синтеза белков на уровне транскрипции при помощи регуляторных белков, а в 1966 г. У. Гилберт и Б. Мюллер-Хилл впервые выделили такой белок. Кроме того, оказалось, что РНК-полимераза сама является регулятором генной активности (Р.Б. Хесин).

В середине 1960-х годов начались исследования нуклеотидных последовательностей РНК. Первыми были определены первичные структуры тРНК (Р. Холли и сотр., 1965; А. А. Баев и сотр., 1967) . Развитие техники фракционирования фрагментов нуклеиновых кислот и, прежде всего, гель-электрофореза (Ф. Сэнгер и сотр.) позволило в начале 1970-х годов приступить к изучению первичной структуры высокомолекулярных РНК. В 1976-1978 гг. были созданы исключительно быстрые и эффективные методы секвенирования ДНК и РНК (А. Максам и У. Гилберт, Ф. Сэнгер и сотр.), которые позволили за короткое время получить огромную информацию о первичной структуре генов, их регуляторных элементах, вирусных и рибосомных РНК и т.д.

В 1973 г. одновременно в лабораторих А. Рича и А. Клуга с помощью рентгеноструктурного анализа была установлена пространственная структура тРНК. В эти же годы был открыт основной структурный элемент эукариотических хромосом нуклеосома и разработаны методы ее исследования.

В 1970 г. Г. Темин и Д. Балтимор открыли в онкогенных вирусах РНК-зависимую ДНК-полимеразу и тем самым показали, что в принципе поток генетической информации может быть обращен от РНК к ДНК.

Огромное значение для молекулярной биологии имело развитие генетической инженерии и методов работы с рекомбинантными ДНК в сочетании с методами химического синтеза крупных фрагментов ДНК. В результате сделались доступными для исследования индивидуальные гены и регуляторные генетические элементы, было стимулировано изучение ферментов биосинтеза и обмена нуклеиновых кислот. Благодаря этому после 1977 г. были обнаружены мозаичное (экзон-интронное) строение генов, явление сплайсинга и ферментативной активности у РНК, усилители (энхансеры) экспрессии генов, многие регуляторные белки, онкогены и онкобелки, мобильные генетические элементы. Возникла белковая инженерия, которая позволяет получать новые, не существующие в природе белки. Молекулярная биология начала оказывать существенное влияние на развитие биотехнологии, медицины и сельского хозяйства.

Идентификация генов человека и выяснение первичной нуклеотидной последовательности человеческого генома составляет основные, взаимосвязанные задачи Международной программы «Геном Человека». Официально эта научная программа с участием ведущих молекулярно-генетических лабораторий США, Западной Европы, России и Японии оформилась в 1990 г. Однако, задолго до приобретения официального статуса в этих странах проводились молекулярные исследования по изучению генома человека и картированию генов. Предполагалось, что основной раздел программы, касающийся секвенирования всего генома человека, т.е. выяснения первичной последовательности молекулы ДНК, достигающей 1,5 метров и состоящей из 3,5·109 нуклеотидов, будет завершен уже к 2005 году. Однако, серьезные технические усовершенствования этого трудоемкого процесса, его автоматизация и резкое снижение себестоимости многих молекулярно-генетических методов позволили сделать это уже в 2002-2003 гг.

**Молекулярная генетика своими замечательными открытиями оказала плодотворное влияние на все биологические науки. Она явилась той основой, на которой выросла молекулярная биология, значительно ускорила прогресс биохимии, биофизики, цитологии, микробиологии, вирусологии, биологии развития, открыла новые подходы к пониманию происхождения жизни и эволюции органического мира. Вместе с тем  молекулярная генетика, позволившая глубоко проникнуть в природу важнейших жизненных процессов и успешно продолжающая их исследование, отнюдь не претендует на решение многих, в том числе и генетических, проблем, касающихся целостного организма, а тем более совокупностей организмов - популяций, видов, биоценозов и т.д., где преобладают закономерности, изучение которых требует иных методов, чем те, какие использует молекулярная генетика.**

Литература

1. Горбунова В.Н. Что вы знаете о своем геноме? - СПб., 2001. - Интермедика.- С.1-11.
2. Горбунова В.Н., Баранов В.С. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. СПб.,1997. - Специальная литература. - С. 9-13.
3. Коничев А.С., Севастьянов Г.А. Молекулярная биология. М.ACADEMIA. 2003. С. 4-9.
4. Роллер Э. Открытие основных законов жизни. М. Мир, 1978. - С. 61-65, 134-147, 223-226.
5. Спирин В.С. Молекулярная биология. М. Высшая школа. -1990.- С. 5-9.

**ИЗ ИСТОРИИ РАЗВИТИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ**

*Жиркова А.А., Генералова Е.Д.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра Общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

История молекулярной биологии начинается в 1930-х годах с объединения ранее отдельных биологических дисциплин: биохимии, генетики, микробиологии и вирусологии. Кроме того, в надежде, что новая дисциплина откроет возможности понимания фундаментальных основ жизни, в неё пришли многие химики и физики.

Название новой дисциплины было предложено Уорреном Уивером, директором отдела естественных наук Фонда Рокфеллера, в 1938 г. Поначалу подразумевалось, что от неё ожидается объяснение физических и химических основ жизни. После того, как в 1910-х годах законы Менделя получили широкое признание в научных кругах, а в 1920-х годах развитие атомной теории привело к разработке принципов квантовой механики, казалось, что наука вплотную подошла к открытию молекулярного фундамента феномена жизни. Уивер от имени Фонда Рокфеллера поддерживал и финансировал исследования на стыке биологии, химии и физики, и даже такие знаменитости, как Нильс Бор и Эрвин Шрёдингер, пытались подвести под биологию теоретическую базу так, как они это делали в теоретической физике. Однако в 1930-х — 1940-х годах не было ясно, какие именно исследования приведут к цели, если эта цель вообще достижима.

В 1940 г. Джордж Бидл и Эдуард Тейтем показали факт существования связи между генами и белками, связав генетику с биохимией. Они предложили генетикам вместо дрозофилы использовать в качестве модельного организма грибок нейроспору. Использование более широкого спектра модельных организмов было чрезвычайно важно для появления новой дисциплины. В 1944 г. Освальд Эвери, работавший в Рокфеллеровском университете с бактериями, показал, что гены состоят из ДНК. В 1952 г. Алфред Херши и Марта Чейз подтвердили, что генетический материал бактериофага тоже состоит из ДНК. В 1953 г. Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик предложили двуспиральную структуру молекулы ДНК. Их структурная модель действительно позволила объяснить многие фундаментальные биологические феномены, такие как существование очень больших биологических молекул, способ хранения и точного копирования информации о их структуре, возможность изменения структуры генов в эволюции и др., в результате чего молекулярная биология обрела свои основные принципы.

В 1961 г. Франсуа Жакоб и Жак Моно предположили, что между ДНК и белком должен быть посредник, который они назвали информационной РНК. В 1961—1965 гг. с расшифровкой генетического кода стало понятно, как информация, хранящаяся на ДНК, определяет структуру белка, и какие именно сочетания нуклеотидов в структуре ДНК соответствуют определенным аминокислотам белка. В начале 1960-х годов Жакоб и Моно показали также, как белок может регулировать транскрипцию и экспрессию генов.

Главные открытия с молекулярной биологии были сделаны на протяжении примерно четверти века. Затем понадобилось ещё пятнадцать лет исследований, прежде чем на их основе были разработаны новые сложные технологии, которые сейчас в совокупности называют генетической инженерией. Они позволили выделять и характеризовать отдельные гены, в том числе из весьма сложно устроенных живых организмов, включая человека.

Таким образом, оценивая молекулярную революцию в контексте истории биологии, нетрудно заметить, что рождение молекулярной биологии было кульминацией длительного процесса, который начался с первых наблюдений, сделанных под микроскопом.

Литература

1. Дымшиц Г.М. Молекулярная биология // Наука. - №11. – 1999.
2. Мишель Морандж История развития молекулярной биологии» 1998, С. 26-54.

**ИСТОРИКО-МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ БИОИНФОРМАТИКИ**

*Безбородников В.С., Лондарев М.Е.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра Общественного здоровья и здравоохранения №*1

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Биоинформатика **-** совокупность методов и подходов, включающих в себя математические методы компьютерного анализа в [сравнительной геномике](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%BC%D0%B8%D0%BA%D0%B0#.D0.A1.D1.80.D0.B0.D0.B2.D0.BD.D0.B8.D1.82.D0.B5.D0.BB.D1.8C.D0.BD.D0.B0.D1.8F_.D0.B3.D0.B5.D0.BD.D0.BE.D0.BC.D0.B8.D0.BA.D0.B0) (геномная биоинформатика), разработку алгоритмов и программ для предсказания пространственной структуры биополимеров ([структурная биоинформатика](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B8%D0%BE%D0%B8%D0%BD%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0#.D0.A1.D1.82.D1.80.D1.83.D0.BA.D1.82.D1.83.D1.80.D0.BD.D0.B0.D1.8F_.D0.B1.D0.B8.D0.BE.D0.B8.D0.BD.D1.84.D0.BE.D1.80.D0.BC.D0.B0.D1.82.D0.B8.D0.BA.D0.B0)), исследование стратегий, соответствующих вычислительных методологий, а также общее управление информационной сложности биологических систем.

C начала 1980-х гг. начинают формироваться всемирные банки прочитанных ДНК-и белковых текстов, ставшие огромными мета-объектами, необходимыми для понимания каждого вновь прочитанного участка какого-либо генома, (эту область коллеги и ученики автора, участвовавшие в его домашнем семинаре 1983-87 гг., удачно назвали генолингвистикой), а также прочие всемирные БД по биологии - в основном с медицинской и экологической информацией в различных формах представления данных. Остановимся лишь на одном отечественном «case study», связывающим системы минимальных и максимальных структурных уровней. Авидон и Финн сравнили кластеры сходств между тысячами органических молекул с кластерами их клинических и лабораторных эффектов «in vivo». Так они показали, что радикалы не всегда аддитивны в отношении свойств (эмерджентность), а также, что не биогенные радикалы нежелательны как в фармакологическом, так и в экологическом аспектах. К концу 1980-х гг. эти БД появляются в возникающем Интернете. Отметим, что вся виртуальная биология для Интернета активно использует меры информации в русле, проложенном К.Шенноном и его последователями, включая и отца автора, к.т.н.,д.ф.н.,проф.Е.А.Седова (1929-1993). Однако теперь необходимы и кластерно-иерархические подходы к анализу геномов, мозга и Интернета, а также надорганизменных биосистем - популяций и сообществ.

На рубеже XX-XXIвеков биоинформатика превратилась в бурно развивающуюся область мировой биомедицинской науки. Наряду с исследователями, ведущими фундаментальные разработки, потребителями биоинформационных технологий являются медицинские, фармакологические, биотехнологичные и учебные учреждения. Эта область науки определена в качестве приоритетной как в США, так и во всех других развитых странах. Количество центров биоинформатики постоянно растет во всех странах Европы, Азии, США и Австралии. Наряду с государственными, академическими и образовательными центрами биоинформатики, в последние годы возникло значительное число организаций и проектов, ориентированных на коммерческое использование результатов исследований в области биоинформатики. Это прежде всего организации, деятельность которых ориентирована на структурный, функциональный и сравнительный анализ геномов, включая геном человека. Наряду с применением уже созданных методов биоинформатики интенсивно развивается техническая и программная база для решения прикладных задач, особенно в фармакологии. Быстрыми темпами совершенствуется также и индустрия программного обеспечения для решения таких задач.

Биоинформатика относится к интеллектуальным, высокотехнологичным разделам науки, где получаемые результаты в значительной степени зависят от развитого творческого мышления ученых, а не определяются в основном затратами на их техническую вооруженность. Таким образом, учитывая достаточно высокий интеллектуальный и образовательный уровень российских ученых и практическую невозможность больших финансовых затрат в современной экономической ситуации, биоинформатика имеет все основания стать одним из приоритетных направлений науки в Российской федерации. Уже к 1984г. стало ясно, что в России (тогда бывшем СССР) образовалась достаточная «критическая масса» специалистов в области применения математических методов в биологии. К этому же времени скопилось достаточно большое количество биологической информации, обработка, осмысление и анализ которой стало невозможно проводить без компьютерной поддержки. Все это и явилось предпосылкой для возникновения новой отрасли биологической науки – биоинформатики. Количество публикаций по биоинформатике в последние годы стремительно нарастает. Работы в области биоинформатики активно печатались в 90-е годы, но сами эксперименты, описываемые в статьях, были проведены ранее. База для реализации комплексного подхода к проблеме и написания статей создавалась в течение многих лет усилиями многочисленных исследователей. Первые работы по теоретическому анализу аминокислотных последовательностей белков были опубликованы в 50-х годах прошлого века. В 1988г. был начат проект по расшифровке генома человека, ставивший своей целью определение полной последовательности ДНК, составляющей хромосомы человека. Этот проект общими усилиями ученых разных стран был завершен к 2003г. Отметим ряд институтов, где в России ведутся работы по биоинформатике. В Москве организован Институт математических проблем биологии РАН. Там занимаются решением разных биологических проблем при поддержке информационных технологий, таких как структурная и сравни-тельная геномика, основные молекулярно-биологические механизмы, молекулярно-генетические системы управления, протеомика, метаболика, базы биологических данных, математическое обеспечение биологических экспериментов.

Литература

1. Лек А.М. Введение в биоинформатику. – М.: 2009. - С. 32-45.
2. Несговорова Г.П. Биоинформатика: Пути развития и перспективы». – М., 2011 - С.73-79.

**К ВОПРОСУ ОБ ИСТОРИИ ГЕННО-КЛЕТОЧНЫХ БИОИНЖЕНЕРНЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ**

*Банникова Э.Н., Галимова Л.Н.*

*Научный руководитель: д.м.н., профессор Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В основе современной биотехнологии важнейшими методами являются генная и клеточная инженерия. Генная инженерия и биотехнологии активно способствуют решению многих задач медицины и фармацевтики. Многие болезни, для которых в настоящее время не существует адекватных методов диагностики и лечения (раковые, сердечно-сосудистые, вирусные и паразитные инфекции, нервные и умственные расстройства), с помощью генной инженерии и биотехнологии станут доступны и диагностике, и лечению. Таким образом, медицина может превратиться в дисциплину с ясным пониманием происходящих в организме молекулярных и генетических процессов.

Генно-клеточная инженерия имеет яркую историю благодаря тому общественному резонансу, который она вызвала с первых своих шагов. Данная наука появилась благодаря работам многих исследователей в разных отраслях биохимии и молекулярной генетики. На протяжении многих лет главным классом макромолекул считали белки. Существовало даже предположение, что гены имеют белковую природу. Лишь в 1944 году Эйвери, МакЛеод и МакКарти показали, что носителем наследственной информации является ДНК. С этого времени начинается интенсивное изучение нуклеиновых кислот. Спустя десятилетие, в 1953 году Дж. Уотсон и Ф. Крик создали двуспиральную модель ДНК. Именно этот год принято считать годом рождения молекулярной биологии.

На рубеже 50 - 60-х годов были выяснены свойства генетического кода, а к концу 60-х годов его универсальность была подтверждена экспериментально. Шло интенсивное развитие молекулярной генетики, объектами которой стали E.coli, ее вирусы и плазмиды. Были разработаны методы выделения высокоочищенных препаратов неповрежденных молекул ДНК, плазмид и вирусов. В 70-х годах был открыт ряд ферментов, катализирующих реакции превращения ДНК. Особая роль в развитии методов генной инженерии принадлежит рестриктазам и ДНК-лигазам.

Историю развития генетической инженерии можно условно разделить на три этапа. Первый этап связан с доказательством принципиальной возможности получения рекомбинантных молекул ДНК in vitro. Эти работы касаются получения гибридов между различными плазмидами. Была доказана возможность создания рекомбинантных молекул с использованием исходных молекул ДНК из различных видов и штаммов бактерий, их жизнеспособность, стабильность и функционирование.

Второй этап связан с началом работ по получению рекомбинантных молекул ДНК между хромосомными генами прокариот и различными плазмидами, доказательством их стабильности и жизнеспособности.

Третий этап - начало работ по включению в векторные молекулы ДНК (ДНК, используемые для переноса генов и способные встраиваться в генетический аппарат клетки-рецепиента) генов эукариот, главным образом, животных.

Формально датой рождения генетической инженерии следует считать 1972 год, когда в Стенфордском университете П. Берг, С. Коэн, Х. Бойер с сотрудниками создали первую рекомбинантную ДНК, содержавшую фрагменты ДНК вируса SV40, бактериофага и E. Сoli.

Генная инженерия сегодня достигла высокого уровня развития, но сохраняет обнадеживающие перспективы, обеспечивая возможность решения многих вопросов и проблем человечества в области медицины.

На сегодняшний день очень развит процесс модификации генов. Становится популярной техника, позволяющая использовать для синтеза ДНК полимеразную цепную реакцию. При помощи этого экспериментального метода молекулярной биологии стало возможным увеличение малых концентраций определенных элементов нуклеиновой кислоты в материале. Синтезированную таким образом ДНК называют комплементарной. Генную инженерию можно использовать для лечения наследственных заболеваний, однако впоследствии такая «медицина» сказывается на изменении генома потомков. Примечательно, что изменять геном взрослого человека куда сложнее, чем создавать новые элементы, к примеру, породы животных или виды растений.

Стоит заметить, что в мировом сообществе весьма противоречиво рассматривается возможность введения изменений в геном человека. В частности, углубление в данную науку сталкивается со многими проблемами медицинской этики и деонтологии. Несмотря на это, около 9 месяцев назад американской исследовательницей Элизабет Пэрриш был проведен уникальный эксперимент по изменению собственных генов. Дело в том, что 44-летняя женщина решила поменять свой геном ради того, чтобы никогда не стареть. Для этого в организм пациентки было введено специальное вещество, запускающее омолаживающий механизм. Подобный эксперимент проводился впервые, поэтому женщина вынуждена регулярно проходить наблюдения у специалистов и сдавать анализы.

Литература

1. Егоров Н.С. Биотехнология проблемы и перспективы. М., 1994.

2. Калашникова Е.А., Шевелуха В.С., Воронин Е.С. Биотехнология. М: Высшая школа, 200.5

3. Жданова Е.: История развития генной инженерии и величайшие достижения в этой области, 2016.

4. http://www.biotechnolog.ru.

5. http://www.biochemi.ru.

**СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: К ИСТОРИИ ВОПРОСА**

*Савина П.С, Гираева Э.Ф.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Стволовые клетки — недифференцированные (незрелые) [клетки](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B0), имеющиеся у многих видов [многоклеточных организмов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D1%87%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%BE%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B7%D0%BC). Стволовые клетки способны самообновляться, образуя новые стволовые клетки, делиться посредством [митоза](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B8%D1%82%D0%BE%D0%B7) и [дифференцироваться](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%B8%D1%84%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BD%D1%86%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%BA%D0%B0_%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%BA) в специализированные клетки, то есть превращаться в клетки различных [органов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD_(%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F)) и [тканей](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%BA%D0%B0%D0%BD%D1%8C_(%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F)).

Развитие многоклеточных организмов начинается с одной стволовой клетки, которую принято называть зиготой. В результате многочисленных циклов [деления](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%B5%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5_%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B8) и процесса дифференцировки образуются все виды клеток, характерные для данного [биологического вида](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D0%B2%D0%B8%D0%B4). В человеческом организме таких видов клеток более 220. Стволовые клетки сохраняются и функционируют и во взрослом организме, благодаря им может осуществляться обновление и восстановление тканей и органов. Тем не менее, в процессе [старения](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%80%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5_(%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F)) организма их количество уменьшается.

Первое предположение о существовании стволовых клеток было высказано именно русским ученым.Максимов Александр Александрович (04.02.1874 – 04.12.1928) – выдающийся русский ученый, один из создателей унитарной теории кроветворения.С 1903 по 1922 гг. Максимов А. А. занимал пост профессора кафедры гистологии Военно-медицинской академии.

Максимов А. А. во многом предопределил направление развития мировой науки в области клеточной биологии. Термин "стволовая клетка" Максимов А. А. предложил еще в 1908 году, чтобы объяснить механизм быстрого самообновления клеток крови. Он выступил с новой теорией кроветворения в Берлине на съезде гематологов. Именно этот год можно по праву считать началом истории развития исследований стволовых клеток!

Каждые сутки в крови погибают несколько миллиардов клеток, а им на смену приходят новые популяции эритроцитов, лейкоцитов и лимфоцитов. Максимов А. А. первый догадался, что обновление клеток крови — это особая технология, отличная от простых клеточных делений. Если бы клетки крови самообновлялись простым клеточным делением, это потребовало бы гигантских размеров костного мозга.

Несколько позже профессор московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи А.Я. Фриденштейн подтвердил предположение коллеги и, изучая возможности этих особых клеток, стал разрабатывать сферу их применения. Первые эксперименты по практическому использованию стволовых клеток были начаты еще в начале 1950-х годов. Именно тогда было доказано, что с помощью трансплантации костного мозга (основного источника стволовых клеток) можно спасти животных, получивших смертельную дозу радиоактивного облучения.

Понадобилось почти 20 лет, чтобы трансплантация костного мозга вошла в арсенал практической медицины. Только в конце 60-х были получены убедительные данные о возможности применения трансплантации костного мозга при лечении острых лейкозов.

В начале века ученые уже подозревали, что во многих тканях существуют клетки, способствующие регенерации (восстановлению) этих тканей и активизирующие деление обычных клеток. В 60-х годах советские ученые Александр Фриденштейн и Иосиф Чертков заложили основы науки о стволовых клетках костного мозга, доказав, что именно там главным образом и находится своеобразное депо замечательных клеток. Потом стало известно, что часть стволовых клеток мигрирует в крови, есть они и в различных тканях, в частности в кожной и жировой. 1988 год - стволовые клетки были впервые использованы для трансплантации; мальчик, которому была проведена операция, по сей день, жив и здоров.

1992 год - первая именная коллекция стволовых клеток. Профессор Дэвид Харрис "на всякий случай" заморозил стволовые клетки пуповинной крови своего первенца. Сегодня Дэвид Харрис – директор крупнейшего в мире банка стволовых клеток пуповинной крови.

1996 год – доказано, что облучение уничтожает раковые клетки, но убивает и только что пересаженные из костного мозга донора стволовые клетки. С начала 1996 года в РФ действует Закон "О радиоактивной безопасности населения".

Исследования как эмбриональных стволовых клеток, так и стволовых клеток взрослого организма ведутся чрезвычайно активно, в мировой научной прессе что ни день появляются все новые сообщения о достижениях ученых: одним удалось получить из стволовых клеток нейроны, другим - кожную или хрящевую ткань, третьим - вырастить сосуды, кость или даже челюсть.

За 21 год успешного изучения стволовых клеток был разработан и лицензирован метод выделения и культивирования мезенхимальных стволовых клеток из аутологичного костного мозга. Разработанная методика культивирования позволяет получить необходимое количество стволовых клеток с нужными характеристиками и их клеточного потомства в различные органы и ткани. При хранении в криобанке полученные культуры сохраняют высокий уровень выживаемости и высокую активность.

Уже сегодня стволовые клетки успешно используются при лечении тяжелых наследственных и приобретенных заболеваний, болезней сердца, эндокринной системы, неврологических заболеваний, болезнях печени, желудочно-кишечного тракта и легких, заболеваний мочеполовой и опорно-двигательной систем, заболеваний кожи. Во многих случаях своевременное лечение стволовыми клетками буквально «ставит человека на ноги».

Литература

1. Репин В. С., Ржанинова А. А., Шамянков Д. А. - Эмбриональные стволовые клетки: фундаментальная биология и медицина – Москва, 2002. – 225 с.
2. Алберт Б., Брей Д., Льюс Дж., и др. – Молекулярная биология клетки: В 3-х т. 2-е изд., М75 перераб. и доп. Т-3. пер с анг. – М.: Мир, 1994. – 504 с., ил.
3. Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М.- Стволовые клетки. – Эксперимент, теория, клиника.
4. http://biofile.ru/bio/17561.html

**РАЗВИТИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭНДОКРИНОЛОГИИ**

*Жармухамбетова К.С.*

*Научный руководитель: д.м.н., профессор Каспрук Л. И.*

*КафедраОбщественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Эндокринология (от греч. endo — внутри, krino — выделять, logos — учение) — наука о железах внутреннейсекреции (специализированных органах, имеющих железистое строение) и выделяемых ими непосредственно в кровь гормонах (от греч. hormao - привожу в движение, возбуждаю). Термин «гормон» предложили У. Бейлисс и Э. Старлинг в 1902 г.[1, с.9]

Молекулярная эндокринология как область науки с каждым годом привлекает к себе все большее внимание исследователей. Развитию молекулярной эндокринологии главным образом способствуют накопление знаний в области действия гормонов, а также разработка новых и усовершенствование уже существующих методов диагностики, включая методы получения прижизненного изображения эндокринных органов и систем [3, с.34].

Молекулярная эндокринология является общебиологической и общемедицинской дисциплиной. Общебиологическое значение молекулярной эндокринологии состоит в первую очередь в том, что эта наука занимается изучением механизмов регуляции и интеграции функций. Эндокринная патология является заболеванием всего организма. Это обстоятельство, а также повсеместное учащение случаев эндокринной патологии определяют общемедицинское значение молекулярной эндокринологии и требуют привлечения к борьбе с эндокринными заболеваниями врачей всех специальностей [5, с.67].

В развитии молекулярной эндокринологии можно выделить 4 этапа: описательный; экспериментальный; выделение гормонов в чистом виде и расшифровка их химической структуры; синтез гормонов и получение их дериватов. Возникновение молекулярной эндокринологии как науки относится к середине XIX в., когда в 1849 г. Бертольд впервые показал, что подсадка семенников в брюшную полость петухам после их кастрации предотвращает у них развитие посткастрационного синдрома. В том же году С. Е. Броун-Секар, удалив надпочечники у животных, доказал жизненную важность этих желез . В 1854 г. Шифф впервые отметил гибель животных после тиреоидэктомии. В 1884 г. пересадкой щитовидной железы тиреоидэктомированным животным он предотвратил их гибель и доказал этим роль щитовидной железы как органа внутренней секреции. В 1855 г. Клод Бернар путем укола в дно IV желудочка мозга вызвал глюкозурию и гипергликемию и установил регулирующеевоздействие нервной системы на функцию эндокринных желез. Клод Бернар ввел термин «внутренняя секреция». В 1889 г. О. Минковский и И. Меринг экпериментально доказали связь между функцией поджелудочной железы и сахарным диабетом [2, с.115].

В 1889 г. Броун-Секар на заседании Парижского биологического общества сообщил об омолаживающих свойствах вытяжки из половых желез. Предположения Броун-Секара полностью не подтвердились, однако послужили поводом к применению органотерапевтических препаратов и гормонов для лечения больных. В 1901 г. Л. В. Соболев экспериментально доказал продукцию островковым аппаратом поджелудочной железы противодиабетического вещества инсулина и указал пути его получения [6, с.284].

Начало и середина XX в. Были ознаменованы выделением из эндокринных органов ряда гормонов:адреналина (Такамине и Олдрич,к 1901) , тироксина (Кендалл, 1915) , инсулина (Бантинг и Бест, 1921) ,прогестерона (Бутенандт, 1934) , адренокортикотропного гормона (Лии Сайерс, 1943) , трийодтиронина

(Гросс и Лемблонд, 1950) . В 1935 г. Дайзи синтезировал женский половой гормон эстрадиол, в 1954 г. был получен альдостерон — гормон клубочковой зоны коры надпочечников (Симпсон и Тайт), в 1963 г. обнаружен третий гормон щитовидной железы — тирокальцитонин (Копп). В 1957—196 4 гг.

Бергстрем и Ван-Дорп выделили в кристаллическом виде, установили химическую структуру и осуществили биосинтез ряда простагландинов. Из ткани опухоли островкового аппарата поджелудочной железы в 1966 г. впервые выделенпроинсулин (Стейнер) [8, с.312].

Большим событием в эндокринологии было выделение из гипоталамуса рилизинг-факторов (рилизинг-гормонов), активирующих («либерины») или угнетающих («статины») продукцию тропныхгормонов гипофиза. В 1962 г. из гипоталамуса выделен соматолиберин (соматотропин-рилизинг-фактор, Франц), в 1970 г . — тиролиберин (тиротропин-рилизинг-фактор, Шелли, 1968; Гиллемэн\* 1970) , а в 1972 г. — соматостатин (соматотропин-рили-зингингибирующий фактор , Гиллемэн) [10, с.198].

В 1975—197 8 гг. английские биохимики Д. Хьюз и Г. Костерлиц выделили из мозга свиньи, а затем и других животных эндогенные болеутоляющие вещества, относящиеся к группе пептидов, — энкефалины и эндорфины.

Одно из достижений современной молекулярной эндокринологии — открытиеиммунологических и радиоиммунологических методов определения уровня белковых гормонов в крови и моче. Благодаря использованию этих методов, обладающих высокой специфичностью, представилась возможность более точно по сравнению с биологическими тестами выявить изменения секреции, метаболизма и выделения белковых гормонов из организма [4, с.365].

Успешно развиваются исследования желудочно-кишечных гормонов (эндокринология пищеварения). Установлено, что, помимо секретина, выделенного еще У. Бейлиссом и Э. Старлингомв 1902 г., нейроэндокринные клетки АПУД-системы (апудоциты) органов пищеварения синтезируют также следующие полипептидные гормоны: гастрин, холецистокинин-панкреозимин, мотилин, гастроингибирующий пептид (ГИП), вазоактивный интестинальныйпептид (ВИП), субстанцию Р, бомбезин, нейротензин, энкефалин, соматостатин, глюкагон и энтероглюкагон, серотонин и мелатонин.

Таким образом, современные методики лечения позволяют контролировать течение эндокринных заболеваний, избегать осложнений и обеспечивать пациентам достойное качество жизни. Основа современной молекулярной эндокринологии – высокотехнологичные биохимические тесты и гормональные препараты последнего поколения. Новые технологии широко используются и в диагностике – магнитно-резонансная и компьютерная томография, радионуклидная диагностика, радиоиммунный и молекулярно-генетический анализ. Достижения в этой области медицины позволяют выявлять заболевания у взрослых и детей на ранних стадиях и проводить их лечение.

Литература

1. Балаболкин М.И., Гаврилюк Л.И. Диагностический справочник эндокринолога. Кишинев. 1984.
2. БалаболкинМ.И.Эндокринология: учебное пособие.-М.: Медицина.-1989.
3. БалаболкинМ.И.Эндокринология.-М: Универсум Паблишинг.-1998.
4. Беккер Эд, Я. БЛиппинкотт. Филадельфия, 1995. Принципы и практика эндокринологии и метаболизма.
5. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Год издания: 2007
6. Потемкин В.В. Жанр: Эндокринология. Москва «Медицина», 1986.
7. Старкова Н.Т. Клиническая эндокринология (проблемы фармакотерапии).-АМН.-СССР.-М.:Медицина.-1973.
8. Старкова Н.Т. Клиническая эндокринология.- М.:Медицина.-1983.
9. Эндокринология и метаболизм, второе издание, ред.: П. Felig и соавт., McGrow-Hill. В Книжной Компании, Нью-Йорк, 1987.
10. Учебник эндокринологии, 8-е издание, ред.: Д. Уилсон и Д. У. Фостер, У. Б. компании Сондерс, Филадельфия, 1992.

**ИСТОРИЯ СТАНОВЛЕНИЯ И ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ**

*Кучкарова А.Р., Резникова Е.А.*

*Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л. И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Молекулярная биология – наука, изучающая живые системы на молекулярном уровне. Перекрываясь с другими смежными областями биологии и химии, а именно с генетикой и биохимией, молекулярная биология изучает взаимодействия между различными системами живой клетки, включая процессы синтеза таких жизненно-важных биополимеров, как ДНК, РНК, и белков, а также взаимодействия, регулирующие эти процессы.

Молекулярная биология исторически появилась в 30-е годы XX века как раздел биохимии. Впервые термин «молекулярная биология» ввел Варен Вивер в 1938 году. Варен был в то время директором фонда Рокфеллера и искренне верил в то, что в биологии грядут большие перемены, подстегиваемые недавними успехами в области рентгеноструктурного анализа. Поэтому сам он направлял значительные финансовые средства института Рокфеллера на исследования в этой области. Исследователи, работающие в области молекулярной биологии, используют методы, как присущие только молекулярной биологии, так и биохимические и генетические методы. Нет четкой грани между этими разделами биологии.

Датой рождения молекулярной биологии принято считать апрель 1953 г., когда в английском журнале «Нейчер» появилась статья Джеймса Д. Уотсона и Фрэнсиса Крика с предложением пространственной модели молекулы ДНК. Основанием для построения этой модели послужили работы по рентгеноструктурному анализу, в которых участвовали также Морис Х. Ф. Уилкинсон и Розалинда Франклин.

История молекулярной биологии начинается в 1930-е годы, когда сошлись пути ранее независимых дисциплин: биохимии, генетики, микробиологии и вирусологии. С надеждой на то, что эта наука объяснит живые процессы на самом фундаментальном уровне, многие физики и химики примкнули к зарождающейся области исследования, которая впоследствии превратится в молекулярную биологию.

Создание двойной спирали ДНК и открытие принципа комплементарности стали важнейшим событием современной биологии, вскрывшем фундаментальные принципы функционирования живых систем и определившим дальнейшие направления исследований современной биологии. В 1951 г. Л. Полинг и Р. Кори обосновали существование основных типов укладки аминокислотных остатков в полипептидные цепи белков (α-спираль и складчатый β-слой). [2, с.5]

Догматический период продолжается с 1953 по 1962 г. Сформулирована центральная догма молекулярной биологии, что перенос генетической информации идет в направлении ДНК → РНК → белок. В 1962 г. был расшифрован генетический код. [1, с.12] Затем были детально изучены механизмы воспроизведения (репликации) ДНК, транскрипции (биосинтеза РНК) и трансляции (биосинтеза белка). Параллельно развивались работы по изучению внутриклеточной локализации этих процессов, что привело к осознанию функционального значения внутриклеточных компонентов (ядра, митохондрий, рибосом и др.) и дало основание Дж. Уотсон для определения молекулярной биологии: «Молекулярная биология изучает связь структуры биологических макромолекул и основных клеточных компонентов с их функцией, а также основные принципы и механизмы саморегуляции клеток, которые опосредуют согласованность и единство всех протекающих в клетке процессов, составляющих сущность жизни». В 1956 г. А. Корнберг открыл РНК-полимеразу. В 1957 г. А.Н. Белозерский и А.С. Спирин предсказали существование мРНК. В последствии центральный постулат молекулярной генетики был дополнен представлениями о существовании процесса обратной транскрипции (о биосинтезе ДНК на матрице РНК) и репликации РНК, что позволило придать ему следующий вид: одновременно все более детализировались представления о строении и функциях белков, необходимых для катализа (сегменты) и регуляции (регуляторные белки, пептидные гормоны) всех важнейших молекулярно-генетических процессов. [2, с.7] В 1957 Дж. Кендрю установил трёхмерную структуру миоглобина, а в последующие годы это было сделано М. Перуцем в отношении гемоглобина. Были сформулированы представления о различных уровнях пространственной организации макромолекул. Наиболее наглядным примером того, как молекулярная трёхмерная структура определяет биологические функции молекулы, служит ДНК. [3, с.18] В 1960 г. одновременно в нескольких лабораториях был открыт фермент транскрипции – РНК-полимераза. В 1961 г. Ф.Жакоб и Дж.Монро разработали модель опертона. [2, с.6]

Академический период продолжается с 1962 г. по настоящее время, в котором с 1974 года выделяют генно-инженерный подпериод. [1, с.12] Открытие и разработка методов целенаправленного использования целого ряда ферментов (обратной транскриптазы, ДНК-рестриктаз и д р.) привели к созданию технологии получения рекомбинантных ДНК, возникновению генной инженерии, что стало поистине революционным событием в истории молекулярной биологии.

В конце 70-х начале 80-х годов ХХ века молекулярная биология вступает в период расцвета. Развитие молекулярной биологии сопровождалось как развитием её методологии, в частности, изобретением метода определения нуклеотидной последовательности ДНК (У. Гилберт и Ф. Сенгер, Нобелевская премия по химии 1980 года), так и новыми открытиями в области исследований строения и функционирования генов (см. История генетики). К началу XXI века были получены данные о первичной структуре всей ДНК человека и целого ряда других организмов, наиболее важных для медицины, сельского хозяйства и научных исследований, что привело к возникновению нескольких новых направлений в биологии: геномики, биоинформатики и др.

Литература

1. Молекулярная биология: Учеб. для студ. пед. вузов / А.С. Коничев, Г.А. Севостьянова. – 2-е изд., испр. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 400 с.
2. Сазонов В.Ф., Лупанов Е.А. Лекционный курс по учебной дисциплине Молекулярная биология /– Рязань: РГУ им. С.А. Есенина, 2012 – 523 с.
3. Павлюченко В.И., Абрамов А.В. Основы молекулярной биологии и генетики. – Харьков: ЗГУ, 2008 г. – 258 с.
4. Рис Э., Стернберг М. Введение в молекулярную биологию: От клеток к атомам: Пер. с англ. — М.: Мир, 2002. — 142 с, ил.
5. Роллер Э. Открытие основных законов жизни. – М.: Издательство «Мир», 1988 г. – 333с., ил.

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ ВИРУСНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА. ИСТОРИЯ РОССИЙСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

*Мищерина Д.А., Насырова Ж.С.*

*Научный руководитель****: д.м.н.,***  *проф. Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

## Молекулярная иммунология и биология — научная дисциплина, изучающая химические, биохимические и молекулярно-биологические основы реакций иммунитета. Основана на химии белка, общей биохимии и молекулярной биологии. Её методы применяются при изучении структуры и функции белков, в молекулярной генетике. Рассматривает на молекулярном уровне строение и функции антител, химию комплемента.

## История молекулярной биологии начинается в 1930-х годах с объединения ранее отдельных биологических дисциплин: биохимии, генетики, микробиологии и вирусологии. Кроме того, в надежде, что новая дисциплина откроет возможности понимания фундаментальных основ жизни, в неё пришли многие химики и физики.

## Молекулярная биология в современном понимании объясняет феномен жизни, начиная от свойств макромолекул. В особенности в центре внимания молекулярных биологов оказались два их вида: 1) нуклеиновые кислоты, среди которых наиболее известна ДНК, на ней зафиксирована структура генов, и 2) белки, активность которых обеспечивает жизнь на молекулярном уровне. Согласно одному из определений молекулярной биологии, эта дисциплина характеризует структуру, функции и отношения между этими двумя типами макромолекул.

## Название новой дисциплины было предложено Уорреном Уивером, директором отдела естественных наук Фонда Рокфеллера, в 1938 г. Поначалу подразумевалось, что от неё ожидается объяснение физических и химических основ жизни. После того, как в 1910-х годах законы Менделя получили широкое признание в научных кругах, а в 1920-х годах развитие атомной теории привело к разработке принципов квантовой механики, казалось, что наука вплотную подошла к открытию молекулярного фундамента феномена жизни. Уивер от имени Фонда Рокфеллера поддерживал и финансировал исследования на стыке биологии, химии и физики, и даже такие знаменитости, как Нильс Бор и Эрвин Шрёдингер, пытались подвести под биологию теоретическую базу так, как они это делали в теоретической физике. Однако в 1930-х — 1940-х годах не было ясно, какие именно исследования приведут к цели, если эта цель вообще достижима. В том числе проводились исследования в коллоидной химии, биофизике, радиобиологии и кристаллографии.

## Главные открытия с молекулярной биологии были сделаны на протяжении примерно четверти века. Затем понадобилось ещё пятнадцать лет исследований, прежде чем на их основе были разработаны новые сложные технологии, которые сейчас в совокупности называют генетической инженерией. Они позволили выделять и характеризовать отдельные гены, в том числе из весьма сложно устроенных живых организмов, включая человека.

## Начало XX века - время возникновения другой ветви иммунологической науки - иммунологии неинфекционной. Лаборатория клинической иммунологии была создана в НИИ ФХМ в 1985 году по инициативе академика РАМН Ю.М.Лопухина. Всё это время ею руководит Заслуженный врач РФ профессор Дидковский Николай Антонович.

## Создание лаборатории и широкий спектр ее научных исследований продиктованы высоким уровнем распространения инфекционно-воспалительных заболеваний во всех возрастных группах, частым переходом острых воспалительных процессов в затяжное и хроническое течение вследствие несостоятельности (незавершенности) иммунного ответа, неуклонно растущей частотой болезней, ассоциированных с недостаточностью и дисфункцией системы иммунитета. Уже стало очевидным, что в основе многих заболеваний человека лежат расстройства (недостаточность, неадекватность, дисбаланс) иммунной системы Развитие вторичной иммунной недостаточности обусловлено с одной стороны прессингом множественных вредных факторов внешней среды и, с другой стороны,- наличием полиморфизмов генов, связанных с обеспечением иммунного ответа и воспаления (а это сотни и тысячи генов, только в процессах апоптоза так или иначе принимает участие более 400 генов).

## Н.А. Дидковский является автором более 200 публикаций в области терапии, гематологии, пульмонологии, иммунологии, генетики. Как отправной точкой для развития инфекционной иммунологии явились наблюдения Э.Дженнера, так для неинфекционной - обнаружение Ж.Борде и Н.Чистовичем факта выработки антител в организме животного в ответ на введение не только микроорганизмов, а вообще чужеродных агентов. Свое утверждение и развитие неинфекционная иммунология получила в созданном И.И.Мечниковым в 1900 г. учении о цитотоксинах - антителах против определенных тканей организма, в открытии К.Ландштейнером в 1901 году антигенов человеческих эритроцитов.

## Результаты работ П.Медавара (1946) расширили рамки и привлекли пристальное внимание к неинфекционной иммунологии, объяснив, что в основе процесса отторжения чужеродных тканей организмом лежат тоже иммунологические механизмы. И именно дальнейшее расширение исследований в области трансплантационного иммунитета привлекло к открытию в 1953 году явления иммунологической толерантности - неотвечаемости организма на введенную чужеродную ткань.

## За последние годы произошел большой прогресс в изучении механизмов вирусного канцерогенеза и его особенностей. К ключевым моментам можно отнести открытие мутационного эффекта вирусов и их онкогенов на геном млекопитающих, сделанное Н.И. Шапиро и его коллегами, выявление инсерционного мутагенеза, вызываемого внедрением вирусов в геном, обнаружение влияния, оказываемого продуктами различных вирусных генов на экспрессию клеточных генов, и многое др.

## Вместе с тем постепенно накапливались данные, указывающие на то, что канцерогенез является многоэтапным процессом. Как правило, к злокачественному перерождению приводит каскад событий, затрагивающий множество различных клеточных и вирусных генов. При этом, однако, не всегда понятно, что служит основным сигналом, запускающим данный каскад. Для выяснения молекулярных механизмов онкогенеза в последние годы стали широко использовать такие новые подходы как трансгеноз в сочетании с таргетингом, вычитающую гибридизацию, сравнительную геномную гибридизацию и др. Новые подходы существенно расширили наши представления о данной патологии.

## Таким образом, даже краткий экскурс в историю развития иммунологии позволяет оценить роль этой науки в решении ряда медицинских и биологических проблем. Инфекционная иммунология - прародительница общей иммунологии - стала в настоящее время только ее ветвью.

Литература

1. Александер Психосоматическая медицина. Принципы и применение / Александер, Франц. - М.: Институт общегуманитарных исследований, 2006. – 333c.
2. Нанотехнологии в биологии и медицине: моногр. / ред. Е.В. Шляхто. - М.: СПб: Санкт-Петербург, 2009. - 320 c.
3. Флетчер, Э. Руководство по медицине. Диагностика и терапия / ред. Р. Беркоу, Э. Флетчер. - М.: Мир, 1997. - 936 c.
4. Eulenburg, А. Реальная энциклопедия практической медицины: моногр. / Eulenburg А.. - М.: СПб: Медицина. Журнал Практическая медицина' (В.С. Эттингеръ)', 1994. - 722 c.

**К ВОПРОСУ О РАЗВИТИИ ГЕМОСОРБЦИИ И**

**ТРАНСПЛАНЦИИ В РОССИИ**

*Янгурчина Ю.Г., Янгурчина А.Г.*

*Научный руководитель: д.м.н., профессор Каспрук Л.И.*

*Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Развитие медицины и хирургии в частности привело к тому, что подавляющее большинство заболеваний либо излечимо полностью, либо возможно достижение длительной ремиссии. Однако есть патологические процессы, на определённой стадии которых ни терапевтическими, ни обычными хирургическими методами восстановить нормальные функции органа невозможно. В этой связи встаёт вопрос о замене, пересадке органа из одного организма в другой. Этой проблемой занимается такая наука, как трансплантология. XX и начало XXI столетия ознаменовались большими успехами в области трансплантологии.

Ежегодно в мире выполняется 100 тысяч трансплантаций органов и более 200 тысяч тканей и клеток человека. Из них до 26 тысяч приходится на трансплантации почек, 8-10 тысяч - печени, 2,7-4,5 тысячи - сердца, 1,5 тысячи - легких, 1 тысяча - поджелудочной железы.

Лидером среди государств мира по количеству проводимых трансплантаций являются США: ежегодно американские врачи выполняют 10 тысяч пересадок почек, 4 тысячи - печени, 2 тысячи - сердца.

В России ежегодно производится 4-5 трансплантаций сердца, 5-10 трансплантаций печени, 500-800 трансплантаций почек. Этот показатель в сотни раз ниже потребности в данных операциях.

Согласно исследованию американских экспертов, расчетная потребность количества трансплантаций органов на 1 млн населения в год составляет: почка - 74,5; сердце - 67,4; печень - 59,1; поджелудочная железа - 13,7; легкое - 13,7; комплекс сердце-легкое - 18,5.

Началом истории развития трансплантологии можно считать, момент первого переливания крови. В дальнейшем развитие трансплантологии можно разделит на два периода.

В первом периоде трансплантация предполагала удаление хирургическим путем патологических измененных тканей и органов. Второй период связан с работами удалению органа или ткани утратившего свои функции и пересадке на его место здорового органа.

В 1832 году петербургский акушер Г. Вольф сделал первое в России переливание крови от человека к человеку. Это была роженица, потерявшая большое количество крови. Переливание прошло успешно, и женщина была спасена. Несмотря на то, что первые попытки давали хорошие результаты, метод переливания крови не получил широкого распространения потому, что, во-первых, это была в то время довольно сложная в техническом отношении операция, во-вторых, у ряда больных перелитая кровь вызывала иногда тяжелые осложнения, вплоть до смертельных исходов. Причина их тогда была совершенно не понятна.

Очень важную роль сыграло открытие групп крови, в результате чего были вскрыты причины некоторых посттрансфузионных осложнений, что дало возможность предупредить их. Оказалось, что осложнения при переливании крови животных человеку происходят потому, что сыворотка крови человека склеивает (агглютинирует) и разрушает кровяные тельца животных. Используя эти данные, венский бактериолог К. Ландштейнер (1901 г.) и польский врач Я. Янский (1907 г.) открыли законы склеивания эритроцитов одного человека сывороткой другого и установили, что по свойствам крови все человечество можно разделить на 4 группы.

Основоположником экспериментальной трансплантации жизненноважных органов, в частности сердца, является Алексис Каррель, удостоенный за это в 1912 году Нобелевской премии. Он проводил исследования по трансплантации органов в эксперименте, консервации их и технике наложения сосудистых анастомозов. Он разработал основные принципы консервации донорского органа, его перфузии.

Первую трансплантацию органа от человека к человеку в 1933 году в Херсоне выполнил Ю. Ю. Вороной. От мысли брать орган у живого человека отказался, считая, что «невозможно наносить заведомую инвалидность здоровому человеку, вырезая у него нужный для пересадки орган для проблематичного спасения больного».

Одним из основоположников российской трансплантологии является российский ученый В. П. Демихов, разработавший различные варианты внутригрудной трансплантации сердца без искусственного кровообращения. Он также в 1937 году сформулировал принципы создания искусственного сердца.

Первая трансплантация сердца от человека к человеку вызвала сенсацию и небывалое оживление активности кардиохирургов. Основными причинами неудач были несовершенная иммуносупрессия, сопровождавшаяся отторжением и инфекционными осложнениями. И только в 90х годах прошлого века отмечено значительное улучшение результатов трансплантации сердца.

Трансплантация легких длительное время сдерживалась отсутствием совершенной экспериментальной модели. Техническую возможность трансплантации легкого впервые продемонстрировал В.П. Демихов в 1947 г. С 1963 по 1983 г в общей сложности было выполнено 61 трансплантация легких без особых успехов. Появление циклоспорина в начале 1980 годов позволило на порядок улучшить результаты, что и способствовало значительному увеличению количества этих операций.

В конце 1950-х годов была установлена роль стволовых клеток в кроветворении и доказано, что пересадка костного мозга, содержащего эти клетки позволяет восстановить нормальное кроветворение.

3 декабря 1967 года хирург из ЮАР Кристиан Бернард, пройдя предварительно стажировку у Демихова, впервые в мире осуществил успешную трансплантацию сердца человеку в Кейптауне. Бернард считал Демихова своим учителем, дважды посещал его лабораторию.

В СССР первую пересадку почки сделал акад. Б.В. Петровский в 1965 г., первую пересадку сердца – акад. А.А. Вишневский в 1968 г. Однако лишь акад. В.И. Шумакову в 1986 г. удалось произвести первую удачную пересадку сердца в России, после которой больной прожил длительное время [4, с. 11.]. В настоящее время его имя носит институт трансплантологии и искусственных органов в Москве, считающийся головным учреждением Российской Федерации в области клинической и экспериментальной трансплантологии.

Первую пересадку печени в СССР выполнил проф. А.К. Ерамишанцев в 1990г. Таким образом, человечество, вопреки биологическим законам, отвоевало право больных с неизлечимыми заболеваниями на жизнь путем трансплантации органов и вышло на новые рубежи своей истории.

Вместе с тем в 2011 г. наблюдался качественный прорыв в трансплантологии: впервые в России под руководством С.В. Готье [2, с.8-10] выполнена пересадка комплекса сердце-легкие, значительно увеличилось количество мультиорганных трансплантаций (печени и почки, печени и поджелудочной железы), пересадок поджелудочной железы, стали выполняться операции по трансплантации трахеи и протезированию её биопротезом, модифицированным по технологиям регенеративной медицины.

Наряду с Федеральным научным центром трансплантологии созданы центры по трансплантации в Москве, Санкт-Петербурге, а также межрегиональные центры по трансплантации в крупных городах России (Екатеринбурге, Новосибирске, Краснодаре и др.). Всего в стране функционирует 7 центров по трансплантации сердца, 10 – по трансплантации печени и более 30 центров, которые осуществляют трансплантацию почек.

Развитие трансплантологии поставило перед медициной много этических и правовых вопросов [1, с. 21-24]. Можно смело утверждать, что ее развитие зависит не только от прогресса чисто профессиональных вопросов (разработка техники пересадки, методов профилактики и лечения реакции отторжения и др.), но и от своевременного и правильного решения возникших правовых и этических проблем.

Литература

1. Галеева Г.Р. Актуальные правовые проблемы современной трансплантологии в России / Г.Р. Галеева // Медицинское право. – 2009. – № 4.
2. Готье С.В. Трансплантация печени / С.В. Готье, Б.А. Константинов, О.М. Цирульникова. – М.: Мед. информ. агентство, 2008. – 246 с.
3. Кузив Т.Искусственное сердце – уже реальность. Но проблема трансплантации органов по-прежнему остается: интервью с акад. РАМН С.В. Готье / Т. Кузив // Мед. газ. – 2012. – № 28.
4. Переливание крови. История развития трансфузиологии: [Электронный ресурс]. URL.: http://meduniver.com/Medical/Xirurgia/816.html.

**ФЕНОМЕН НЕРАВЕНСТВА:**

**ОПЫТ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОГО АНАЛИЗА**

*Беляева А.И.*

*Научный руководитель: к. полит. н. Вялых В.В.*

*Кафедра философии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Многие из современных наук объединяет одна задача: «Узнать – чтобы понять, понять – чтобы предвидеть». XXI век на наших глазах становится эпохой, которая ставит перед разными науками множество вопросов. Один из них: почему мир, природа ,а вместе с ними и человек развиваются столь неравномерно? Ответ на него одновременно прост ,и сложен: в основе происходящих в мире процессов лежит неравенство – социальное, биологическое, информационное и, конечно же, генетическое.

Если вдуматься в суть обозначенной проблемы, то неравенство заложено в самой природе человека, а потому сама идея всеобщего равенства может показаться нам утопией, или опасным заблуждением. Актуальность данной темы заключается в том, что неравенство сегодня становится причиной не только глобальных социальных потрясений, но и серьезных открытий в науке. Одним из таких является феномен генетического неравенства, на котором в ходе выступления я остановлюсь подробнее.

Целью данной статьи является анализ неравенства с позиции философии и генетики. Это важно потому, что понимание неравенства в рамках междисциплинарного подхода способно хотя бы немного сократить его масштабы и лучше понять его возможные последствия для жизни человека и развития мира.

Проблема неравенства была в центре внимания философии ещё в древности. Так, например, социальное неравенство было предметом спора между двумя античными философами - Платоном и Аристотелем. И если Платон отстаивал идею всеобщего равенства, то Аристотель утверждал, что оно невозможно, так как противоречит самой природе человека. Тема неравенства так же была одной из основных в творчестве французского философа Ж.Ж. Руссо. В книге «Трактат о неравенстве» он выделял два его вида: врожденное (биологическое) и приобретенное (социальное). Первое Руссо считал непреодолимым для человека. От второго, по мнению философа, человек был способен избавиться в результате своей социальной и биологической эволюции.

Анализом проблемы неравенства с позиции философской антропологии занимался немецкий ученый и географ Ф. Ратцель. В книге «Антропогеография» он утверждал, что географическое положение и климатические условия сами по себе создают для человека ситуацию неравенства, тем самым побуждая его проявлять лучшие или худшие качества своей натуры. Общим для всех этих взглядов было осознание неравенства как важного условия прогрессивного развития общества и человека. Идея всеобщего равенства при этом воспринималась либо как утопическая, либо как заблуждение.

В ХХ веке была предпринята одна из наиболее масштабных и трагических попыток решения проблемы неравенства при помощи такого метода как евгеника. Она использовалась в нацистской Германии времен Адольфа Гитлера для создания «арийской расы». Она представляет собой социально-биологическую селекцию, главная задача которой – улучшение конкретных качественных свойств определённой популяции, а так же отбор наиболее ценных для общества признаков. Это может быть улучшение здоровья нации, или «разбавление» генофонда популяции за счёт внесения в неё новых генов. Так же евгеника рассматривала расовую принадлежность, как один из факторов естественного отбора человека. Например, представители негроидной расы обладают значительной физической силой, но для них характерно такое заболевание как серповидно-клеточная анемия; монголоидная раса наиболее устойчива к ВИЧ-инфекции, в отличие от европейцев; сами европейцы же считались выносливым народом, но в то же время были многочисленными носителями гена муковисцидоза. Наряду с позитивной евгеникой существовала негативная. Под негативной евгеникой понимали ту её часть, которая ставила своей целью освобождение человечества от лиц с наследственной патологией путём насильственной стерилизации.

И по сей день евгеника вызывает много вопросов и критических обсуждений, её научный статус во многом выглядит сомнительным.

. XXI век характеризуется возникновением новых форм социального неравенства, которые активно осмысляются представителями общественных наук. Тем не менее в современном мире существуют возможности генетической дискриминации. Сам этот термин введён в 1992 году генетиками П.Биллингсом и М.Матовицем и изначально подразумевал предубеждение и вытекающие из него действия против здорового человека, чья ДНК содержит гены того или иного заболевания. Сама дискриминация имеет как положительные, так и отрицательные аспекты. С одной стороны, именно методом дискриминации с помощью генетического тестирования могут предопределить склонность человека к той или иной сфере деятельности, избежав в дальнейшем неблагоприятных для самого субъекта исходов. Наиболее распространена эта практика в Китае: именно с помощью генетических технологий отбирались спортсмены на Олимпиаду-2008. Есть и другая сторона медали: годы борьбы за достижения в той области, где природные способности соперников лучше, – личная драма. Чем больше наука входит в спорт, тем больше меняется его сущность: теперь многое зависит не от уровня подготовки атлета и работы его тренеров, а от его генетической полноценности, восприимчивости его организма к тем или иным препаратам, помогающим улучшить спортивные показатели. Все это приводит к серьезному противоречию между качеством достижений спортсмена и этическим аспектом его карьеры. Это сложнейшая дилемма, от решения которой будет зависеть то, как будет развиваться спорт в XXI веке.

Стоит так же обратиться к социальным различиям , вызванных открытием в биологии и медицине. Всеобщая декларация о геноме была принята в 1997 году, ключевой принцип гласил : «по признаку генетических характеристик никто не может подвергаться дискриминаци, цели или результаты которой представляют собой посягательство на права человека, основные свободы и человеческое достоинство».

Проблема борьбы с генетическим неравенством и её возможных последствий вызывает большой интерес и в искусстве. Примером может служить антиутопическая драма «Гаттака». По сюжету в недалеком будущем в основу стратификации и в некотором роде дискриминации положен способ происхождения – естественный или искусственный. В фильме убедительно показано, как люди, рождённые с помощью технологий, обретают более высокое положение в обществе, занимаются более престижной работой и т.д. В данной ситуации на место естественного отбора приходит отбор искусственный, инициированный человеком.

В науке существует множество теорий, объясняющих проблему генетического неравенства, но я хочу остановиться на двух из них: теория патологии и социальный конструктивизм. Представители первой Г.Спенсер,У.Самнер и А.Смолл видели причины социального неравенства в индивидуальной человеческой природе, наличии в обществе значительного числа «неполноценных» индивидов. Так, основным законом социального развития являлся закон выживания наиболее приспособленных обществ. Подход социального конструкционизма объяснял проблему неравенства в обществе несколько иначе. Его представителями являлись Питер Бергер и Томас Лукман. В качестве источника проблемы они выделяли социокультурные факторы. Допустим, различия между мужчиной и женщиной, старыми и молодыми, стали обусловливаться как результат неравного распределения власти в обществе, распространения особых идеологий**.** В 2008 году в США был принят закон о недискриминации по генетической информации.  Этот закон предусматривает защиту генетической информации, запрещает генетическую дискриминацию при медицинском страховании и найме на работу и при этом не касается других сфер жизни.

Результатом «генетизации» общества является распространение и проникновение генетической логики в описание и объяснение не только болезней, но и различных социальных практик. Именно с точки зрения генетики стали рассматриваться такие понятия, как аддиктивное поведение, нездоровый образ жизни. И именно вследствие изучения этих понятий было выяснено, что принятие субъектом тех или иных решений обусловлено его генами. Поэтому генетическую дискриминацию отнесли к одной из форм супремасизма – убеждения, что определённые раса, вид, наследственность, пол превосходит другие и даёт право тем, кто отождествляется с ними, доминировать и управлять теми, кто не отождествляется.

Одним из зарубежных учёных, исследовавших проблему неравенства в социуме, является Ричард Докинз. В своей книге «Эгоистичный ген» он рассматривал с разных позиций роль женщины и мужчины в современном обществе. Согласно Докинзу, теоретически самец может оплодотворить до 100 самок, поэтому было выдвинуто предположение, что генетический материал самцов рассматривается как менее ценный, нежели ген материал самки. Следовательно, с точки зрения «блага для вида» «лишние» самцы рассматриваются как социальные паразиты. Таким образом, в ходе этого эксперимента выявляется диалектика генетического неравенства, т.к. с одной стороны неравенство может служить мотивацией для развития отдельно взятого индивида и общества в целом, а с другой – причиной конфликтов внутри общества, как следствия невозможности преодолеть это неравенство.

На основании вышесказанного можно сделать несколько выводов. Природа неравенства является биологической и социальной, его последствия проявляются для человека как живого организма, и как для члена общества. Философское восприятие обозначенной проблемы носит диалектический характер: с одной стороны, неравенство побуждает человека совершать поступки ,способные улучшить его жизнь. С другой стороны, невозможность преодолеть неравенство служит причиной неуверенности человека в себе, страхам и депрессии, что приводит к разного рода конфликтам внутри общества.

С точки зрения биологии проблема неравенства не менее актуальна, характер ее проявления зависит от многих факторов. Это объясняется тем, что геном человека в силу его эволюционного характера подвержен мутациям. Он содержит в себе возможности, которые проявляются различным образом в зависимости от природной и социальной среды каждого человека: состояния здоровья, условий жизни, питания и образования.

Изучение данной проблемы средствами философии и биологии обусловлено тем, что социальные и биологические аспекты неравенства взаимосвязаны друг с другом. Это проявляется в том, что стремление преодолеть биологическое (генетическое) неравенство зачастую приводит к негативным социальным последствиям, среди которых можно выделить концепцию евгеники и различные теории расового превосходства. Одним из способов избежать этого может стать осознание неравенства как ключевой характеристики человеческого существования как социального и биологического существа. Поэтому, формирование научно корректного восприятия феномена неравенства в сознании человека является одной из главных причин обращения философии и биологии к данной проблеме.

**ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**

*Медетова Г. А.*

*Научные руководители: доцент, к.б.н. Шостак Е.И., доцент,*

*к.б.н. Павлова М.М.*

## *Кафедра химии и фармацевтической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Особое место в молекулярной биологии занимают нуклеиновые кислоты. Открытия в этой области позволили расшифровать механизм наследственности. Данные открытия принадлежат к величайшим достижениям науки 19 века.

В 1847 г из экстракта мышц быка было выделено вещество, которое получило название «инозиновая кислота». Это соединение стало первым изученным нуклеотидом. В течение последующих десятилетий были установлены детали его химического строения. В частности, было показано, что инозиновая кислота является рибозид-5'-фосфатом, и содержит *N*-гликозидную связь.

Открытие нуклеиновых кислот напрямую связано с именем врача из Швейцарии Фридриха Мишера. Изучая в Тюбингенской физиолого-химической лаборатории химический состав лейкоцитов в гное, он вывел вещество с необычными свойствами по сравнению со всеми известными на тот момент органическими соединениями.

Фридрих Мишер предположил, что это вещество содержится в ядре клетки. Для данного времени не было известно ни одного ученного, кто бы пытался выделить ядра. Поэтому Мишер начал более тщательные эксперименты по выделению клеточных ядер. В итоге он снова выделил это новое вещество. Оно не давало качественные реакции на белок, следовательно, таковым не являлось, также как и фосфолипидом. И Мишер сделал вывод о том, что оно относится к новому классу биохимических соединений, которое он назвал «нуклеин» (лат. «нуклеус» ‒ ядро).

В дальнейшем Фридрих Мишер использовал молоки рейнского лосося для своих исследований. Данные исследования показали следующие результаты: удалось разделить нуклеин на белок (протамин), необходимый для стабилизации молекулы – полимера и кислотный остаток. Оставшийся от белка нуклеин был назван Альбрехтом Косселем в 1889 году нуклеиновой кислотой.

Нуклеи́новая кислота  ‒ высокомолекулярное органическое соединение, биополимер, образованный остатками нуклеотидов. Соединению была приписана брутто-формула C29H49N9O22P3. При этом выделенные нуклеиновые кислоты были соединены с белками, образуя нуклеопротеиды.

По завершению 30-тых годов 20 века химический состав НК был уточнен, а кроме того, установлено, что существуют два типа кислот – дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК), которые входят в клеточный состав абсолютно всех живых существ на планете.

В индивидуальном состоянии нуклеиновые кислоты были получены Рихардом Альтманом в 1889 году из клеток дрожжей. Также в 1934 году в одном из научных журналов, затем в 1935 году в "Ученых записках МГУ"  появились статьи А.Р. Кизеля и А.Н. Белозерского, в которых доказывалось присутствие в растительных клетках тимонуклеиновой кислоты.

А.Н.Белозерскому первому удалось выделить и идентифицировать тимин сначала из проростков семян гороха, а затем из семян других бобовых. Из семян конского каштана он выделил саму ДНК. Впоследствии наличие РНК и ДНК было подтверждено в почках липы, луковицах лука, зародышах пшеницы. Следовательно, было установлено, что нуклеиновые кислоты содержатся в клетках всех живых организмов.

Изучая бактерии, А.Н. Белозерский отметил, что в молодых бактериальных клетках одного и того же вида может содержаться большее количество РНК, чем в старых. Андрей Николаевич показал новую для того времени зависимость (единовременно с Т. Касперссоном и Ж. Браше) ‒ взаимосвязь количества нуклеиновых кислот с интенсивностью биосинтеза белка. Таким образом, в результате исследований с 1939 по 1947 годы А.Н. Белозерским были получена первая в мировой научной литературе информация о содержании нуклеиновых кислот у различных видов бактерий.

Закономерности количественного содержания азотистых оснований в составе НК, установленные впервые Эрвином Чаргаффом в 1949 году и названные правилами Чаргаффа:

А) Сумма пиримидиновых нуклеотидов равна сумме пуриновых;

Б) Содержание тимина равно содержанию аденина, а содержание гуанина равно содержанию цитозина;

В) Количество 6-аминогрупп равно количеству 6-кетогрупп;

Г) Отношение А+Т \ Г+Ц видоспецифично.

Правила Чаргаффа использовали Френсис Крик и Джеймс Уотсон при определении структуры ДНК в виде двойной спирали. Чаргафф доказал, что ДНК обладает видовой специфичностью, и отверг гипотезы о существовании многих разновидностей ДНК и открыта первичная структура нуклеиновых кислот в 1949 году. Под первичной структурой нуклеиновых кислот понимают порядок, последовательность расположения мононуклеотидов в одной полинуклеотидной цепи ДНК и РНК, которая формируется с помощью 3′-5′-фосфодиэфирной связью.

Открытие двуспиральной структуры произошло после того, как Морис Уилкинс тайно показал Уотсону и Крику рентгеновский снимок молекулы ДНК, сделанный его сотрудницей Розалинд Франклин. На этом снимке они четко увидели признаки двойной спирали и направились в лабораторию, чтобы проверить все на объемной модели.

Важным результатом целенаправленного изучения нуклеиновых кислот было создание Дж. Уотсоном и Ф. Криком (1953) пространственной модели молекулы ДНК. Статья об этом вышла в журнале Nature 1953 года. Статья заканчивалась предположением о том, что открытие структуры ДНК может объяснить механизмы копирования генетического материала. Также ученые знали, что именно ДНК отвечает за хранение и передачу по наследству генетической информации, похожей на текст, написанный алфавитом из четырех букв. Неизвестными оставались пространственная структура этой молекулы и механизмы, по которым ДНК передается по наследству от клетки к клетке и от организма к организму.

Дальнейшие исследования показали, что спираль ДНК соединяется с группами из восьми гистоновых белков, в виде октамера, в состав которого входит по две молекулы белков-гистонов Н2а, Н2в, Н3, Н4. Это называется «нуклеосомный кор». Причем двунитевая молекула как бы накручивается на октамер и протяженность этого участка ДНК составляет приблизительно 146 пар нуклеотидов, что образует 1,75 оборота. Эти агрегаты называют нуклеосомами. Нуклеосома – структурно-функциональная единица хроматина – это и есть третичная структура ДНК.

В 1960 году Маршалл Ниренберг совместно с Дж. Генрих Маттеи начал изучение нуклеотидов. Они пытались создать так называемую «бесклеточную среду», которая позволила бы им выяснить, как же осуществляются многоступенчатые механизмы РНК без учета нормальных биологических процессов клетки, которые могли бы помешать молекулярной активности.

В августе 1961 года Ниренберг и Маттеи опубликовали свою, теперь уже классическую работу: «Зависимость бесклеточного синтеза белка в E. Coli от происхождения природного или синтетического полирибонуклеотидов», в Трудах Национальной академии наук.

В начале 1960-х годов синтезировал полиуредиловую кислоту (молекулу РНК, содержащую только один нуклеотид ‒ урацил) и использовал её в качестве матричной РНК. Вслед за этим открытием были расшифрованы кодоны для АМК лизина, пролина. В 1966 году Ниренберг расшифровал все кодоны РНК для всех двадцати природных аминокислот.

Литература

1. Биохимия: учебное пособие / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. – М.: Мед. лит., 2010.
2. Биология: учебник для студентов медицинских специальностей высших учебных заведений / В.Н. Ярыгин; под ред. В.Н. Ярыгина. - 5-е изд., испр. и доп. – М.: Высш.шк., 2003.

**CRISPR-Cas система в лицах**

*Олейник Л.С., Лобжанидзе Д.А.*

*Научный руководитель: к.б.н., ст. преподаватель Л.В. Гирина*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Первый локус CRISPR был обнаружен у бактерии [Escherichia coli](https://ru.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli) в 1987 году группой [японских](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AF%D0%BF%D0%BE%D0%BD%D0%B8%D1%8F) учёных во главе с [Ёсидзуми Исино](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%98%D1%81%D0%B8%D0%BD%D0%BE,_%D0%81%D1%81%D0%B8%D0%B4%D0%B7%D1%83%D0%BC%D0%B8&action=edit&redlink=1). Они заметили в геноме этой бактерии повторяющиеся элементы, разделённые неповторяющимися последовательностями ([спейсерами](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BF%D0%B5%D0%B9%D1%81%D0%B5%D1%80_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29)); впрочем, учёные не придали своему наблюдению большого значения. Масштабное изучение CRISPR-системы начал [испанский](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D1%81%D0%BF%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%8F) исследователь [Франсиско Мохика](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%9C%D0%BE%D1%85%D0%B8%D0%BA%D0%B0,_%D0%A4%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%B8%D1%81%D0%BA%D0%BE_%D0%A5%D1%83%D0%B0%D0%BD_%D0%9C%D0%B0%D1%80%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%B5%D1%81&action=edit&redlink=1), в 1993 году обнаруживший повторяющиеся последовательности, разделённые промежутками, в геноме археи Haloferax mediterranei. Он обратил внимание, что повторы в геномах этой археи и E. coli очень похожи по структуре, однако не имеют ничего общего в [последовательностях нуклеотидов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%BE%D1%82%D0%B8%D0%B4%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D0%BF%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C). По предположению Мохика, столь похожие по структуре повторы, имеющиеся у систематически весьма далёких групп [прокариот](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%BE%D0%BA%D0%B0%D1%80%D0%B8%D0%BE%D1%82%D1%8B), должны выполнять какую-то очень важную функцию. Первоначально он назвал новый класс повторов «короткими повторами, регулярно разделёнными промежутками» ([англ.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B3%D0%BB%D0%B8%D0%B9%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *Short regularly spaced repeats, SRSRs*), однако впоследствии, по его предложению, это название было заменено на «короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами» ([англ.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B3%D0%BB%D0%B8%D0%B9%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *Clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR*). Мохика продолжил поиски CRISPR в геномах других микробов, и к 2000 году он обнаружил их у 20 микроорганизмов, в том числе чумной палочки [Yersinia pestis](https://ru.wikipedia.org/wiki/Yersinia_pestis) и других [патогенов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD).

В [Санта-Пола](http://www.eurotourguide.com/en/costa-blanca-south/travel-guide/santa-pola) 1989 году докторант [Университета Аликонте](https://en.wikipedia.org/wiki/University_of_Alicante) [Франциско Мохика](https://es.wikipedia.org/wiki/Francisco_Juan_Mart%C3%ADnez_Mojica) в  геноме Haloferax mediterranei  обнаружил группы почти совершенных и почти палиндромных прямых 30-нуклеотидных повторов, разделенных спейсерами — уникальными, неповторяющимися участками примерно такой же длины. Он сопоставил кластеры с устроенными подобно повторам в геноме Escherichia coli.

Первая публикация статьи об обнаружении нового класса прокариотических повторов (SRSR) в 1995 году повлекла за собой выявление тех же повторов у массы архей и бактерий, включая возбудителей опасных инфекций — [Mycobacterium tuberculosis](https://ru.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_tuberculosis) и [Yersiniapestis](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A7%D1%83%D0%BC%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D0%BF%D0%B0%D0%BB%D0%BE%D1%87%D0%BA%D0%B0).

Затем, в 2002 году исследователи из Голландии заметили, что к CRISPR всегда прилегает однотипная группа генов. За что эти гены и получили название  - cas (CRISPR-associated genes). Однако их функция осталось не известной.

В 2003 году Мохика решил «[пробластить](https://ru.wikipedia.org/wiki/BLAST)» спейсеры — поискать в мировой базе последовательностей ДНК похожие фрагменты и обнаружил совпадение одного из спейсеров CRISPR штамма E. coli, устойчивого к [фагу](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BE%D1%84%D0%B0%D0%B3%D0%B8) Р1, с ДНК этого сáмого фага. В результате 88 спейсеров имели схожесть, и большинство — среди фагов и конъюгативных [плазмид](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BB%D0%B0%D0%B7%D0%BC%D0%B8%D0%B4%D1%8B). Предполагалось, что CRISPR кодируют инструкции для реакций адаптивного (приобретенного) иммунитета, защищающих прокариот от инфекций.

2004–2005  две научные группы, пытались опубликовать свои идеи относительно функций CRISPR - системы. [Кристин Порсель](https://scholar.google.fr/citations?user=g4ObWCAAAAAJ&hl=fr) и [Жиль Вернью](https://scholar.google.fr/citations?user=_u3O3k4AAAAJ&hl=fr) типировали штаммы чумной бациллы по ДНК-повторам. Было доказано, что близкородственные штаммы могут различаться лишь CRISPR-локусами и что новые спейсеры, гомологичные фаговым ДНК, встраиваются в один и тот же конец локуса. То же самое, но относительно стрептококковых CRISPR, утверждал [Александр Болотин](https://www.researchgate.net/profile/Alexander_Bolotin) из [Французского национального института сельскохозяйственных исследований](http://institut.inra.fr/en). И он первым предположил, как именно работает эта иммунная система. Несмотря на обнаружение систем CRISPR-Cas у самых разнообразных прокариот, о функциях этой системы практически ничего не было известно вплоть до 2005 года. В 2005 году Мохика и его коллеги опубликовали результаты своих новых исследований, в которых было установлено, что спейсеры соответствуют последовательностям из геномов бактериофагов, а также участкам плазмид. Они также обнаружили, что штаммы E. coli, чьи локусы CRISPR содержат спейсер, соответствующий [фагу Р1](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%91%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BE%D1%84%D0%B0%D0%B3_P1&action=edit&redlink=1), устойчивы к этому фагу, и сделали вывод о связи локусов CRISPR с [адаптивным иммунитетом](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%B1%D1%80%D0%B5%D1%82%D1%91%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%B8%D0%BC%D0%BC%D1%83%D0%BD%D0%B8%D1%82%D0%B5%D1%82) прокариот. А к 2005 году группа Кунина вычислила иммунное предназначение CRISPR-Cas-системы. Предположила в качестве иммунного механизма [РНК-интерференцию](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%9D%D0%9A-%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%B5%D1%80%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BD%D1%86%D0%B8%D1%8F).

Группа [Филиппа Хорвата](https://en.wikipedia.org/wiki/Philippe_Horvath) выяснила функции белков Cas7 и Cas9 в адаптивном бактериальном иммунитете.

Голландец [Джон ван дер Ост](https://www.researchgate.net/profile/John_Oost) описал Cas-белки комплекса Cascade (CRISPR-система I типа) и их участие в нарезании рабочих транскриптов CRISPR-кассеты (crРНК). В 2008 году он же впервые экспериментально «запрограммировал» CRISPR-ситему на уничтожение конкретного фага — «привил» E. coli от [фага λ](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B0%D0%B3_%D0%BB%D1%8F%D0%BC%D0%B1%D0%B4%D0%B0). Это же подтвердили [Марраффини](http://marraffini.rockefeller.edu/people.html) и [Зонтхаймер](http://www.umassmed.edu/sontheimerlab/people/), предположившие, что CRISPR — это программируемые нуклеазные системы, которыми можно препарировать нужные участки ДНК in vitro и, возможно, даже в эукариотических клетках.

В 2010–2011 годах  микробиологи [Эммануэль Шарпантье](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A8%D0%B0%D1%80%D0%BF%D0%B5%D0%BD%D1%82%D1%8C%D0%B5,_%D0%AD%D0%BC%D0%BC%D0%B0%D0%BD%D1%83%D1%8D%D0%BB%D1%8C) и [Йорг Фогель](https://en.wikipedia.org/wiki/J%C3%B6rg_Vogel), изучающие транскриптомы патогенов, включая [Streptococcus pyogenes](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/7704), обнаружили недостающее звено в CRISPR-системе II типа — напарницу crРНК, которую назвали tracrРНК (trans-activating CRISPR RNA). Они показали, что эта молекула, комплементарная повторам CRISPR и закодированная в непосредственной близости от локуса, нужна для процессинга («созревания») crРНК.

В 2012 году две группы (Шикшниса, Эммануэля Шарпантье и [Дженнифер Дудны](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D1%83%D0%B4%D0%BD%D0%B0,_%D0%94%D0%B6%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%B8%D1%84%D0%B5%D1%80)) доложили о потенциале простейшей системы CRISPR-Cas9 для РНК-программируемого редактирования генома.

Последующие года происходила разработка методов CRISPR и применение этого метода в различных группах [организмов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B7%D0%BC). В апреле 2015 года группа учёных из Китая опубликовала результаты своего исследования, в котором с помощью CRISPR-Cas9 были отредактированы геномы [человеческих](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A7%D0%B5%D0%BB%D0%BE%D0%B2%D0%B5%D0%BA) эмбрионов. Однако точность редактирования в этом эксперименте была очень низка, а сам эксперимент был неоднозначно воспринят научным сообществом. В начале 2016 года учёные из США сообщили, что смогли понизить количество ошибок при работе CRISPR-Cas9 почти до нуля. К настоящему моменту CRISPR считают наиболее важным технологическим новшеством в науках о жизни со времён изобретения [полимеразной цепной реакции](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%BC%D0%B5%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D1%86%D0%B5%D0%BF%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D1%80%D0%B5%D0%B0%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F) (ПЦР), открытой тремя десятилетиями ранее. Также в 2015 коллективы Чжана, ван дер Оста и Кунина описали работу «минимального» типа природных CRISPR-систем — CRISPR-Cpf1 (тип V-А).

Журнал Science в конце прошлого года опубликовал результаты изучения другой, тоже двухкомпонентной, CRISPR-системы VI типа — с эффекторным белком C2c2, атакующим не ДНК, а исключительно РНК. Среди авторов — Северинов, Кунин, Чжан и сам Ландер.

Таким образом, открытие CRISPR-системы это плод многолетних коллективных усилий, где вклады участников не просто суммируются, а в синергизме рождают нечто большее.

Литература

1. Lander E.S. (2016). [The Heroes of CRISPR](http://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(15)01705-5). Cell. 164 (1–2), 18–28;
2. Jansen R., Embden J.D., Gaastra W., Schouls L.M. (2002). [Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2958.2002.02839.x/full). Mol. Microbiol. 43 (6), 1565–1575;
3. Ершов А. (2016). [«Просто это очень красиво». Константин Северинов о новом типе CRISPR-систем и последних трендах в редактировании геномов](https://nplus1.ru/material/2016/06/04/severinov). Сайт N+1;
4. Makarova K.S., Grishin N.V., Shabalina S.A., Wolf Y.I., Koonin E.V. (2006). [A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1462988/). Biol. Direct. 1, 7
5. Биомолекула: CRISPR-эпопея и ее герои. http://biomolecula.ru/content/2077

**ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕАЛОГИИ**

*Осаулко Д.Ю.*

*Научный руководитель – к.и.н. доц. Г.Б. Брагиров*

*Кафедра истории Отечества*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В конце XX века миллионы людей из разных стран увлеклись выяснением собственного происхождения. Подобное явление послужило причиной появления новой науки – молекулярной или генетической генеалогии. Цель данной работы: изучить историю возникновения и развития молекулярной генеалогии.

Долгое время генетика и генеалогия развивались отдельно друг от друга, что было связано с принадлежностью данных наук к далеким друг от друга областям знания: генетика – раздел биологии, генеалогия – историческая дисциплина. Первые попытки объединить знания двух наук были предприняты отечественными генетиками Н.К. Кольцовым и Ю.А. Филипченко в 1920-ых годах. Они исследовали вопрос о наследовании таланта в семьях великих людей, анализируя их родословные с привлечением генетических понятий и методов. К сожалению, все исследования по данному направлению вскоре были запрещены государством.

Революционный сдвиг в данной области произошел после открытия молекулы ДНК, и после того, как было доказано, что каждый человек имеет уникальные молекулы ДНК, обладающие неповторимой последовательностью нуклеотидов. В 1980-х годах появился метод идентификации генетического кода получивший название: «Дактилоскопия ДНК». Изначально этот метод использовали только криминалисты для идентификации личности преступников. Однако к концу 1990-ых в западных странах появились ученые-энтузиасты, которые создавали частные лаборатории, занимающиеся составлением генеалогического дерева на основе данных полученных при дактилоскопии ДНК. За основу исследования брался не генотип пробанда, а только генная последовательность митохондриальной ДНК (для изучения женской линии) или Y-хромосомы (для изучения мужской линии). Первое генетико-генеалогическое исследование было проведено в 1997 году, в ходе которого было доказано, что у некоторых жителей английского села Чэддер митохондриальная ДНК полностью аналогична таковой чеддарского человека, жившего примерно 9 тыс. лет назад.

Сегодня в США и европейских странах существует большое количество частных фирм, на коммерческой основе занимающихся составлением генеалогических древ клиентов. Среди них можно выделить наиболее успешные: «Family Tree DNA», «Oxford Ancestors», «Relative Genetics» и «SMGF». Сейчас для составления генетико-генеалогического древа помимо митохондриальной ДНК и Y-хромосомы, так же используется более 250 генов (маркеров), расположенных в разных хромосомах.

Вывод: молекулярная генеалогия появилась в результате объединения методов двух наук: генетики и генеалогии. Представители медицинских наук проявляют малый интерес к новой науке, поэтому её развитие происходит за счет денежных вложений инвесторов и клиентов. Генетическая генеалогия позволяет с высокой точностью составить родословную пробанда, а также определить степень родства между конкретными лицами.

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА**

**НОВЫЕ ФУНКЦИИ СТАРОЙ МОЛЕКУЛЫ**

*Аметова Э.И.*

*Научный руководитель: к.м.н., доцент Афонина С.Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Согласно центральной догме биологии, РНК (а именно матричная РНК, мРНК) служит переносчиком информации между ДНК и белком.На этом функции раннее РНК считались исчерпанными. Всплеск нового интереса к

РНК был вызван в 1989г. работами Альтмана С. и Чеха Т., которые открыли  каталитическую функцию этой нуклеиновой кислоты и ее способность удалять из своей структуры кодирующие участки.

Открытие ферментов  РНК перевернуло представление о том,что эта молекула может делать и чего не может. В 1986г. еще один нобелевский лауреат У. Гилберт впервые произнес слова «мир РНК», подразумевая наш мир на самых ранних стадиях эволюции, когда не было еще ни ДНК, ни белков, и за «выживание» конкурировали между собой лишь самовоспроизводящиеся каталитические молекулы РНК.

С тех пор в пользу этой смелой гипотезы находятся все новые и новые подтверждения. Число известных ферментов РНК -рибозимов как природных, так и искусственных, измеряется в настоящее время уже сотнями, а роль РНК проявляется во всех новых и новых биологических системах. Случаев, когда РНК выполняет каталитическую функцию, находясь в комплексе с белками, в настоящее время известно очень много. Один самых красивых и важных примеров такого комплекса -фермент теломераза, существование которого сначала «на кончике пера» предсказал советский ученый А.М. Оловников, а затем его открыли американские биологи Э. Блэкбери и К. Грейдер, удостоенные за это Нобелевской премии.

Впервые репликация теломеров была исследована Блэкбери и Грейдер у инфузории Tetrahymena, у которой в ядре соматической клетки имеется много тысяч линейных минихромосом. Теломеры состоят из большого числа консервативных коротких гексамерных повторов; у человека- TTAGGG, у Tetrahymena TTGGGG. В активно делящихся клетках присутствует специальный фермент для репликации концов ДНК-теломераза,которая у инфузории содержит небольшую молекулу РНК имеющая последовательность ААССССААС.

Процесс сплайсинга (удаления из мРНКинтронов) помог открытьрибозимы для сплайсинга в той же инфузории Tetrahymena. Так или иначе, но у большинства организмов, в том числе и человека, сплайсингом занимаются не рибосомы в чистом виде, а так называемые малые ядерные рибонуклеиновые частицы, представляющие собой комплексы РНК с белками, в которых РНК играет и структурную, и каталитическую роль.

В начале 2000-х годов были открыты и так называемые рибосвитчи-РНК-переключатели биохимических процессов. Это участки молекул мРНК, которые сами ничего не кодируют, но могут, связывая какую-то сигнальную молекулу в клетке, менять свою структуру и тем самым влиять на процесс транскрипции.

Некодирующие РНК часто выступают как регуляторы активности генов по принципу комплементарности.  Этот феномен РНК интерференции был обнаружен в 1998г. американцами К. Мелло и Э. Файером. Усилиями многих ученых был очень скоро установлен механизм этого процесса. Как правило при наличии точного комплементарного соответствия мРНК и коротких интерферирующих РНК(киРНК) происходит деградация мРНК, а при неполном комплементарном соответствии трансляции мРНК просто блокируется. РНК- интерференция может также регулировать структуру и уровень конденсации хроматина.

При изучении механизм РНК- интерференции стало понятно, что её можно использовать для подавления экспрессии практически любого гена в клетке. Это свойство стали применять в лабораторной практике: подавление экспрессии гена при помощи РНК- интерференции или нокдаун гена.

На основе РНК-интерференции начали разрабатывать терапевтические препараты. Первыми в клинических испытаниях стали исследовать интерферирующие РНК для лечения процессов дегенерации сетчаткиглаза и лечения респираторных инфекции, вызывающих заболевания дыхательных путей у новорожденных и маленьких детей. В настоящее время готовятся к клиническим испытаниям и антивирусные РНК против герпеса, гепатитов А и В, вируса иммунодефицита человека, гриппа, кори и даже онкологических заболеваний.

В начале 2000-х гг. появились сведения омикроРНК, которые образуются в клетке из РНК таким же способом, как и искусственно внесенные двуцепочечные РНК. С тех пор были открыты сотни микроРНК: по всей видимости, они входят в число важнейших регуляторов активности генов человека.

Все это свидетельствует о том, что РНК - это важная молекула жизни. Без ДНК и белков жизнь также была бы невозможна, а «мир РНК», скорее всего, давным-давно кончился бы, если бы природа не придумала современное разделение функций ДНК, РНК и белком.

Литература

1. Власов В. В. Мир РНК: вчера и сегодня / В.В. Власов, П.Е.Воробьев // Наука из первых рук - 2012. - № 3.- (45).- С. 40–49.
2. Горман К. Революция в мире РНК / К. Горман, Марон Д.Файн // В мире науки- 2014.- № 6.- С. 70–77.
3. Григорович С. Вначале была РНК? В поисках молекулы первожизни / С.Григорович // Наука и жизнь. -2004.- № 2.

**СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ: МОЖНО ЛИ ВМЕШИВАТЬСЯ В ГЕНОМ**

*Чурилова А. А., Харатян А. Г.*

*Научный руководитель: к.б.н., ст. преподаватель. Винокурова Н.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

За последнее столетие наука и медицина развивались огромными темпами. В конце 2010 года, в американском Институте Крейга Вентера была создана первая бактерия с совершенно синтетическим геномом. Теперь от исследователей многие в буквальном смысле ждут чудес, надеются, что они смогут решить такие глобальные проблемы, как голод и истощение природных ресурсов.

Появление первой синтетической бактерии буквально взорвало научный мир. И не удивительно - Вентеру и его коллегам удалось то, что раньше считалось невозможным - создать из мертвой материи жизнь. А это невероятный труд. Ведь ещё и до Вентера ученые пытались создать синтетическую бактерию, но совершили ошибку в молекуле, и она не ожила. А в этом геноме было 1,08 млн пар нуклеотидных оснований. Можно только представить какую кропотливую работу проделали ученые.

Синтетическая биология крайне перспективное направление в генной инженерии. Если в основном ученые занимаются уже существующими ДНК животных и растений, присваивая им необычные и новые свойства, то синтетическая биология создает принципиально новые живые системы. Ближайшей целью ученыхданной отрасли науки является создание организма с минимальным геномом, к которому можно будет добавлять новые участки с определенными нужными качествами. Будут получаться микроорганизмы, например, продуцирующие в процессе обмена веществ спирт или молекулы полимеров, из которых потом можно делать пластмассу. Таким образом, синтетическая биология стирает грань между жизнью и машинами, программируемыми на определенную деятельность [3].

До сих пор биологи-синтетики создавали искусственные генетические системы в основном в экспериментальных и демонстрационных целях, но некоторые лаборатории уже пытаются создавать такие системы для практической деятельности. Мартин Фуссенгери его коллеги из ЕТН в Цюрихе перешли от бактерий к млекопитающим. В прошлом году они снабдили клетки хомяка целой сетью генов, выполняющей функцию „регулятора громкости“: при добавлении в среду небольшого количества антибиотиков выходной сигнал синтетических генов становился слабым, средним или сильным. Такой способ контроля экспрессии генов может найти применение в генной терапии или при создании белковых лекарств.

Основной сферой применения искусственных живых систем станут работы, где приходится иметь дело с опасными для жизни химическими веществами. ХоммХеллинга из Университета Дьюка сумел перенастроить природные сенсорные белки кишечной палочки на связывание других веществ вместо привычных для этой бактерии соединений. Слегка изменив бактерию, можно будет получать дорогостоящие химические соединения, использующиеся в косметической промышленности, а самое главное — противораковый препарат таксол [2].

Достижения синтетической биологии, несомненно, впечатляют. Но каким образом оценить риски, связанные с распространением новой технологии, и как при этом сохранить всё то ценное, что в ней есть? Вот в чем вопрос. Ведь помимо научных целей, несомненно, найдутся и другие, далеко не научные и, возможно, даже не гуманные. Например, создание идеального ребенка, с определенным цветом глаз, характером и отличающегося выдающимися умственными способностями. И получается, человек пойдет против самой природы, и даже против самого себя. Люди за деньги смогут «покупать» и «собирать» себе ребенка. Вряд ли это будет нести благоприятные последствия.

Возможности нового направления биологии кажутся нам сейчас безграничными. По оценке Роберта Карлсона из Вашингтонского университета, эффективность машин, занятых синтезом ДНК, за последние 15 лет возрастала такими темпами, как, пожалуй, росла лишь эффективность компьютерных процессоров. Если эти темпы сохранятся, полагает Роберт Карлсон, то уже в 2010 году одна единственная машина будет синтезировать весь геном человека всего за один день.

Десятки лабораторий мира занимаются экспериментами в области синтетической биологии, руководствуясь самыми разными идеями. Некоторые из них могут стать явью. Другие скоро забудутся. В любом случае в стенах этих лабораторий будет создана новая жизнь. Теоретически развитие синтетической биологии приведет к созданию и искусственных многоклеточных организмов. Откроются новые возможности. Появятся новые опасности [1].

Литература

1. [Волков А.](http://irbis.bstu.ru/cgi-bin/irbis64r_12/cgiirbis_64.exe?LNG=&Z21ID=&I21DBN=IBIS_PRINT&P21DBN=IBIS&S21STN=1&S21REF=&S21FMT=fullw_print&C21COM=S&S21CNR=&S21P01=0&S21P02=1&S21P03=A=&S21STR=%D0%92%D0%BE%D0%BB%D0%BA%D0%BE%D0%B2,%20%D0%90.%20) Наноробот под названием "микроб"? // Знание - сила. - 2007. - N 11. - С. 4-11.
2. [Гиббс Уэйт](http://irbis.sstu.ru/cgi-bin/irbis64r_13/cgiirbis_64.exe?LNG=&Z21ID=&I21DBN=MARS&P21DBN=MARS&S21STN=1&S21REF=5&S21FMT=fullwebr&C21COM=S&S21CNR=10&S21P01=0&S21P02=1&S21P03=A=&S21STR=%D0%93%D0%B8%D0%B1%D0%B1%D1%81,%20%D0%A3%D1%8D%D0%B9%D1%82). Синтетическая жизнь: о создании программируемых живых механизмов// В мире науки. - 2004. - N 8. - С. . 46-53.
3. <http://www.inventor.perm.ru/news_2011/2010_05_02_01.htm> «Новости российского изобретательства».

**ГЕНЕТИКА АДИПОКИНОВ**

*Кузнецов М.В.*

*Научный руководитель: доцент, к. б. н Лебедева Е.Н*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Проблема взаимоотношения ожирения с метаболическими нарушениями, приводящими к различным заболеваниям, совсем не нова [1]. Но даже сейчас ожирение и артериальная гипертензия– актуальная и интернациональная проблема современной медицины, обусловленная множеством факторов риска ССО. Но истинные причины ожирения были открыты сравнительно недавно.

На современном этапе внимание ученых многих стран приковано к гормонам жировой ткани — адипокинам (адипоцитокины, adipose derived hormones). Именно они могут стать недостающими звеньями в цепи патогенеза нарушений углеводного и липидного обменов, которые, в свою очередь, приводят к развитию наиболее актуальных проблем современной медицины: кардиоваскулярных заболеваний, инсулинорезистентности, ожирения [2,3].

Важно понимать, что различные адипокины могут оказывать как позитивное, так и негативное влияние на энергетический баланс и тканевый гомеостаз. Более того, указанные эффекты могут быть тканеспецифичными: к примеру, анорексигенный гормон ЖТ лептин усиливает процессы фиброза печени и других органов [4]. Некоторые адипокины преимущественно влияют на рост и дифференцировку адипоцитов, в то время как другие противодействуют развитию устойчивости к действию инсулина или препятствуют отложения триглицеридов в паренхиме печени.

Жировая ткань делится на висцеральную и подкожную жировую клетчатку. Согласно современным представлением жировая ткань – это не просто пассивный накопитель жира, а ауто-пара-эндокринный орган, способный синтезировать и секретировать в кровоток множество биологически активных молекул, которые играют важную роль в метаболизме [5]. При чем наиболее активной в этом плане является висцеральная ее часть. Адипоциты являются источником адипокинов. В настоящее время было найдено от 100 до 600 различных адипокинов [5], которые вместе формируют так называемый «адипокином жировой ткани» и оказывают влияние на различные органы-мишени, включая мозг, печень, яичники, мышцы, сосуды, сердце и бета-клетки поджелудочной железы.

Несмотря на то, что данные вещества были открыты недавно, они играют огромную роль в липидном и углеводном обмене, регулирует энергетический гомеостаз практически всех систем организма. При избыточном накоплении жировой ткани наблюдается изменение профиля адипокинов, что неизменно нарушает протекание метаболических процессов в самых разных органах и тканях. Установлено достоверное увеличение антропометрических показателей: индекса массы тела и объема талии, а также повышение цифр систолического и диастолического артериального давления у гипертензивных пациентов параллельно повышению уровня лептина в крови. Кроме того, наблюдается увеличение активности ФНО-α и нарушение углеводного обмена при повышении уровня лептина в крови [5].

Важное направление в исследовании адипокинов стало изучение их генетики. На данный момент доказано, что множество параметров адипокинов (их структура, концентрация в крови, уровень секреции и т.д.) контролируются либо исключительно, либо по большой мере генетически.

Адипонектин является одним из наиболее изученных адипокинов. Роль адипонектина заключается в предотвращающении устойчивости к действию инсулина, атеросклероза и общих воспалительных процессов, хотя его исследования все еще ведутся, и они могут привести к открытиям его новых функций. Рецепторы адипонектина располагаются на поверхности адипоцитов. Доказано, что при ожирении в организме наблюдается снижение производства адипонектина и количества некоторых видов его рецепторов [6].

На сегодняшний день достоверно известно, что в генетической регуляции параметров адипонектина учувствуют два блока неравновесного сцепления. Первый из них непосредственно ассоциирован с концентрацией гормона в крови, второй же регулирует инсулинрезистентную функцию адипонектина[7]. Так же результаты ряда исследований показывают, что на концентрацию адипонектина в крови так же влияют аллельные состояния и других генов человека, влияние которых составляет около 39 до 70% [8]. Вполне возможно, что на устойчивость к действию инсулина влияют так же гены кодирующие состояния рецепторов адипонектина[7].

Вторым наиболее изученным гормоном является лептин. Его наиболее изученный механизм – центральное подавление потребления пищи, отсюда его второе название – гормон голода. Однако его рецепторы находятся не только в ЦНС, но и встречаются в периферических органах [7]. При этом у больного с ожирением наблюдается увеличение концентрации лептина в крови, связанное прежде всего с уменьшением чувствительности к нему центральных рецепторов, хотя его действие на периферические рецепторы остается неизменным, и он продолжает стимулировать симпатическую НС и повышать кровяное давление, тем самым играя определенную роль в становлении гипертонии [7]. Так же лептин играет важную роль в механизмах инсулинорезистентности, так как он использует те же рецепторы что и инсулин, тем самым снижая эффект инсулина [7].

На данный момент механизмы генетической регуляции параметров лептина еще плохо изучены. Коэффициент наследуемости концентрации лептина в сыворотке крови составляет 0.38 [7].

Недостаточно изучены влияние генов, кодирующих лептин и его рецепторы на риск развития ожирения. Несмотря на то что ряд исследований указывает на определенную связь некоторых генотипов с развитием ожирения [7], другие исследования показали отсутствие какого-либо значимого влияния разных состояний генов лептиновой системы на антропометрические показатели (индекс BMI и объем талии) [17]. Однако носители некоторых вариантов генов лептина и его рецепторов чаще всего склонны к потреблению больших объемов пищи [7].

Данные современных исследований окончательно доказали, что нельзя рассматривать жировую ткань как пассивный резерв нашего организма. Адипокины, многие из которых синтезируются исключительно в ЖТ, играют важную роль в метаболизме липидов и углеводов, тем самым определяя риски развития диабета и метаболического синдрома. Изучение генетических механизмов их регуляции уже сейчас дало интересные открытия, а продолжение работ в этом направлении может привести нас к решению одной из «пандемий 21 века» - ожирению.

Литература

1. Reaven G.M. Banting lecture 1988. Role of IR in human disease // Diabetes. - 1988. – Vol. 37. - P. 1595-1607.
2. Bays, H. E. (2009). “Sick fat,” metabolic disease, and atherosclerosis. American Journal ofMedicine, 122, S26–S37
3. Bluher, M. (2012). Clinical relevance of adipokines. Diabetes and Metabolism Journal, 36,317–327
4. Marra F., Aleffi S., Bertolani C., et al. Adipokines and liver fibrosis // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. - 2005. – Vol. 9. №. 5. - P. 279-284.
5. Bienertova-Vasku J, Novak J, Zlamal F, et al. The prediction role of indexes of circulating adipokines for common anthropometric and nutritional characteristics of obesity in the obese central European population. Eat Behav.2014;15:244-251.
6. Baranova A., Randhawa M., Jarrar M., Younossi Z.M. Adipokines and melanocortins in the hepatic manifestation of metabolic syndrome: nonalcoholic fatty liver disease // Expert Rev. Mol. Diagn. - 2007. – Vol. 7. №. 2. - P.195-205.
7. Баранова А.Е. Генетика адипокинов; секреторный дисбаланс жировой ткани как основа метаболического синдрома // Генетика. - 2008. - Т. 44, № 10. - С. 1338-1355.

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД - НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ**

*Столяр И.А., Кукебаева А.Ж.*

*Научный руководитель: к.б.н., ст. преподаватель. Винокурова Н.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

«Создана новая жизнь из пробирки» - такой заголовок уже мало чем удивит людей XXI века. Новейшие разработки в области генной инженерии или как ее называют современные ученые –синтетическая биология.

Внедрение синтетических аминокислот в белки (достигающееся за счет изменения генетического кода) позволяет модифицировать существующие свойства модифицируемых белков, а также способствовать появлению новых, расширяя возможные границы применения этих биологических полимеров.

**Актуальность** данного вопроса состоит в том, что активное развитие генной инженерии может помочь в лечении многих наследственных заболеваний.

**Целью** данного исследования явилось изучение генетического кода, современные трактовки и открытия в области его изменения.

**Материалы и методы.** Для решения поставленной цели нами были изучены статьи в области естественного и искусственного расширения генетического кода, проанализирован ряд отечественных и зарубежных источников литературы. Проведен анализ полученной информации, сформированы выводы.

**Полученные результаты.**

Точность кодирования последовательностей аминокислот белков в этой модели странным образом уживается сдвойной вырожденностью предлагаемого “кода” по линиям избытка транспортных РНК(тРНК) по сравнению с числом аминокислот и неоднозначного соответствия кодон-антикодон, когда только двум (а не трем) нуклеотидам триплетов иРНК необходимоточное спаривание c антикодоновой парой нуклеотидов тРНК, а по третьему нуклеотидуприродой допускается неверное спаривание, так называемое “воблирование” (от англ.слова “wobble”- качание) по гипотезе Ф.Крика. [1]

Открытие генетического кода явилось большим скачком в области биологии, генной инженерии и ряда других наук. Через некоторое время начались активные исследования в области естественного и искусственного расширения генетического кода.

Расширение генетического кода для включения новой аминокислоты требует ряда изменений в клетке. В частности необходима новая аминоацил-тРНК-синтетаза, а также соответствующая тРНК. Оба эти компонента должны быть высокоспецифичными и взаимодействовать исключительно между собой и с новой аминокислотой. В клетке должно присутствовать достаточное количество новой аминокислоты, что может привести к появлению новых метаболических путей. [2]

В последнее время также появились новости об открытии второго генетического кода. Ведущий научный журнал Nature сообщил об обнаружении второго генетического кода - такого себе «кода внутри кода».

В статье говорится: «Ученые из университета Торонто получили фундаментально новое представление о том, как живые клетки используют ограниченное число генов для образования таких невероятно сложных органов, как мозг». Сам журнал Nature начинается со статьи ХейдиЛедфорда «Код внутри кода». [3]

Затем последовала статья Техедора и Валькарсела под названием «Регуляция генов: взлом второго генетического кода. [4]

Информатика, компьютерная биология, алгоритмы и коды - эти концепции не были частью дарвиновского словаря, когда он разрабатывал свою теорию. У Менделя была очень упрощенная модель того, как распределяются признаки во время унаследования. Мы видим, что исходный генетический код регулируется еще более сложным, включенным в него, кодом.Ледфорд напоминает нам, что например, РНК и белки имеют трехмерную структуру. К тому же, доступ к генам, по-видимому, контролируется другим кодом, гистоновым кодом. Этот код закодирован молекулярными маркерами или «хвостами» на гистоновых белках, которые служат центрами для скручивания и суперскручивания ДНК. Описывая наше время, Ледфорд говорит о «постоянном возрождении в информатике РНК». [5]

Техедор и Валькарсел согласны с тем, что за простотой кроется сложность. Сложные организмы (эукариоты) обладают неестественным и трудным для понимания свойством: их геномы имеют своеобразные участки, интроны, которые должны удаляться, чтобы экзоны могли соединиться вместе. Почему? «Основное преимущество этого механизма заключается в том, что он позволяет разным клеткам выбирать альтернативные способы сплайсинга предшественника матричной РНК (пре-мРНК) и таким образом один ген образует различные послания», - объясняют они, - «а затем различные мРНК могут кодировать разные белки с различными функциями». [4]

Итак, изучение строения генетического кода, механизмов замены определенных генов, все это будущее нашей науки. Возможно, что ученые разработают новые механизмы замены поврежденных генов, аминокислот и кодонов, будут использовать данные механизмы для лечения ряда заболеваний.

Литература

1. CrickF.H.C. Codon-anticodon pairing: the wobble hypothesis.// J. Mol. Biol. 1966.V.19.P.548-555.
2. Основы биохимии Ленинджера : в 3 т. Т. 3: Пути передачи информации/ Д.Нельсон, М.Кокс ; пер. с англ.-М. :БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015.- 448 с. :ил.- (Лучший зарубежный учебник)
3. ХейдиЛедфорд, «Код внутри кода», журнал Nature 465, 16-17 (06 мая, 2010)
4. Д. РамонТехедор и Хуан Валькарсел, «Регуляция генов: взлом второго генетического кода», журнал Nature 465, 44-46 (06 мая, 2010)
5. <http://www.origins.org.ua/page.php?id_story=1571#4> «Код в коде: раскрыт второй генетический код»

**МЕТИЛИРОВАНИЕ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ КАК ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР**

*Жарская Е.В.*

*Научный руководитель: асс. Мачнева И.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Специфичность и функциональное значение метилирования ДНК многие годы оставались неизвестными. Более того, очень распространенным было представление о том, что эти «минорные» основания вообще не играют никакой роли ни в структуре самой ДНК, ни в ее функционировании.

В настоящее время метилирование рассматривают как важный эпигенетический фактор. ДНК-метилирование в чём-то подобно мутации. Оно является стабильной и наследуемой модификацией. Но в отличие от мутаций, метилирование не изменяет генетический код, а регулирует экспрессию генов. У эукариот метилирование ДНК – один из ключевых механизмов регуляции онтогенеза и клеточной дифференцировки, а также подавления экспрессии чужеродных последовательностей. Кроме тогооно отвечает за такие явления, как [инактивация одной Х-хромосомы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D0%BD%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B8%D0%B2%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F_X-%D1%85%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D1%8B) у самок млекопитающих и [импринтинг](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%BC%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%B8%D0%BC%D0%BF%D1%80%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%B3). В первом случае одна из двух половых хромосом самок теряет активность (неважно, отцовская или материнская) с той целью, чтобы самки не образовывали продуктов экспрессии генов больше, чем самцы. А в случае импринтинга аллели проявляются по-разному в зависимости от того материнские они или отцовские.  Наглядным подтверждением этому служат различные болезни, которые наследуются только от родителя определенного пола, например, [синдром Ангельмана](http://sib-epileptolog.ru/klinicheskie-primery/vsyo-o-sindrome-angelmana/). Это редкая генетическая аномалия, вызванная инактивацией генов материнской 15 хромосомы. Отцовские аллели при этом импринтированы (выключены), потому не могут компенсировать мутацию. Патологию также называют «синдромом счастливой марионетки». Для больных характерны судороги, задержка психического развития, частый смех, улыбки. Метилирование ДНК контролирует все генетические процессы (репликация ДНК, репарация, рекомбинация, транскрипция и др.). Нарушение данного процесса и искажение других эпигенетических сигналов приводят к преждевременному старению и таким заболеваниям, как рак, диабет, астма, различные тяжелые психические расстройства и др.[1]

Пятое основание, метилцитозин*,* было обнаружено еще в 80-х годах прошлого века. С тех пор его находили в самых разных организмах — от прокариот до высших животных. В 2015 году к пятерке оснований- аденин, гуанин, цитозин, тимин и метилцитозин- прибавили еще одно, тоже модифицированное, — метиладенин [[1](http://biomolecula.ru/content/1725#l1)] В более ранних работах исследователи уже находили следы метиладенина в бактериях, где он был частью системы рестрикции, то есть выполнял защитную функцию против внедрения генетического материала из вирусов. Но до настоящего момента считалось, что эта черта присуща только прокариотам.

Испанские биохимики Х. Хейн и М. Эстеллер обнаружили, что 6N-метиладенин, наряду с метилцитозином, может быть частью эпигенома ядерных организмов. В  своей работе они определили содержание метиладенина в геноме зеленой водоросли Chlamidomonasreinhardtii, мухи Drosophilamelanogasterи червя Caenorhabditiselegans и изучили его эпигенетическую функцию. По причине минимального содержания этого основания в клетках эукариот (в отличие от метилцитозина, который содержится в большем количестве) ученым пришлось использовать высокочувствительное оборудование для его обнаружения. Ученые применили инновационный метод определения нуклеотидной последовательности в реальном времени — одномолекулярноесеквенирование ДНК*.* [3] Этот метод  позволил исследователям наблюдать за работой единичной молекулы ДНК-полимеразы в реальном времени, пока она достраивает вторую цепь ДНК. Нуклеотиды, которыми оперирует ДНК-полимераза, предварительно были помечены флуоресцентными красителями. Метки испускают свет, который регистрируется прибором. Этот метод позволяет расшифровывать очень длинные последовательности ДНК.

Результаты исследований позволяют предположить, что следы метиладенина в ДНК во всех трех организмов регулируют активность некоторых генов. Например, в личинках дрозофил степень метилированияаденина коррелирует с экспрессией транспозонов.  Было установлено, что у эмбрионов мух уровень метиладенина выше, чем у взрослых насекомых. Это может свидетельствовать о том, что метиладенин играет особую роль на ранних стадиях развития.

Следующая задача, стоящая перед биохимиками, состоит в том, чтобы обнаружить присутствие метиладенина в ДНК млекопитающих и выяснить, какова его функция. Косвенные доказательства говорят в пользу его наличия  у человека - например, особый деметилирующий фермент присутствует у высших эукариот. Он деметилирует исключительно метиладенин, а значит, скорее всего, шестое основание обнаружат и у человека. Возможно, он играет определенную роль на ранних стадиях развития организма и в стволовых клетках.   Для подтверждения наличия метиладенина у человека предстоит провести опыты, используя технологии нового поколения.[3]

Литература

1. Биомолекула: Шестое ДНК-основание: от открытия до признания
2. Метиладенин - новый эпигенетический маркер //https://nplus1.ru/news/2015/05/05/sixth-base
3. Heyn H. and Esteller M. (2015). [An Adenine code for DNA: A Second life for N6-methyladenine](http://www.cell.com/cell/abstract/S0092-8674(15)00438-9). Cell.**161**, 710–713

**ОТ КЛАССИЧЕСКОЙ ГЕНОЦЕНТРИЧЕСКОЙ КОНЦЕПЦИИ**

**К ЭПИГЕНЕТИКЕ**

*Баринова Л. А.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева Е.Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

После открытия структуры ДНК в середине XX в. долгое время считалось, что исключительно генетический код организма, т.е. последователь­ность нуклеотидов в двухцепочечной молекуле ДНК, определяет закономерности функционирова­ния составляющих ее генов и в широком смысле фенотип со всеми его признаками и проявлениями. Однако после успешного завершения проекта «Геном человека» представления о функционировании ге­нома претерпели существенные изменения. Вопре­ки ожиданиям оказалось, что вся информация о строении и функционировании человеческого ор­ганизма заключена в 20-25. тыс. генов, а не 100-150 тыс., как предполагалось ранее согласно общепринятой концепции «один ген - один бе­лок». При этом собственно гены, кодирующие белки, составляют всего 1,5-2% от всей ДНК, а основная ее часть представлена некодирующими нуклеотидными последовательностями.

По мере прогресса фундаментальной науки и накопления практических данных стало понятно, что, при безусловно главенствующей роли ДНК геном - это чрезвычайно пластичная структура, в которой, начиная со стадии морфогенеза у эмбриона и далее на протяжении всей жизни организма, уровень генной экспрессии постоянно меняется. Такая регуляция активности генов реализуется посредством эпигенетических модификаций, суть которых заключается в энзиматическом ковалентном присоединении/диссоциации функциональных химических групп к определенным нуклеотидам ДНК, а также к аминокислотным остаткам белков-гистонов, входящих в состав хро­матина. В результате подавляется или, наоборот, активируется экспрессия функционально важных генов и, соответственно, уменьшается или увели­чивается выработка кодируемых ими белков. Самыми известными и наиболее изученными эпиге­нетическими модификациями являются метилиро­вание ДНК и деацетилирование гистонов - меха­низмы, приводящие к ингибированию генной экспрессии. [2]

ДНК-метилирование происходит по цитозиновому остатку под действием фермента ДНК-метилтрансферазыв строго определенных участках гена - так называемых динуклеотидных островках CpG, которые содержатся в промоторной области подавляющего большинства генов. Деаце­тилирование гистонов катализируется гистондеацетилазой. [3]

Еще один базовый механизм эпигенетической регуляции реализуется посредством микроРНК - особого класса коротких (19-25 нук­леотидов) некодирующиходноцепочечных молекул РНК. Для человека их сегодня известно около 2 тыс. Выключение гена при этом осуществляется путем предотвращения трансляции и синтеза функциональных белков в результате дефектной комплементарности между микроРНК и мРНК или путем деградации мРНК при полной комплементарноеTMмикроРНК и мРНК. По разным оценкам, мишенями микроРНК являются от 30 до 60% белоккодирующих генов человека.

Сегодня для млекопитающих и человека, кроме процесса метилирования ДНК, известно около 10 способов посттрансляционной модификации различных аминокислотных остатков в составе гистонов хроматина, так называемого «гистонового кода» (ацетилирование, фосфорилирование, убиквитинирование, АДФ-рибозилирование, био-тинилирование, сумоилирование, изомеризация пролинового остатка и др.), и несколько тысяч молекул различных микроРНК. Поливариантные сочетания этих механизмов эпигенетической регуляции генной транскрипции создают поистине неограниченные возможности для расширения внутриклеточного информационного пула.[3]

Доказано, что нарушение метилирования ДНК и других эпигенетических сигналов приводит к преждевременному старению и таким патологиям, как диабет, астма, псориаз, тяжелые психические расстройства (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, аутизм, шизофрения), сердечно-сосудистые, хронические и инфекционные заболевания. Известно, что грибы, вирусы и другие инфекционные агенты путем модуляции метилирования ДНК способны переключать программу работы генов хозяина в свою пользу.

Важно подчеркнуть, что эпигенетические модификации, называемые также эпимутациями, в отличие от истинных генетических мутаций не затрагивают структуру ДНК и являются потенциально обратимыми, т.е. могут регулироваться факторами внутренней и внешней среды, такими как возрастные изменения, связанные со старением организма, особенности питания (диета), стрессовые воздействия, хронические патологические процессы, лекарственная терапия и даже психоэмоциональные стимулы. Научно доказано, что эпигенетическиеизменения, вызванные средовыми стрессовыми факторами, при определенных условиях способны не только сохраняться при последовательных митотических делениях клетки, но и передаваться трем-четырем следующим поколениям при мейозе. [1]

Становится очевиднным, что эпигеном высокоразвитых многоклеточных организмов является полноценной «второй информационной системой», которая обеспечивает дополнительный мощный информационный ресурс для сложной многоуровневой регуляции их жизнеобеспечения и функционирования, а фенотип любого организма представляет собой суммарную реализацию генома и эпигенома.

Особенно активно изучается роль эпигенетики в инициации и прогрессии злокачественных опухолей, что привело к формированию отдельного, самостоятельного научного направления - эпигенетики рака. При всех видах злокачествен­ных новообразований уже на ранних этапах кан­церогенеза возникают характерные эпигенетиче­ские нарушения, имеющие причинное значение. При этом выявленные эпигенетические маркеры не только служат молекулярными мише­нями для новых таргетных противоопухолевых препаратов, но и являются основой для созданияновых высокоселективных методов молекулярно-генетической онкодиагностики, клинического про­гнозирования и мониторинга персонализирован­ного лечения.

Стремительно растет число публикаций, дока­зывающих эпигенетическую природу многих доб­рокачественных пролиферативных заболеваний ре­продуктивной системы, в частности, патологий эн­дометрия, сопровождающихся бесплодием.

Сегодня классическая геноцентрическая кон­цепция радикально пересмотрена, и новая молодая научная дисциплина эпигенетика, допускающая возможность обратного направления потока ин­ формации от функции, находящейся под воз­действием различных внешних и внутренних факторов, к соответствующему гену, по праву считается одной из самых изучаемых и перспективных в биологии. По значимости совершаемых в данной области открытий и мас­штабу разворачивающихся при этом перспектив как в фундаментальной науке, так и в практи­ческой медицине эпигенетика ставится в один ряд с такими эпохальными научными достижениями человечества в области естествознания, как теория эволюции Дарвина, открытия Менделя и уста­новление структуры ДНК.

Литература

1. Лекарственная регуляция активности генов. / В.И. Киселев, И.Н. Кузнецов, В.М. Друх, Е.Л. Муйжнек/Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.  2016.С.
2. Эпигенетика / С. М. Закиян, В.В. Власов, Е. В. Дементьева. — Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. — 592 с.
3. Ванюшин Б.Ф.Эпигенетика сегодня и завтра. Вавиловский журнал генетики и селекции. (17) 2013., 805–832;

**Искусственный геном как концепция синтетической биологии**

*Калоша М. И., 2 курс.*

*Научный руководитель: к.б.н., Л.В. Гирина*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В настоящее время, ученые развивают такое громкое научное направление, как генная инженерия, в целую научно-философскую концепцию под названием синтетическая биология.

Основная концепция синтетической биологии - использование молекулы ДНК (её нуклеотидов), как фундамент для создания абсолютно новых биологических конструкций, не существующих в природе. Одним из направлений этой «новой» науки является расширение генома за счет создания синтетического кода, с использованием давно закрепившихся механизмов (транскрипция, трансляция, репликация). Приоритетным направлением также является изучение функциональности белковых молекул, если в их состав включить искусственные аминокислоты - те, что выходят за стандартный аминокислотный ряд и не синтезируются внутри живых организмов. Для осуществления таких задач природой заложено не так уж много возможностей.

Как известно, процесс трансляции в клетках обеспечивают рибосомы, узнающие кодоны на мРНК и сопоставляющие с ними соответственные антикодоны тРНК, несущих аминокислоты. Молекула тРНК просоединяет аминокислоты с помощью фермента аминоацил-тРНК-синтетазы. Таким образом специфичность трансляции определяется взаимодействием кодона мРНК и антикодоном тРНК, а также спецификой работы фермента. Терминация синтеза определяется стоп-кодонами (UGA - опал, UAG - амбер, UAA-охра). Также задействованы специфические белки-терминаторы RF1 или RF2, которые катализируют отсоединение полипептидной цепи от мРНК.

Чтобы включить новую, искусственную АК в генетический код, необходимо изменить отлаженную систему синтеза.Для успешного ввода новой АК необходим «пустой» кодон, который будет кодировать эту АК. Также нужна новая ортогональная пара тРНК и аминоацил-тРНК-синтетазы, которая клеткой не производится, «не вмешивается» в природные процессы биосинтеза белка, а предназначена лишь для работы с искусственными АК. Новая молекула тРНК должна точно узнавать и присоединять искусственную АК, а новая аминоацил-тРНК-синтетаза — эффективно катализировать именно эту реакцию. Затем аминоацилированнаятРНК должна точно доставлять АК к «пустому» кодону [1].

Для этой цели подходит один из терминальных амбер кодонов (UAG) кишечной палочки (E. coli )который встречается реже остальных.В лаборатории [Исследовательского института Скриппса](https://en.wikipedia.org/wiki/Scripps_Research_Institute) в культуру кишечной палочки смогли вставить соответственно амбер-кодону некоторые искусственные АК [[2](http://biomolecula.ru/content/1814#l7)]. Еще позже была проведена масштабная работа по всеобъемлющему редактированию генома E. coli с целью замены всех амбер-кодонов на охра-кодоны: UAG → UAA. Это было сделано с помощью мощного современного метода мультиплексного геномного редактирования ([MAGE](http://wyss.harvard.edu/viewpage/330)), который позволяет проводить полномасштабные манипуляции с геномом при помощи синтетическиходноцепочечныхолигонуклеотидов [3].

Такая модификация затронула 83 пептида бактерии. Новый генно-модифицированный штамм E. coli  обладал повышенной устойчивостью к бактериофагу T7. Это означает, что у такого организма есть расширенные возможности относительно использования амбер-кодонов в новых целях.

Следующим шагом стали попытки расширения триплетного генетического кода до квадруплетного [[2](http://biomolecula.ru/content/1814#l7)]. Использование квадруплетного кода гипотетически увеличило бы количество кодонов до **256** (= 44), необходимых для одновременного эффективного кодирования нескольких неприродных АК[[4](http://biomolecula.ru/content/1814#l4)]. Но для распознавания таких кодонов нужна модификация всего трансляционного аппарата: изменение тРНК для расширения антикодоновой петли, новые аминоацил-тРНК-синтетазы, катализирующие присоединение неприродных АК к молекулам тРНК, новые рибосомы с расширенным сайтом узнавания, способным вмещать укрупненный комплекс аминоацил-тРНК-молекул [[5](http://biomolecula.ru/content/1814#l9)]. Такая ортогональная квадруплетная рибосома должна работать в сочетании с особоймРНК, не влияя на «природный» биосинтез белка обычными клеточными рибосомами[[2](http://biomolecula.ru/content/1814#l7)]. Отправной точкой таких исследований является эволюция рибосомы.Значит, не затрагивая внутриклеточную жизнь, можно создавать в клетке абсолютно новые трансляционные пути — синтезировать белковые молекулы, состоящие частично или даже полностью из неприродных АК, некие новые биополимеры.

Дальнейшие шаги по созданию расширенного геном шли по путисоздания полусинтетического штамма E. coli с искусственной нуклеотидной парой, которая реплицировалась с высокой точностью, сохранялась и передавалась по наследству, распознавалась ферментными структурами клетки как «своя» и не редактировалась системами репарации[[6](http://biomolecula.ru/content/1814#l12)].Эти искусственные нуклеотиды получили кодовые названия d5SICS и dNaM.Водородные связи в этой паре не образовывались, а комплементарность обеспечивалась гидрофобными взаимодействиями. Такая вставка не нарушает природную Уотсон-Криковскую структуру молекулы ДНК и не препятствует работе полимеразы. In vitro, была проверена амплифицируемость ДНК-фрагментов, содержащих искусственную нуклеотидную пару, и наилучшие результаты показала Taq-полимераза[6].

Для проверки гипотезы о возможной работе искусственной нуклеотидной пары в клетке (в E. coli) была сконструирована плазмидаpINFиз стандартного лабораторного вектора pUC19. Методом твердофазного синтеза был получен олигонуклеотид с искусственным основанием, затем с помощью кольцевой ПЦР с перекрывающимися концами ([circularextension PCR overlap](http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0006441&representation=PDF)) искусственная пара была вставлена по 505 положению в вектор. После трансформации сконструированнымиплазмидами клетки E. coli выращивали на среде с добавлением искусственных дНТФ. Анализ на «удерживание» искусственных нуклеотидов проводился после 15 часов роста бактерий, что соответствовало минимально 24 клеточным удвоениям. Выяснилось, что точность репликации составила 99,4% (выход искусственных нуклеотидов — 0,86). Такая точность — 1 ошибка на 1000 пар нуклеотидов — характерна для работы некоторых полимераз с полностью природными ДНК. К третьему дню роста бактериальной культуры удерживание искусственных нуклеотидов падало до 45%, а к шестому — до 15%.

Это только первые шаги в направлении расширения генетического кода. Следующим этапом может стать разработка механизма транскрипции последовательности ДНК с искусственным нуклеотидом в РНК-последовательность. Это помогло бы расширить функциональные возможности разнообразных РНК-структур, например, [РНК-переключателей](http://humbio.ru/humbio/tarantul_sl/00001306.htm) (riboswitches) — активных участков молекул РНК, регулирующих работу генов или рибозимов[7]. Но, главная идея состоит в создании новых триплетных кодонов, способных закодировать синтетические АК, но для этого потребуется и перестройка трансляционного аппарата организмов.

Таким образом, синтетическая биология обладает огромными возможностями в создании и исследовании совершенно «новой» основы жизни, с потенциально новыми свойствами, ранее не существовавшими в природе.

Литература

1. Биомолекула: «Расширенный геном» <http://biomolecula.ru/content/1814>
2. Биомолекула: «[Слово из четырех букв](http://biomolecula.ru/content/642)» http://biomolecula.ru/content/642
3. Haimovich A.D., Muir P., Isaacs F.J. (2015). [Genomesby design](http://www.nature.com/nrg/journal/v16/n9/full/nrg3956.html). Nat. Rev. Genet. **16**, 501–516
4. Chen I.A. and Schindlinger M. (2010). [Quadruplet codons: one small step for a ribosome, one giant leap for proteins](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3133615/). Bioessays. **32**, 650–654
5. Wang L., Brock A., Herberich B., Schultz P.G. (2001). [Expanding the genetic code of Escherichia coli](http://www.sciencemag.org/content/292/5516/498). Science. **292**, 498–500
6. Malyshev D., Dhami K., Lavergne T., Chen T., Dai N., Foster J.M., Corrêa I.R. Jr. et al. (2014). [A semi-synthetic organism with an expanded genetic alphabet](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4058825/). Nature. **509**, 385–388
7. Биомолекула: «[РНК у истоков жизни?](http://biomolecula.ru/content/1224)»http://biomolecula.ru/content/1224

**Роль микро - РНК в регуляции экспрессии генов**

*Панин И.С., Мананников Д.А., Батоцыренова Е.Г.*

*Кафедра биологической химии*

*Санкт-Петербургский государственный медицинский университет*

В 1993 г. В. Амбромс, Р. Ли и Р. Фейнбраум при изучении гена lin-14, задействованного в развитии у нематоды Caenorhabdiis elegans обнаружили, что количество белка LIN-14 регулировалось коротким РНК-продуктом гена lin-4. В результате последующих исследований оказалось, что существует достаточно многочисленный класс так называемых малых, не кодирующих РНК. Эти РНК функционируют путем взаимодействия с молекулами мРНК (в области 3ꞌ UTR, нетранслирующая область мРНК) приводя к деградации мРНК, либо к подавлению трансляции. Многие микро-РНК существуют только на определенных этапах развития организма [2, c. 270].

МикроРНК (miRNA) – это класс малых некодирующих молекул РНК, которые имеют длину около 22 нуклеотидов (18-25), обнаруженные у животных, растений и некоторых вирусов, принимающие участие в транскрипционной и посттранскипционной регуляции экспрессии генов. МикроРНК кодируются ядерной ДНК растений и животных и вирусной ДНК у некоторых ДНК- содержащих вирусов. В настоящее время известно более 1800 микроРНК человека и цифра продолжает расти. По разным оценкам, мишенями микроРНК являются от 30 до 60 % белоккодирующих генов человека. Количество различных микроРНК у человека может достигать 37 тыс. [1, c. 55].

МикроРНК могут тонко регулировать процессы в организме. Неполное связывание позволяет блокировать трансляцию частично – на 10, 20 или 90%: каждая из микроРНК влияет на трансляцию десятков белков. МикроРНК оказались вовлечены практически во все процессы жизнедеятельности организма: от оплодотворения и развития до адаптации к новым условиям и механизмов заболеваний [3, c. 15].

МикроРНК – негативный регулятор экспрессии генов на посттранкрипционном уровне. Один белок кодирующий ген может регулироваться десятками разных микроРНК. Одна микроРНК может регулировать работу более сотни разных генов. При опухолевом процессе микроРНК выступают как онкогены и супрессоры опухолей [5, c. 814].

Как образуются микро-РНК? Из гена или из интрона копируется крупная РНК, состоящая из сотен, а то и тысяч нуклеотидов. В этой копии находится шпилька – участок двухцепочечной РНК с частично неспареными нуклеотидами посредине. Внутри этой шпильки и находится будущая микроРНК. Для её производства в ядре есть белки с названиями Pasha и Drosha. Вместе они образуют комплекс для процессинга микроРНК, задача которой отрезать от шпильки всё лишнее. С ней белки успешно справляются, и специальный транспортный комплекс отправляет небольшую (60-90 нуклеотидов) пре- микроРНК в цитоплазму, поближе к синтезу белков вместе с экспортин-5/Ran ГТФазой. Белок Dicer «отрезает» оставшиеся лишние фрагменты: получается зрелая микроРНК. В результате образуется дуплекс (микроРНК/микроРНК\*), состоящий из двух цепей микроРНК по 22 нуклеотида длиной каждая.

В цитоплазме одна из двух цепей микро-РНК загружается в комплекс ферментов: РНК - индуцируемый микроРНК - рибонуклеопротеиновый комплекс выключения гена (RNA-induced silencing complex (RISC)), в котором осуществляется взаимодействие микроРНК и её мРНК- мишени. Центральную роль в функционировании RISC играют белки семейства Argonaute (Ago), которые имеют четыре домена: PAZ домен, взаимодействующий с участком на 3′-конце микроРНК. Вместе они связывают зрелую микроРНК и ориентируют её подходящим образом для взаимодействия с мРНК-мишенью. Выключение гена может осуществляться путём деградации мРНК при полной комплементарности или предотвращения её трансляции при отсутствии полной комплементарности [4, c. 283].

Этот механизм регуляции генов имеет полезное практическое применение. Если ввести в организм РНК-дуплекс, последовательность которого соответствует фактически любой мРНК, эндонуклеаза Dicer расщепляет эти дуплексы на короткие фрагменты – малые интерферирующие РНК. Они связываются с мРНК и вызывают их сайленсинг (выключение) [6, c. 10].

За открытие РНК-интерференции (РНКи) в 2006 г. американцы К. Мелло и Э. Файр получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине. РНКи – это механизм подавления экспрессии гена на стадии трансляции (синтеза белка из аминокислот), либо нарушение транскрипции (перенос информации с ДНК на РНК) определенных генов. В процессе РНКи принимают участие два типа малых молекул РНК – микроРНК и малые интерферирующие РНК (siRNA).

РНКи является механизмом, защищающим клетку от РНК-вирусов и мобильных генетических элементов (транспозонов). На основе механизма РНКи природа создала прототип иммунной системы, а по мере усложнения организмов РНКи становится незаменимым регулятором активности генома. Открытие РНКи показало, что контроль над работой генов в организме человека вполне возможен и начались клинические испытания первых лекарственных средств, основанных на РНК-интерференции. Обычно фармакологические препараты действуют на уровне конечных стадий биохимического процесса, а открытие РНКи делает возможной другую стратегию: просто направлять собственный защитный механизм клетки (RISC) на определенную мРНК, таким образом, предотвращая образование нежелательного продукта. Для этого достаточно сконструировать правильную микро-РНК, что возможно, так как вполне определенные гены связаны с некоторыми заболеваниями [7, c. 63].

Литературы

1. Лавров С.А., Кибанов М.В. Некодирующие РНК и структура хроматина// Успехи биологической химии. - 2007. - Т. 47.- С. 53-88.
2. Нельсон Д. Основы биохимии Ленинджера: в 3т. Т.3: Пути передачи информации/ Д.Нельсон, М.Кокс; пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 448с.
3. Патрушев Л.И. Экспрессия генов. - М.: Наука, 2000. - 830 с.
4. Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function

(rewiew) // Cell. - 2004. - V. 116. - P. 281-297.

1. Brivanlou A.H., Darnell J.E. Signal transduction and the control of gene

expression (review) // Science. - 2002. - V. 295. - P. 813-818.

1. Cerutti H., RNA interference: travelling in the cell and gaining functions?// Trends.Genet. – 2003. – V. 19. –P. 9-46
2. Krulko I., Ustyanenko D., Polischuk V. Role of siRNAs and miRNAs in the

processes of RNA-mediated gene silencing during viral infections (rewiew) //Cytology and Genetics. - 2009. - V. 43, № 1. - P. 63-72.

**зАЩИТНАЯ РОЛЬ ТЕЛОМЕРАЗНЫХ БЕЛКОВ**

Мулач М. И., Нефедьева А. П.

Научный руководитель: доцент к.б.н. Голинская Л.В.

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Теломерные белки с цинковыми пальцами являются белковыми комплексами - шелтеринами, выполняющими в организме человека важную роль. Они связываются с теломерными повторами и защищают их от деградации. До января 2017 года был известен лишь один белковый комплекс, специфически взаимодействующий с ДНК-повторами теломеры — шелтерин. Но теперь ученые обнаружили еще один белок, обладающий сродством к участкам TTAGGG. Он был открыт Эросом Лаццерини Денчи и Джулией Су Джоу Ли — учеными из [Исследовательского института Скриппс](https://en.wikipedia.org/wiki/Scripps_Research_Institute) в США,— наряду с шелтерином играет важную роль в гомеостазе хромосомных теломер. Ученые назвали его теломерным белком с цинковыми пальцами (TZAP, telomeric zinc-fingerassociated protein).

У эукариот на концах хромосом формируются специальные структуры, называемые теломерами. Они состоят из коротких повторов ДНК (TTAGGG) и почти 200белков, выполняющих множество важных функций— от синтеза ДНК до защиты теломеры путем защиты ДНК хромосом от деградации нуклеазами и различных аберраций. Благодаря особым ДНК-связывающим мотивам шелтерин в зависимости от условий может как убить клетку, так и спасти. Насколько весомую роль играет сокращение теломер в старении человека, пока неясно, зато очевидно, что оно ведет к репликативному старению клеток и их переходу в[сенесцентное](https://en.wikipedia.org/wiki/Senescence#Cellular_senescence_2) состояние. Клетка при этом утрачивает способность к делению и секретирует особый набор веществ, формирующий провоспалительную микросреду, неблагоприятную для соседних клеток и организма в целом.

У большинства эукариот необходимая длина теломер поддерживается теломеразой, которая восполняет потерянные при репликации повторы на3’-конце ДНК. Комплементарную цепь при этом достраивает ДНК-полимераза.

Теломераза — рибонуклеопротеиновый комплекс, состоящий из фермента теломеразной обратной транскриптазы(TERT) и теломеразного РНК-компонента(TERC), который содержит матричную последовательность для удлинения теломеры— 3’-AAUCCC-5’. Теломераза неактивна в большинстве соматических клеток человека. Хотя РНК-компонент транскрибируется напостоянном уровне почти вовсех клетках, в соматических не синтезируется белковая часть — обратная транскриптаза. При искусственной активации экспрессии ее генов культура соматических клеток избегает репликативного старения, то есть клетки приобретают способность делиться неограниченно долго. Теломераза собирается и работает в стволовых, половых и некоторых других типах клеток, которым нужно делиться постоянно (например, клетках эпителия кишечника).

Считается, что активация этого фермента связана с развитием рака: теломераза активна в 85% раковых опухолей, в остальных 15% действуют альтернативные механизмы поддержания длины теломер, основанные на рекомбинации.

Шелтерин, или телосома — комплекс из шести белков, регулирующий активность теломеразы и защищающий теломеры млекопитающих от систем [репарации ДНК](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B5%D0%BF%D0%B0%D1%80%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F_%D0%94%D0%9D%D0%9A). Связываясь с повторами TTAGGG на теломерной ДНК, шелтерин способствует образованию на ее конце t-петли — своеобразного «колпачка», прячущего свободный конец хромосомы от репарационных ферментов. Отсутствие или критический недостаток шелтерина в клетке «распечатывает» теломеры, и они становятся доступными нуклеазам и прочим ферментам, подвергаются деструкции и сливаются с концами других хромосом, что в итоге приводит к клеточной сенесценции или [апоптозу](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BF%D0%BE%D0%BF%D1%82%D0%BE%D0%B7).

Отличительная черта TZAP — 11 цинковых пальцев, которыми он «хватается» за TTAGGG - повторы теломер. При этом оказалось, что для эффективного взаимодействия с ДНК белку необходимы только три последних пальца, Znf 9—11. Связываясь с ДНК, TZAP инициирует «стрижку» теломер: из них вырезаются шестинуклеотидные повторы.

В клетках с нормальным балансом TRF2/TZAP последнему позволено лишь следить за тем, чтобы теломера не стала слишком длинной. Эту функцию TZAP выполняет и в эмбриональных стволовых клетках: при экспериментальной делеции генов TZAP теломеры в стволовых клетках существенно удлинялись, а после введения экзогенного TZAP возвращались к норме.

Известно, что слишком длинные теломеры могут способствовать трансформации клетки в раковую, разрешая ей большее количество делений, чем положено. Из этого следует, что TZAP, регулируя максимальную длину теломер, участвует в защите организма от возникновения опухолей. Но если синтез TRF2 вдруг нарушится, крючковатые пальцы TZAP тут же потянутся к теломерам, чтобы резать и резать до самой клеточной смерти.

Литература

1. Зверева М.Э., Щербакова Д.М., Донцова О.А. (2010).[Теломераза: структура, функции и пути регуляции активности](http://www.inbi.ras.ru/ubkh/50/Zvereva.pdf). Успехи биологической химии. 50, 155–202;
2. Рубцова М.П., Василькова Д.П., Малявко А.Н., Нарайкина Ю.В., Зверева М.Э., Донцова О.А. (2012). [Функции теломеразы: удлинение теломер и не только](http://cyberleninka.ru/article/n/funktsii-telomerazy-udlinenie-telomer-i-ne-tolko). Acta Naturae. 4, 44–61;
3. Janknecht R. (2004). On the road to immortality: hTERTupregulation in cancer cells. FEBS Lett. 564, 9–13;
4. <http://biomolecula.ru/content/2105>

**бАКТЕРИАЛЬНЫЕ прионы**

*Иноземцева Е. И., Рагузина А. А.*

*Научный руководитель: доцент к.б.н Голинская Л.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В XX веке учёные заинтересовались природой необычных заболеваний человека и животных: [куру](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D1%83%D1%80%D1%83_(%D0%B1%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%B7%D0%BD%D1%8C)), [Крейтцфельда - Якоба](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%B7%D0%BD%D1%8C_%D0%9A%D1%80%D0%B5%D0%B9%D1%82%D1%86%D1%84%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%B4%D1%82%D0%B0_%E2%80%94_%D0%AF%D0%BA%D0%BE%D0%B1%D0%B0), [скрэпи](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BE%D1%87%D0%B5%D1%81%D1%83%D1%85%D0%B0_%D0%BE%D0%B2%D0%B5%D1%86). Заметное сходство патологии этих болезней дало основание для гипотезы об их инфекционности, что впоследствии было экспериментально подтверждено. Тогда возник вопрос о возбудителе данных заболеваний. Прежде чем был найден ответ, были выявлены необычайные свойства возбудителей: они не размножаются на искусственных питательных средах, устойчивы к высокой температуре, формальдегиду, различным видам излучений, действию нуклеаз. Очистка инфекционного материала и его изучение позволило сделать вывод о том, что причиной является белок, который 30 лет назад получил название [прион](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%BD).

[Прионы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D1%8B) — это инфекционные агенты белковой природы, вызывающие такие заболевания, как например [коровье бешенство](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D1%83%D0%B1%D1%87%D0%B0%D1%82%D0%B0%D1%8F_%D1%8D%D0%BD%D1%86%D0%B5%D1%84%D0%B0%D0%BB%D0%BE%D0%BF%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%8F_%D0%BA%D1%80%D1%83%D0%BF%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE_%D1%80%D0%BE%D0%B3%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%B3%D0%BE_%D1%81%D0%BA%D0%BE%D1%82%D0%B0), [куру](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D1%83%D1%80%D1%83_(%D0%B1%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%B7%D0%BD%D1%8C)) и [болезнь Крейтцфельдта - Якоба](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%B7%D0%BD%D1%8C_%D0%9A%D1%80%D0%B5%D0%B9%D1%82%D1%86%D1%84%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%B4%D1%82%D0%B0_%E2%80%94_%D0%AF%D0%BA%D0%BE%D0%B1%D0%B0). Прионы способны изменять конформацию гомологичного им нормального клеточного белка, превращая его в такой же прион. Они — единственные известные инфекционные агенты, которые размножаются без участия нуклеиновых кислот. Большинство известных прионов содержит в своей структуре амилоидные фибриллы, которые, по сути, и определяют прионный фенотип. Прионные (или медленные) инфекции характеризуются медленным, но неуклонным развитием симптомов и завершаются гибелью хозяина.

До 2017 года прионы находили только у эукариот и считали, что они появились уже после того, как бактерии и эукариоты разошлись по разным ветвям эволюционного древа. Но, как выяснилось, бактериальные прионы тоже существуют и могут регулировать экспрессию генов. Однако нельзя исключить, что их влияние распространяется и на макроорганизмы.

В течение длительного времени все известные проявления прионового феномена были связаны с белком Pr P млекопитающих. Обнаружение подобных белков низших эукариот существенным образом расширило представление о прионах, в связи с чем их можно рассматривать как общебиологическое проблему.

Энди Юань и Энн Хохшильд из [Гарвардской медицинской школы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D1%80%D0%B2%D0%B0%D1%80%D0%B4%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F_%D0%BC%D0%B5%D0%B4%D0%B8%D1%86%D0%B8%D0%BD%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F_%D1%88%D0%BA%D0%BE%D0%BB%D0%B0) (США) изучили почти 60 000 бактериальных геномов в поисках детерминант белков, содержащих потенциальный прион - формирующий домен (**cPrD**). И их усилия не были тщетными: такой домен — размером 68 аминокислотных остатков — обнаружили внутри N-концевого домена фактора терминации транскрипции [Clostridium botulinum](https://ru.wikipedia.org/wiki/Clostridium_botulinum) (Cb**-Rho**) , который проявляет свойства прионов при переносе в клетки дрожжей или бактерий кишечной палочки. Прионная версия белка подразумевает ту его конфигурацию, которая, попадая в новые клетки, вызывает изменение нормальной формы аналогичных белков в прионную, действуя подобно инфекционному агенту.

Когда потенциально прион-образующий участок белка Cb**-Rho** из C. botulinum в эксперименте внесли в кишечную палочку, в ее клетках стали образовываться скопления неправильно свернутых белков, характерные для прионов. Далее, когда кусочек такого белка вносили в клетки дрожжей, он брал на себя функции известного прион - образующего дрожжевого белка.

Домен c Pr D обнаружили в составе ρ-факторов шести бактериальных типов, включающих основных представителей человеческой кишечной микробиоты. А это значит, что прионы бактерий могут каким-то образом влиять и на жизнедеятельность клеток человека.

Поскольку Rho-факторы, «прионизируясь», изменяют транскриптон, они могут быть источниками эпигенетического разнообразия бактерий и адаптировать их к изменяющимся условиям среды. Например, помогать патогенам уходить от иммунного ответа во время инфекции или способствовать приобретению персистирующими клетками толерантности к антибиотикам

Известно, что дрожжевые прионы прекрасно размножаются в клетках бактерий. Однако в середине 2000-х прионоподобные свойства обнаружил испанский ученый Рафаэль Хиральдо у одного из белков, инициирующих репликацию бактериальных плазмид. Специфический домен белка RepA (особенно в случае точечной мутации) менял конформацию на прионоподобную при контакте с плазмидной ДНК в месте начала репликации. Этот домен вызывал у бактерии Escherichia coli амилоидную протеинопатию, передающуюся от родительской клетки дочерним (вертикально), и уже безо всякой ДНК инициировал агрегацию молекул гомологичного белка in vitro. Наблюдавшие это ученые предположили, что такие конформационные перестройки лежат в основе регуляции копийности некоторых плазмид. Авторы исследования относили к прионам амилоиды, способные придавать соответствующие свойства другим белкам и передаваться как вертикально, так и горизонтально (от клетки к клетке) — то есть обладать инфекционностью. Возможно, из-за того, что RepA не был инфекционным белком, исследователи решили называть его и подобные молекулы прионоидами. Но этот термин так и не стал «вирусным», и другие биологи продолжают называть все прионоподобные белки прионами.

Открытие бактериального приона, способного «работать» в эукариотических клетках, подтверждает существование белковой наследственности у бактерий и позволяет предположить, что прионы появились еще до эволюционного расхождения эукариот и бактерий. Конечно, RepA-прионоид был обнаружен намного раньше, но кодируется он не бактериальной хромосомой, а плазмидой.

Подобные эксперименты в конечном счёте помогут учёным лучше понять поведение прионов, в том числе в теле человека. Энн Хохшильд предположил: «Прионы, похоже, куда более распространенная в природе вещь, чем мы думали, и мы уверены, что в бактериях будут обнаружены и другие прион-образующие белки».

Литература

1. Кривигина Е.В., Г.Ф. Жигаев Г.Ф.\ Клиническая медицина. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2011. № 1 (77) Часть 1 [с.290-293]
2. «[Прионы: исследования таинственных молекул продолжаются](http://biomolecula.ru/content/1140)» Автор: [Балахонова Вероника](http://biomolecula.ru/authors/3127). (<http://biomolecula.ru/content/1140> )
3. «У бактерий тоже есть прионы» Автор: [Панов Андрей](http://biomolecula.ru/authors/4614).( <http://biomolecula.ru/content/2107#l6>)
4. Pola C. (2012). [Prion escape to the spleen](http://dx.doi.org/10.1038/nm.2702). Nat. Med. 18, 360
5. <http://echo.msk.ru/programs/granit/1911210-echo/>
6. <http://www.vesti.ru/doc.html?id=2843918>

**ФУНКЦИИ ШАПЕРОНА ГИСТОНОВ FACT**

*Жданов Р.Р., Савин С.Д.*

*Научный руководитель: к.б.н., ст. преподаватель Гирина Л.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Наследственная информация эукариот закодирована в молекуле ДНК, которая плотно упакована в ядре клетки. Упаковка заключается в том, что ДНК связана с белками-гистонами, которые обеспечивают правильную укладку генома и играют ключевую роль в регуляции его экспрессии. Такой ДНК-белковый комплекс называется  [хроматином](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%B8%D0%BD). Повторяющейся единицей хроматина является [нуклеосома](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0), в которой ДНК совершает примерно два витка вокруг основания из [гистонов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%BE%D0%BD%D1%8B) .Гистоны позволяют упаковать огромный геном эукариот в микроскопическое ядро и управлять им. Белки-гистоны сигнализируют молекулярным машинам клетки, что именно в этом месте, находится активный ген, или что в данной точке ДНК повреждена. Важная роль в образовании правильной структуры хроматина принадлежит шаперонам гистонов. [Белки-шапероны](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A8%D0%B0%D0%BF%D0%B5%D1%80%D0%BE%D0%BD%D1%8B) укладывают биологические молекулы так, чтобы они могли выполнять свои функции. Шапероны гистонов, в свою очередь, строят нуклеосомы.

Термин «молекулярный шаперон» впервые использовал в 1978 году РонЛаскей, в работе по описанию ядерного белка нуклеоплазмина, предотвращающего агрегацию белков-гистонов с ДНК при образовании нуклеосом [[1](http://biomolecula.ru/content/2066#l3)]. Гистоны содержат множество положительно заряженных аминокислот, которые обладают большим сродством к отрицательно заряженным фосфатным группам в ДНК. Шапероны, участвующие в формировании нуклеосом, несут отрицательный заряд и способны экранировать определенные поверхности гистонов, предотвращая их неспецифическое слипание с ДНК [[2](http://biomolecula.ru/content/2066#l5)].

Считается, что основная функция шаперонов гистонов – предотвращение неспецифического связывания гистонов с ДНК до формирования правильной и энергетически наиболее выгодной структуры нуклеосомы [3]

Шаперон гистонов FACT (facilitateschromatintranscription - «усиливающий транскрипцию хроматина») обнаружен в 1998 г. в ходе поиска фактора, облегчающего транскрипцию хроматина РНК-полимеразой II (РНКП2) invitro [4]. До этого FACT был описан под другим именем как фактор, способный связывать модифицированную цисплатином ДНК [5].FACT – мультифункциональный белковый комплекс, который обладает гистон-шапероновой активностью и играет важную роль во многих процессах, таких как клеточная дифференцировка, транскрипция, репликация и репарация ДНК, развитие новообразований. FACT стал мишенью для кураксинов, противоопухолевых препаратов нового поколения.

В структуре гетеродимера FACT, можно выделить две субъединицы – Spt16 (suppressorof Ty16) и SSRP1 (structurespecificrecognitionprotein 1). Вцелом вся субъединица с высокойаффинностью связывается с димером гистонов H2A-H2B.

Единая общепринятая модель работы FACT, которая включает все биохимические активности этого комплекса, не сформирована. В ходе работы РНК-полимеразы нарушают структуру хроматина, нуклеосомная организация которого является барьером для их продвижения по ДНК [2]. Шапероны гистонов участвуют в процессе транскрипции хроматина. Они, во-первых, могут облегчать прохождение ферментов через нуклеосомы, а во- вторых, восстанавливать структуру хроматина после прохождения полимераз. FACT был первым фактором, для которого показали, что он облегчает транскрипцию в хроматине invitro [6]. Полагают, что FACT работает во время элонгации транскрипции за счет конкуренции с ДНК за взаимодействие с гистонами. Это облегчает диссоциацию ДНК и гистонов и уменьшает эффективность формирования непродуктивных элонгационных комплексов [7]. Известно, что при транскрипции РНК-полимераза может вызывать вытеснение из нуклеосом как димера гистонов Н2А-Н2В, так и тетрамера (Н3-Н4)2, причем особенно эффективно на активно транскрибируемых генах. В присутствии дрожжевого FACT эффективность вызываемых РНК-полимеразой вытеснения и обмена гистонов значительно снижаются.В этом процессе FACT взаимодействует с димером гистонов Н2А-Н2В в нуклеосоме, способствуя отворачиванию нуклеосомной ДНК от октамера гистонов и обеспечивая восстановление канонической структуры нуклеосомы после транскрипции.

В клетке FACT демонстрирует такую же кинетику связывания с хроматином и продвижения по транскрибируемым генам, как и РНК- полимераза II. Таким образом, важной функцией шаперона FACT является сохранение нуклеосом на ДНК во время транскрипции. FACT может либо удерживать гистоны на прежнем месте, либо восстанавливать их связь с ДНК сразу после прохождения РНК-полимеразы. Мутации в генах, кодирующих шапероны FACT и Spt6, приводят к активации транскрипции с криптических промоторов в результате потери нуклеосом [8], что также свидетельствует о важной роли этих шапе-ронов в поддержании структуры хроматина.

FACTне только облегчает считывание РНК с матрицы ДНК, упакованной в хроматин, но и по сравнению с  [АТФ-зависимыми комплексами ремоделирования](https://en.wikipedia.org/wiki/Chromatin_remodeling#ATP-dependent_chromatin_remodeling), при перестройке хроматина не требуют затрат энергии АТФ. Это обусловлено тем, что FACT не передвигают гистоновое основание нуклеосомы вдоль ДНК, а переворачивают последнее [9].

Не менее важна и роль FACT в канцерогенезе. Экспрессия FACT в недифференцированных, герминальных и стволовых клетках животных (и растений) в норме значительно выше, чем в более дифференцированных клетках, для которых характерен низкий уровень экспрессии FACT. Концентрация этого шаперона гистонов зависит не от пролиферативной активности клеток, а от уровня их дифференцировки. Активность в канцерогенезе обусловлена тем, что многие виды опухолевых клеток обладают сходством со стволовыми. Усиление экспрессии FACT необходимо, но недостаточно для опухолевой трансформации клеток; поэтому опосредованные FACT изменения метаболизма не могут быть онкогенными, но могут служить предпосылкой для онкогенных преобразований.

Из множества проведенных исследований и полученных результатов, следует отметить бесспорную роль FACT в таких процессах, как клеточная дифференцировка, репликация, репарация и рекомбинация ДНК, инициация и элонгация транскрипции, поддержание функции центромер и канцерогенез. Но по-прежнему остается загадкой вид раскрученных с помощью FACT нуклеосом, механизм перераспределения комплекса в ядре, переводящие его из свободного состояния в связанное с хроматином, как именно идет взаимодействие с опухолевыми клетками и многие другие действия, которые вызывает нахождение в клетках этого шаперона гистонов FACT.

Литература

1. Laskey R.A., Honda B.M., Mills A.D., Finch J.T. (1978). [Nucleosomes are assembled by an acidic protein which binds histones and transfers them to DNA](http://www.nature.com/nature/journal/v275/n5679/abs/275416a0.html). Nature. **275**, 416–420

2. Tyler J.K. (2002). [Chromatin assembly.Cooperation between histone chaperones and ATP-dependent nucleosome remodeling machines](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1432-1033.2002.02890.x/abstract). Eur. J. Biochem. FEBS. **269**, 2268–2274;

3. Ransom M., Dennehey B.K., Tyler J.K. 2010. Chap eroning histones during DNA replication and repair. Cell. 140, 183–195

4. Orphanides G.L.G., Chang C.H., Luse D.S., Reinberg D. 1998.FACT, a factor that facilitates transcript elongation through nucleosomes.Cell. 92, 105–116.

5. Toney J.H., Donahue B.A., Kellett P.J., Bruhn S.L., Essigmann J.M., Lippard S.J. 1989. Isolation of cDNAs encoding a human protein that binds selectively to DNA modified by the anticancer drug cisdiamminedichloroplatinum(II). Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86, 8328–8332.

6. Orphanides G., LeRoy G., Chang C.H., Luse D.S., Reinberg D. FACT, a factor that facilitates transcript elongation through nucleosomes // Cell. 1998. Vol. 92. N 1. P. 105–116.

7. Hsieh F.-K., Kulaeva O.I., Patel S.S., Dyer P.N., Luger K., Reinberg D., Studitsky V.M. Histone chaperone FACT action during transcription through chromatin by RNA polymerase II // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. Vol. 110. N 19. P. 7654–7659.

8. Cheung V., Chua G., Batada N.N., Landry C.R., Michnick S.W., Hughes T.R., Winston F. Chromatin- and transcription-related factors repress transcription from within coding regions throughout the Saccharomyces cerevisiae genome // PLoS Biol. 2008. Vol. 6. N 11. e277.

9. Валиева М.Е. Шапероны гистонов: разнообразие и функции// ВЕСТН. МОСК. УН-ТА.сер. 16. биология. 2016. № 3, 60-64с

**РОЛЬ МЕТАГЕНОМИКИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ**

*Жангазиева А.С.,Башбаева И.Б.*

*Научный руководитель: к. м. н., доцент Афонина С. Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В современной молекулярной биологии одной из самых актуальных задач является исследование структуры белков, так как функции определяются именно пространственной структурой. Для экспериментального изучения структуры белков применяются методы рентгеноструктурного анализа или спектроскопия ядерного магнитного резонанса. Однако далеко не во всех случаяхудается получить положительный результат.

Одним из подходов к решению проблемы восстановления белков является гомологическое моделирование. Гомологами называют белки, имеющие общее происхождение и поэтому обладающие схожими аминокислотными последовательностями. Два белка-гомолога обычно обладают похожей пространственной структурой за исключением небольшого числа отличающихся участков, которые не так сложно разрешить. Проблемой этого метода является то, что для многих белковых семейств структура не известна, поэтому нет гомолога, с которым можно было бы сравнить.

Когда о структуре целевого белка не известно практически ничего, задача по определению или хотя бы предположению его третичной структуры становится неразрешимой за счет огромного числа вариантов укладки цепи. Однако можно значительно уменьшить это число, учитывая локальные особенности, которые характерны для большинства белковых цепей.

Исследователями был предложен один из методов уменьшения пространства укладки белковой цепи, который основан на анализе мутантных гомологичных последовательностей. Идея метода в том, что довольно часто случайные мутации аминокислот в белковой цепи сопровождаются возникновением других, компенсаторных мутаций, которые нивелируют негативный эффект исходной мутации. Например, появление в цепи аминокислоты с крупным боковым радикалом может компенсироваться уменьшением размера радикала в соседней области, при этом сохраняя общую укладку цепи. Такая коэволюция в белковой последовательности может указывать на то, что мутированные аминокислоты скорее всего контактируют друг с другом в пространстве. Эта информация существенно упрощает компьютерным системам перебор возможных вариантов структуры.

Данный подход уже был использован учеными для моделирования нескольких белковых структур, однако до сих пор он был ограничен последовательностями из известных баз данных. Авторы нового исследования предложили учитывать при компьютерном предсказании структуры неизвестного белка результаты метагеномных анализов. Метагеномика подразумевает секвенированиевсей выделенной из какого-либо живого сообщества ДНК (это могут быть образцы морской воды, содержимого кишечника и т.д.), что позволяет узнать последовательности гораздо большего числа микроорганизмов, чем можно вырастить в лаборатории. Этот подход хорош еще и тем, что в «дикой» микробной экосистеме одновременно присутствует большое число близких видов, имеющих различные компенсаторные мутации.

Применив новый метод к известным аминокислотным последовательностям, ученым удалось предсказать ранее не описанные структуры для белков из 614 семейств, среди которых 206 были мембранными белками (их структуры биологам даются существенно тяжелее). Многие из предсказанных структур удалось отнести к уже известному типу третичной структуры, однако для 137 белков поиск по крупнейшей специализированной базе ProteinDataBank не дал результатов, то есть они представляли собой новые типы свертки.Тем не менее, остается еще большое число неописанных структур, которые, как полагают ученые, удастся предсказать на основании метагеномных данных.

Литература

1. Травень, В. Ф. Органическая химия [Электронный ресурс] : учебное пособие для вузов : в 3 т. Т. III / В. Ф. Травень. — 3-е изд. (эл.). — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. — 388 с.;
2. Гарковенко А.В.Гомологичное моделирование пространственной структуры GFP – подобных белков /А.В.Гарковенко, А.А.Пахомов // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6.;
3. **Молотилин Т.М,** Метагеномика помогла предсказать структуры для 614 семейств белков [Электронный ресурс] // Т. М. Молотилин – Электрон.текстовые дан. – Москва: [б.и.], 2017. – Режим доступа: <http://science.sciencemag.org/content/355/6322/294>.

**ПРОТЕОМИКА В ИНДИИ: КЛИНИЧЕСКИЙ АСПЕКТ**

*Дипти Сингх*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н. Е.В.Попова*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Протеомика является весьма перспективной в различных аспектах прикладных биологических исследований. В Индийской науке, интерес к исследованиям в области протеомики заметно вырос за последнее десятилетие. В настоящее время протеомика широко используется как для базовых, так и для исследований в области трансляции, охватывая область инфекционных и иммунных нарушений, нарушений репродуктивной функции, сердечно-сосудистой и эндокринной системы, онкологических и гематологических заболеваний. По всей Индии были открыты лаборатории, изучающие прикладное значение протеомики.

Хотя Индия и не могла играть значительную роль в проектах секвенирования генома человека, в течение последних 10 лет страна проделала длинный путь в реализации исследований генома человека. В настоящее время существует более ста научно-исследовательских лабораторий в примерно 80 академических или научно-исследовательских институтов по всей Индии, участвующих в различных уровнях исследования протеома. Таким образом, можно с уверенностью сказать, что в последние несколько лет, протеомика стала мощным инструментом для разнообразных биологических исследований в стране. Повышение финансовой и инфраструктурной поддержки со стороны правительства, вероятно, позволит протеомике в Индии подняться на новую высоту.

В ходе основных этапов анализа протеома могут быть использованы раличные технологии, включающие пробоподготовку, разделение белков или пептидов, идентификацию и характеристику белков. Технологии могут комбинироваться в зависимости от конкретной задачи. Так как белки являются наиболее чувствительными, быстро реагирующими и быстро восстанавливающимися, то продвижение технологий протеомики позволит решить проблемы, связанные с патогенезом различных заболеваний.

Немаловажным применением протеомики является обнаружение биомаркеров заболеваний, а также лекарственных мишеней, которые позволят разработать методики, направленные на диагностику и лечение таких заболеваний, как рак, заболевания сердечно-сосудистой системы, ожирение и сахарный диабет 2 типа. Это приложение технологии протеомикии «ноу-хау» в области медицины называется клинической протеомикой. Клиническая протеомика включает в себя технологии обнаружения, производства, диагностики и терапии.

Таким образом, клинические методы протеомики позволят выявить новые маркеры, которые могли бы улучшить постановку диагноза, оценить динамику течения заболевания, риск рецидива, осуществить прогнозирование.

**Нутригеномика – новая отрасль в науке**

*Филатов Н. Д.*

*Научный руководитель: старший преподаватель, к.б.н., Л.В. Гирина*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Старение проявляется как постепенное ухудшение физиологических функций: ослабляется защита иммунной системы, уменьшается мышечная масса, возникают нарушения работы мозга и сердечно-сосудистой системы. До недавнего времени казалось, что процесс старения не поддается контролю. Однако, в последние десятилетия в биогеронтологии — науке о старении — был сделан ряд важных открытий. Ученые давно догадывались, что доступные глазу признаки старения — это последствия незаметных изменений на уровне клеток и молекул, но выяснить, какие же это молекулярные изменения, удалось совсем недавно. На данный момент выделяют девять клеточно-молекулярных признаков старения, общих для различных организмов. К этим признакам относят:

* повышение нестабильности генома;
* укорочение [теломер](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B5%D0%BB%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D1%80%D1%8B);
* эпигенетические изменения;
* изменения в межклеточной коммуникации;
* нарушение белкового гомеостаза;
* истощение стволовых клеток;
* клеточное старение;
* митохондриальные нарушения;
* разрегулирование клеточных сигнальных путей, чувствующих уровень питательных веществ.

Эксперименты в области биогеронтологии и анализ человеческих популяций долгожителей выявили любопытные взаимосвязи между типом питания и продолжительностью жизни. И сейчас по всему миру проводятся исследования, нацеленные на подбор оптимального рациона, который мог бы замедлить процессы старения и развитие возрастных болезней. В связи с этим возникла новая отрасль в науке — **нутригеронтология, опирающаяся на исследования в области нутригеномики.** Нутригеномика исследует влияние различных компонентов пищи и биологически активных добавок на экспрессию генов [[1](http://biomolecula.ru/content/1905#l7)]. Ожидается, что определение биохимических путей взаимодействия пищи и генов позволит эффективно лечить неинфекционные заболевания (например, диабет, рак, патологии сердечно-сосудистой системы), а также предотвращать их развитие благодаря выявлению ранних маркеров нарушений в метаболизме и составлению индивидуального плана питания [[2](http://biomolecula.ru/content/1905#l6)].

В биогеронтологии широко известны два клеточных сигнальных пути, ослабление которых приводит к удлинению жизни у многих организмов:сигнальный путь инсулина/инсулиноподобного фактора роста (IIS) и сигнальный путь mTOR. Эти сигнальные пути тесно переплетены между собой и «зондируют» уровень питательных веществ в клетке.Пути mTOR и IIS активируются компонентами пищи: углеводами (активируют в большей степени IIS путь) и аминокислотами (запускают mTOR-сигналинг). Ослабление сигналов от этих путей на различных стадиях продлевает жизнь самым разным модельным организмам, и на настоящий момент не осталось сомнений, что регуляция именно этих путей — главный рычаг воздействия рациона на здоровье и долголетие [11].

Компоненты пищи способны влиять на геном организма. Экспрессия генов — это процесс, в ходе которого [наследственная информация](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D0%B0%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C) от гена преобразуется в функциональный продукт — [РНК](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B8%D0%B1%D0%BE%D0%BD%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%8F_%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D0%B0) или [белок](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B5%D0%BB%D0%BA%D0%B8). Экспрессия генов регулируется на разных стадиях, но главный «контрольный пункт» — это начало транскрипции (синтеза РНК на матрице ДНК). Инициация транскрипции зависит как от наличия необходимых белков (транскрипционные факторы, ферменты и пр.), так и от доступности (сродства) ДНК для этих белков (т.е. от эпигенетических модификаций). [3].

Все клетки нашего организма — от нейронов до лейкоцитов — несут одинаковый генетический материал. Но в каждой клетке экспрессируется специфический набор генов — это определяет специализацию клеток. Включение/выключение генов регулируется эпигенетическими модификациями. В клетке ДНК компактизирована, находится в комплексес белками гистоноами, различные химические модификации которых включают или выключают ген. Помимо этого, выключение генов происходит при модификации непосредственно молекулы ДНК ([метилирование](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%B8%D0%BB%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5_%D0%94%D0%9D%D0%9A)).

Некоторые компоненты пищи влияют на эти процессы:

1. Ацетилирование гистонов (включение гена). Сульфарафан (содержащийся в капусте, брокколи, цветной капусте) и диаллилдисульфид (из чеснока) — включают гены, подавляя ферменты, которые репрессируют ген посредством снятия ацетильной метки с гистонов. Поэтому сульфарафан способен включать молчащие в раковых клетках гены — регулировщики нормального деления, что подавляет рост опухоли. Масляная кислота, которая образуется микрофлорой человека при употреблении клетчатки, оказывает аналогичное влияние на работу генов, а также активирует иммунную систему, что подавляет рост раковых клеток. Ингибирующее действие масляной кислоты на метастазирование было показано у крыс на модели рака прямой кишки [[2](http://biomolecula.ru/content/1905#l8)].

2. Метилирование ДНК (выключение гена). Источники метильных групп ([холин](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%BD), [метионин](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B8%D0%BD), [фолиевая кислота](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%B5%D0%B2%D0%B0%D1%8F_%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D0%B0)) содержатся в яйцах, шпинате, бобовых и печени. У взрослых крыс хронический дефицит метильных групп влечет за собой спонтанное образование опухолей [[4](http://biomolecula.ru/content/1905#l9)], а также ведет к активации мобильных элементов генома [[5](http://biomolecula.ru/content/1905#l10)]. Широко известен эксперимент, проведенный Джиртлом и Уотерлэндом, с трансгенными грызунами [агути](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%B3%D1%83%D1%82%D0%B8) (Avy agouti), которые имеют желтую окраску и предрасположенность к ожирению, диабету и раку. При добавлении в корм беременным самкам агути холина, метионина и фолиевой кислоты у них рождалось нормальное потомство с коричневой окраской шерсти и без отклонений в здоровье [[6](http://biomolecula.ru/content/1905#l11)]. Дело в том, что присутствие источников метильных групп в пище матери способствовало метилированию (и, соответственно, выключению) гена agouti, вызывавшего болезненный фенотип у эмбрионов.

Для нормального развития плода и протекания беременности у женщин необходимы источники метильных групп, в частности, фолиевая кислота. При ее дефиците повышается риск преждевременных родов, выкидышей, а также возможны патологии в нервной системе плода и низкий вес новорожденного [[7](http://biomolecula.ru/content/1905#l14)]. Точные механизмы действия фолиевой кислоты до сих пор не ясны, известно лишь, что усиливается метилирование гена IGF2 (инсулиноподобного фактора роста 2), участвующего в росте и развитии плода [[8](http://biomolecula.ru/content/1905#l15)].

Второй механизм, посредством которого пища изменяет экспрессию генов, иллюстрирует следующая схема: «компонент пищи → рецептор → сигнальный путь → транскрипционный фактор → включение генов». Рецепторы распознают строго определенную структуру веществ, поэтому схожие по строению компоненты пищи различно воздействуют на организм (например, насыщенные и ненасыщенные жиры). В данной схеме возможны небольшие вариации, например, ядерные рецепторы совмещают в себе функции рецептора и транскрипционного фактора: они распознают различные гидрофобные компоненты еды или их производные (жирные кислоты, витамин D, ретиноевую кислоту, желчные соли и пр.), а затем изменяют активность регулируемых ими генов [[9](http://biomolecula.ru/content/1905#l17)].

Пища состоит из белков, углеводов и жиров. Компоненты пищи расщепляются в процессе пищеварения до более простых веществ (аминокислоты, моносахара, жирные кислоты), которые далее транспортируются в клетки и связываются рецепторами. Сигнал от рецептора распространяется по клетке, доходит до ядра и экспрессия генов изменяется. Длительные изменения в экспрессии генов, в конечном счете, сказываются на здоровье и продолжительности жизни.

**Сигнальный путь IIS** (insulinand IGF-1 signaling) информирует клетку о наличии глюкозы через уровень инсулина в крови. Путь IIS берет начало от мембранного рецептора, распознающего инсулин или инсулиноподобный фактор роста (IGF1), и затем распространяется по клетке, стимулируя ее рост и деление и инактивируя транскрипционные факторы FOXO (регулируют стресс-ответ, репарацию ДНК, клеточную смерть, аутофагиюи др). Углеводы, содержащиеся в пище, в зависимости от строения, по-разному влияют на уровень инсулина в крови. Чем проще структура углевода, тем быстрее он переваривается и поступает в кровь, инициируя выработку инсулина.

Сложные углеводы (клетчатка, крахмал) перевариваются постепенно, не вызывая сильного роста уровня сахара в крови и резких выбросов инсулина, в то время как простые углеводы (сахароза, глюкоза) приводят к скачку сахара в крови уже через 10–15 минут после употребления, что провоцирует выработку инсулина. Для того, чтобы оценить насколько возрастает уровень сахара в крови после потребления того или иного продукта, были введены такие параметры как [гликемический индекс](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%BB%D0%B8%D0%BA%D0%B5%D0%BC%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D0%B8%D0%BD%D0%B4%D0%B5%D0%BA%D1%81) и гликемическая нагрузка. Рацион с высокой гликемической нагрузкой стимулирует сигнальные пути IIS и mTOR, что в долгосрочной перспективе неблагоприятно сказывается на здоровье. Согласно исследованиям, питание с высоким гликемическим индексом/нагрузкой повышает риск таких возрастных заболеваний как диабет II типа и сердечные приступы. В то время как соблюдение диеты с низкой гликемической нагрузкой (например, диеты, основанной на овощах), наоборот, благотворно сказывается на здоровье и даже способно обратить диабет II типа. А ограничение калорийности в течение долгого времени (при сохранении на нормальном уровне всех необходимых организму веществ) значительно замедляет старение сердечно-сосудистой системы и скелетной мускулатуры у людей.

**Белок mTOR** — ключевой регулятор клеточного роста и метаболизма. mTOR расположен в цитоплазме, активируется он аминокислотами и функционирует в двух различных комплексах: mTORC1 (mTORcomplex 1) и mTORC2 (mTORcomplex 2). Комплекс mTORC1 хорошо изучен, он собирается при поступлении сигналов от питательных веществ и рецепторов инсулина, факторов роста. mTORC1 способствует синтезу белков, подавляет аутофагию и регулирует метаболизм глюкозы. mTORC2 также собирается при запуске IIS и mTOR, но приводит к ингибированию транскрипционного фактора FOXO3. Поскольку mTOR активируется аминокислотами, то их невысокое содержание в пище способно увеличить продолжительность жизни. Например, мыши, содержащиеся на низкобелковой диете, живут гораздо дольше мышей с высокобелковой диетой (150 недель против 100 недель) [10].

Ограничение в употреблении только незаменимых аминокислот тоже сказывается на долголетии. Так, у крыс ограничение по метионину увеличивает срок жизни, а рацион с высокой концентрацией этой аминокислоты ускоряет старение сосудов. Как же можно использовать эти знания по отношению к людям? Во многих культурах красное мясо — важный источник белков в рационе. Недавние исследования показали, что существует зависимость между степенью употребления мяса и уровнем сердечно-сосудистых заболеваний, диабета II-го типа, рака и смертности от всех случаев. Однако следует признать, что вклад в повышенный уровень смертности от потребления мяса вносит не только белковая составляющая. Дело в том, что мясо, особенно жареное или копченое, содержит достаточно большое количество различных веществ, негативно влияющих на здоровье. А вот корреляции между употреблением растительных белков и уровнем смертности найдено не было, что обусловлено аминокислотным составом растительных белков, которые содержат меньше метионина и цистеина. Исследования выявили также, что люди, употребляющие мало белков (менее 10% от суточных калорий), имеют низкий уровень IGF1 и сниженный риск развития рака и смерти от всех случаев. Однако пожилым людям старше 65 лет рекомендуется повысить количество белка в пище, чтобы предотвратить потерю массы и чрезмерного снижения уровня IGF1 и других важных факторов.

Постоянная стимуляция IIS и mTOR ведет к сокращению жизни и высокому риску возраст-зависимых заболеваний через снижение аутофагии, нарушения в функционировании митохондрий, повышение агрегации белков (так как TOR ведет к образованию белков) и уровня воспаления[[1](http://biomolecula.ru/content/1906#l12)1]. Поэтому излишек углеводов и белков в рационе способствует атеросклерозу, остеопорозу, нейродегенеративным заболеваниям, раку, нечувствительности к инсулину. Подобные механизмы вписываются в парадигму, согласно которой процесс старения — это следствие чрезмерной стимуляции клеток во взрослом организме посредством постоянной «бомбардировки» питательными веществами, ростовыми факторами и митогенными стимулами.

Литература

1. Fenech M., El-Sohemy A., Cahill L., Ferguson L.R., French T.A., Tai E.S. et al. (2011). [Nutrigenetics and nutrigenomics: viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3121546/). J. Nutrigenet. Nutrigenomics**. 4**, 69–89;
2. Myzak M.C. and Dashwood R.H. (2007). [Histone deacetylases as targets for dietary cancer preventive agents: lessons learned with butyrate, diallyl disulfide, and sulforaphane](http://www.eurekaselect.com/55652/article). Curr. DrugTargets. **7**, 443–452;
3. Müller M. and Kersten S. (2003). [Nutrigenomics: goals and strategies](http://www.nature.com/nrg/journal/v4/n4/full/nrg1047.html). Nat. Rev. Genet. **4**, 315–322;
4. Poirier L.A. (1986). [The role of methionine in carcinogenesis in vivo](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3591522). Adv. Exp. Med. Biol. **206**, 269–282;
5. Fenech M. (2005). [The Genome Health Clinic and Genome Health Nutrigenomics concepts: diagnosis and nutritional treatment of genome and epigenome damage on an individual basis](http://mutage.oxfordjournals.org/content/20/4/255.long). Mutagenesis. **20**, 255–269;
6. Waterland R.A. and Jirtle R.L. (2003). [Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC165709/). Mol. Cell. Biol. **23**, 5293–5300;
7. Scholl T.O. and Johnson W.G. (2000). [Folic acid: influence on the outcome of pregnancy](http://ajcn.nutrition.org/content/71/5/1295S.long). Am. J. Clin. Nutr. **71**, 1295S—1303S;
8. Steegers-Theunissen R.P., Obermann-Borst S.A., Kremer D., Lindemans J., Siebel C., Steegers E.A. et al. (2009). [Periconceptional maternal folic acid use of 400 microg per day is related to increased methylation of the IGF2 gene in the very young child](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2773848/). PLoS One. **4**, e7845;
9. Francis G.A., Fayard E., Picard F., Auwerx J. (2003). [Nuclear receptors and the control of metabolism](http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.physiol.65.092101.142528). Annu. Rev. Physiol. **65**, 261–311;
10. Биомолекула: «[Старческие капризы природы: почему люди прекращают стареть, а мыши не успевают жить](http://biomolecula.ru/content/1871)»;
11. Биомолекула: «[Нутригеронтология: питания vs. старение](http://biomolecula.ru/content/1906)».

**ОКСИГЕНОМИКА**

*Ходченко В. В.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева Е. Н*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Окислительный стресс, связанный с воспалением, радиацией, реперфузией и перегрузкой железом, является одной из ведущих причин развития рака. В условиях окислительного стресса активные формы кислорода способствуют перестройке генетической информации. Имеются данные, что канцерогенез, индуцированный окислительным стрессом, включает механизмы инактивации тумороподавляющего гена .

До недавнего времени по данным экспериментов in vitro, оксидативное повреждение ДНК, как причина мутаций, связывалось со случайным по локализации процессом, в то время как эксперименты in vivo это не подтверждали. С появлением метода ДНК преципитации и имеющимися данными о структуре генома, стало достоверно известно, что оксидативное повреждение ДНК локализовано не случайным образом. Исследования, связанные с изучением локализации окислительных повреждений ДНК в геноме живых клеток получили название оксигеномика [2, с. 441].

Большинство биохимиков утверждают, что свободно радикальные реакции обладают низкой специфичностью в сравнении с взаимодействием антиген-антитело. Это позволяет предположить, что повреждение ДНК при оксидативном стрессе не имеет конкретной мишени. Однако лаборатория Shinya Toyokuni опровергла эту гипотезу. В эксперименте с ферронитроацетат-индуцированной почечной карциномой было обнаружено увеличение числа оксидативно модифицированных участков ДНК, включавших 8-оксигуанин. Было показано, что делеции и единичные нуклеотидные замены в гуанин-цитозиновых сайтах преимущественные мутации, вызываемые ферронитроацетатом. Микросателлитный анализ потомства гибридных крыс разных линий показал, что тумороподавляющие гены , гомозиготно удалялились или метилировались в промоторном участке. р16 связан не только с белком ретинобластомы, но и с ТР53, апосредованным через и MDM2, который также связан с транскрипцией р16 тумороподавляющего гена. Таким образом, оксидативный стресс селективно атакует наиболее критичный участок генома. Позже было обнаружено, что потеря аллеля р16 происходит в течение недели после начала эксперимента, что свидетельствует о наличии «хрупких» участков генома, чувствительных к оксидативному стрессу [2, с. 443].

In vitro получены сведения, что некоторые участки хромосомы, включая теломеры, чувствительны к оксидативному стрессу. Вместе с тем к настоящему времени имеется ограниченное число данных, свидетельствующих о том, что только часть генома чувствительна к окислительному повреждению in vivo [2, с. 444].

Изучение эффектов дополнительного введения ионов железа с питьевой водой в сочетании с ионизирующим излучением в различных дозах позволило выявить в ДНК крови крыс гиперчувствительную в отношении к радиации область при комбинированных воздействиях железа и однократного γ-облучения в низкой дозе – 25 сГр. Наблюдавшиеся при этом ранние реакции в виде анеуплоидии у этих животных сопровождались сокращением продолжительности жизни более, чем на 30% по сравнению с контролем.

С использованием метода иммунопреципитации были проведены исследования с целью создания библиотеки из фрагментов ДНК величиной порядка 1 тпо, которые содержат один или более остатков 8-оксигуанина или аденина, модифицированного акролеином (альдегидом, образующимся в результате перекисного окисления липидов). Следует учитывать, что геномная ДНК, связанная с гистоновыми белками, интегрирована в структуру хроматина, и только часть его структуры открыта для транскрипции. Информация с генома не является непрерывной, а состоит из множества фрагментов, которые образуют хромосомы. Была принята концепция “территории хромосомы”. Эта концепция предполагает, что генетическая информация, соответствующая любой хромосоме, локализуется в определенной степени фиксированном месте ядра в интерфазе, и может быть разделена на ядерную центральную и ядерную периферическую области. Эти локализации, по-видимому, отличаются в различных видах клеток. В экспериментах на мышах было показано, что часть генома, соответствующая хромосоме, локализованной на периферии ядра, является более чувствительной к модификации акролеином. На основании имеющихся данных можно предполагать наличие специфических путей передачи сигнала, которые приобретаются каждым видом опухоли [1, с. 484-485].

Несмотря на бурное развитие методов лечения рака, его предотвращение не менее важная задача. Оксигеномика может стать направлением, которое позволит открыть биомаркеры для оценки риска развития опухолеобразования, в условиях повышенной генетической нестабильности, связанной с условими окружающей среды; направлением, которое может дать необходимые знания для проведения более эффективной профилактики.

Литература

1. Иванов С. Д. Железо и рак: роль ионов железа в процессе канцерогенеза и при лучевой терапии опухоленосителей. [Текст] / Иванов С. Д. // Успехи современной биологии, 2013, том 133, № 5, 481–494 с.
2. Shinya Toyokuni Molecular Mechanisms of Oxidative Stress-induced Carcinogenesis: From Epidemiology to Oxygenomics. [Текст] / Shinya Toyokuni // Life, 60(7), 441–447 с.

**МИНОРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ НУКЛЕИНОВЫХ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ В ДНК И РНК**

*Курмангазиева Ф., Семёнова Т.  
Научные руководители: к.б.н., доцент Шостак Е.И.;*

*к.б.н, доцент Павлова М.М.*

## *Кафедра химии и фармацевтической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Нуклеиновые кислоты– биологические полимерные молекулы, хранящие всю информацию об отдельном живом организме, определяющие его рост и развитие, а также наследственные признаки, передаваемые следующему поколению.  Даже такие незначительные структуры нуклеиновых кислот, как минорные – редкие нуклеиновые азотистые основания, активно используются человеком. Они, безусловно, привлекают внимание ученых и исследователей. Строение и свойства их не до конца изучены, но существующие знания о роли минорных нуклеиновых азотистых оснований, уже позволяют сделать вывод о том, насколько широким может быть спектр их применения. Исходя из этого, задачей данной работы было рассмотреть строение, свойства, методы выделения и функции минорных нуклеиновых азотистых оснований.

Нуклеиновые кислоты отличаются от других биополимеров относительно малым разнообразием мономерных единиц, входящих в их состав. Принято разделять мономерные единицы нуклеиновых кислот на основные компоненты и редкие (минорные) компоненты. Под основными компонентами нуклеиновых кислот понимают мономерные единицы - нуклеотиды, имеющие универсальное строение и входящие в состав ДНК и РНК .   В составе ДНК: дАТФ, дГТФ, дЦТФ, ТТФ, в составе РНК: АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ соответственно. Помимо основных нуклеотидов, в состав нуклеиновых кислот могут входить нуклеотиды с необычными гетероциклическими азотистыми основаниями или с модифицированным углеводным остатком. Содержание редких компонентов заметно меньше (как правило, не более 2%) они встречаются далеко не во всех нуклеиновых кислотах.  Обычно редкие компоненты можно рассматривать как производные основных компонентов, образующиеся из них при довольно простых химических реакциях (таких, как алкилирование, гидрирование, ацилирование, сульфирование и т. д.).

Существуют различные методы выделения минорных компонентов, для последующего их использования. Наиболее общим методом выделения редких компонентов РНК является, по-видимому, метод, предложенный Холлом. Он состоит в ферментативном расщеплении РНК до нуклеотидов под действием смеси фосфодиэстеразы змеиного яда и щелочной фосфомоноэстеразы, выделенной из Escherichia coli.  Смесь нуклеотидов разделяют далее с помощью распределительной хроматографии на цеолите. Мягкость условий расщепления полимера сочетается здесь с высокой эффективностью разделения мономеров, что и позволило обнаружить целый ряд неизвестных ранее редких компонентов РНК.

*Минорные основания*— аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований, входящие в незначительных количествах в состав нуклеиновых кислот . В структуре нуклеиновой кислоты они занимают место обычных азотистых оснований. К минорным пиримидиновым основаниям относятся: дигидроурацил, псевдоурацил, 1-метилурацил, оротовая кислота, 5-карбоксиурацил, 4-тиоурацил, 5-метилцитозин, 5-оксиметилцитозин. К минорным пуриновым основаниям: 1-метиладенин, 1-метил-N6-метиладенин ,6-метиладенин, 7-метиладенин, 6-диметиладенин, 3-метиладенин, 1-метилгуанин, 7-метилгуанин.

***5-метилцитозин*** - метилированная форма цитозина, в котором метильная группа добавлена ​​к 5-му углеродному атому, изменяя его структуру без изменения его свойств образования пар оснований в нуклеиновых кислотах. После семи десятилетий, было выяснено, что он часто присутствует в различных молекулах РНК, хотя его функция точно неизвестна; обнаружен также в составе ДНК высших растений и некоторых бактерий.

***5-оксиметилцитозин*** - пиримидиновое основание, замещающее цитозин в ДНК, обнаружено в некоторых штаммах фагов кишечной палочки.

***3-метиладенин*** - метилированное основание, аналог аденина, входит в состав митохондриальной ДНК некоторых высших растений.

***7-метилгуанин*** - метилированное основание, аналог гуанина. Содержится в первичной структуре т-РНК.

Первое открытие того, что ДНК кроме четырех оснований, содержит 5-метилцитозин, непосредственно включенный в ДНК, вскоре привело к предположению, что изменения в метилировании ДНК могут играть роль в онкогенезе. Экспериментально показаны различия в паттернах распределения 5-метилцитозина ДНК человека между раковыми и нормальными клетками. Среди них есть как минимум три основных способа, с помощью которых метилирование CpG может участвовать в онкогенном фенотипе. Они включают в себя гипометилирование ракового генома, локальное гиперметилирование промоторов генов-супрессоров опухоли и прямой мутагенез ( Jones and Laird, 1999 ; Jones and Baylin, 2002 ; Herman and Baylin, 2003 ). Хотя каждое из этих отклонений само по себе могло бы способствовать возникновению раковых заболеваний у человека, может быть, особенно важно то, что они все имеют место одновременно, показывая, таким образом, что нарушения гомеостаза эпигенетических механизмов - это главные причины, вызывающие рак у людей.

Так же обнаружено, что 3–метиладенин–ДНК–гликозилаза ингибировала способность топоизомеразы I вызывать релаксацию сверхскрученной молекулы ДНК. Напротив, топоизомераза I стимулировала гликозилазную активность 3–метиладенин–ДНК–гликозилазы по отношению к поврежденному ДНК–олигонуклеотидному субстрату, содержащему гипоксантин. Предположено, что существуют устойчивые взаимосвязи между этими ферментами в клетках микобактерий двух исследованных видов. Также охарактеризованы некоторые мутантные формы 3–метиладенин–ДНК–гликозилазы, не способные взаимодействовать с топоизомеразой I и активировать ее. Представленные данные проливают свет на регуляцию активности гликозилазы в клетках микобактерий M. smegmatis и M. tuberculosis.

Минорные компоненты могут принимать участие в биосинтезе белка, так, например, при сканирующем механизме нахождения стартового AUG рибосома (точнее, её малая субъединица) присоединяется к 5'-концу мРНК в области «кэпа» и двигается вдоль молекулы мРНК, «сканируя» один кодон за другим, пока не найдет инициаторный AUG. Для привлечения рибосомы к 5'-концу мРНК требуется специальная структура, кэп — 7-метилгуанин, прикреплённый к 5'-концевому нуклеотиду мРНК.

Важно отметить, что минорные компоненты активно используются в изготовление различных препаратов для лечения онкологических заболеваний. На данный момент количество, таких медицинских средств довольно велико.

***Фторурацил*** — синтетический аналог естественного пиримидинового основания урацила. В процессе распада фторурацила несколько его метаболитов оказывают повреждающее воздействие на синтез и функционирование ДИК и рибонуклеиновых кислот опухолевых клеток. Рандомизированные исследования по применению фторурацила в комбинации с доксорубицином (адриамицином), митомицином и этопозидом по сравнению с симптоматической терапией показали достоверное увеличение выживаемости в группе больных, которым проводили химиотерапию. Используется для лечения рака поджелудочной железы в виде химиотерапии.

***Митомицин*** — противоопухолевое средство. После проникновения в клетку проявляет свойства би- и трифункционального алкилирующего агента и избирательно ингибирует синтез ДНК. В высоких концентрациях вызывает супрессию синтеза клеточной РНК и белка, особенно в поздних (G1 и S) фазах митоза. Используется в лечение опухолей мочевого пузыря.

Фармакологическое действие ***доксорубицина*** также противоопухолевое. Подавляет синтез ДНК и РНК: интеркалирует в двойную спираль ДНК между парами азотистых оснований (нарушается матрица и изменяется пространственная структура) и вызывает расщепление ДНК вследствие образования свободных радикалов. Помимо этого противоопухолевое действие возможно обусловлено изменением клеточных функций в результате связывания с липидами клеточных мембран и взаимодействием с топоизомеразой II. Обладает высокой противоопухолевой и противолейкозной активностью при низкой избирательности действия.

***Зидовудин*** обладает высокой активностью в отношении ретровирусов (в т.ч. ВИЧ) В клетке при участии клеточных тимидинкиназы, тимидилаткиназы и неспецифической киназы фосфорилируется с образованием моно-, ди- и трифосфатного соединения. Зидовудин-трифосфат встраивается в провирус и блокирует дальнейшее наращивание цепи вирусной ДНК и делает невозможным синтез вирусной ДНК. Способствует увеличению количества T4 клеток.

***Ацикловир*** обладает высокой специфичностью в отношении вируса Herpes simplex. Ацикловир проникает непосредственно в инфицированные вирусом клетки. Клетки, инфицированные вирусом, продуцируют вирусную тимидинкиназу, которая фосфорилирует ацикловир до ацикловира монофосфата. Кроме того, активность вирусной тимидинкиназы по отношению к ацикловиру намного выше, чем действие на него клеточных ферментов (в инфицированных клетках концентрация ацикловира монофосфата выше в 40–100 раз). Дальнейшее фосфорилирование клеточными ферментами приводит к образованию ацикловир-трифосфата, являющегося чрезвычайно активным и селективным ингибитором ДНК-полимеразы вирусов. Вероятно механизм ингибирования синтеза ДНК ацикловир-трифосфатом состоит в том, что она является для этого фермента субстратом, позволяющим осуществить связь 3'–5', необходимую для продления цепочки ДНК. Таким образом, осуществляется преждевременный обрыв цепи ДНК.

Роль минорных оснований окончательно не выяснена. Возможно, что своеобразие в расположении минорных оснований важно для того, чтобы деструктивные клеточные ферменты могли отличать свои нуклеиновые кислоты от чужеродных, например бактериальных или вирусных.

**РЕГУЛИРОВАНИЕ ЭПИГЕНОМА ВИТАМИНОМ С**

*Мамедова Э. И., Хисамутдинова А.Д.*

*Кафедра биологической химии*

*Кафедра медицинской биохимии*

*Научные руководители – к.б.н., доцент Лебедева Е.Н.,*

*к.б.н., Пахалина И.А.*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

*Казанский государственный медицинский университет*

Витамин С (L-аскорбиновая кислота), необходимый водорастворимый микронутриент, который при физиологическом значении pH в основном существует в виде анионов аскорбата. Аскорбат – антиоксидант и ловушка свободных радикалов, а также важный кофактор ряда ферментативных реакций. Большинство млекопитающих способны к синтезу витамина С из глюкозы в печени. Напротив, люди, приматы, морские свинки и летучие мыши не синтезируют аскорбат из-за мутации в гене фермента L-гулонолактоноксидазы (GULO), который катализирует последнюю реакцию синтеза аскорбата. Для этих видов млекопитающих аскорбат – незаменимый пищевой фактор.

Аскорбат поступает в клетки в основном с помощью натрий-зависимых транспортеров витамина-С (SVCT). Низкоафинный транспортер SVCT1 отвечает в основном за всасывание аскорбата в клетках эпителия кишечника и реабсорбцию в почках. Транспортер SVCT2 с высокой афинностью более распространен, т.к. доставляет аскорбат в ткани. Рекомендуемая норма потребления 80-120 для взрослого человека, хотя максимально возможная доза для взрослого человека 2000 мг в сутки. После транспортировки через цитоплазматическую мембрану аскорбат накапливается в клетках и его клеточная концентрация может достигать 1 ~ 10 мM. Поэтому в клетках большинства млекопитающих очень высокий уровень содержания аскорбата по сравнению с уровнем во внеклеточной среде (в крови и лимфе). Например, в нейронах может содержаться до 10 мM внутриклеточного аскорбата, что в 200 раз больше, чем концентрация аскорбата во внеклеточной среде. Средняя концентрация аскорбата в плазме крови здорового человека ~50 μM. Когда концентрации аскорбата в плазме падает до 11.4 μM, появляется риск развития цинги.

Дегидроаскорбиновая кислота не использует транспортеры SVCT, а проникает и покидает клетки с помощью облегченных переносчиков глюкозы (ГЛЮТ). Оказавшись в клетке, дегидроаскорбиновая кислота может быстро восстанавливаться. Однако дегидроаскорбиновая кислота находится преимущественно в клетке, а в плазме здорового человека ее выявить трудно. Это дает основание полагать, что большинство клеток накапливают аскорбат с помощью транспортеров SVCT.

В ходе эволюции приматы и ряд других видов потеряли способность синтезировать аскорбат из-за мутации в гене Гуло (GULO). Антиоксидантную функцию у этих видов обычно восполняют (компенсируют) альтернативные окислительные системы.

Однако роль аскорбата как кофактора для диоксигеназы и 2-оксоглутарат дегидрогеназы невосполнима. Так у млекопитающих развивается цинга, остеопороз и другие проявления генетического заболевания, если они не получают адекватную норму витамина С с пищей. Диоксигеназа и 2-оксоглутаратдегидрогеназа используют в качестве кофактора Fe2+ и 2- оксоглутарат в качестве субстрата. Некоторым видам необходим аскорбат как дополнительный кофактор для полной каталитической активности. Одним из этих ферментов является коллаген пролил-4-гидроксилаза (P4H). При отсутствии аскорбата гидроксилирование, которое катализируется коллагеном P4H, может протекать на максимальной скорости. Однако, каталитически неактивные молекулы окисленного железа (в основном Fe3+) в скором времени блокируют активность коллагена P4H, что ведет к неполному гидроксилированию остатков пролина в коллагене и в конце концов приводит к развитию цинги. Таким образом, аскорбат обеспечивает завершение гидроксилирования и предотвратить развитие цинги. Выяснено, что аскорбат необходим для поддержания молекул Fe2+ и 2OG-зависимых диоксигеназ в полностью активной форме.

Кроме указанных выявлены, ранее неизвестные ферменты Fe2+ и 2OG-зависимые диоксигеназы, которые катализируют гидроксилирование метилированных нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и метилированных гистонов. Метилирование ДНК и гистонов – главные эпигенические отличительные черты генома млекопитающих. Было выявлено, что для некоторых из этих ядерных диоксигеназ необходим аскорбат для осуществления процесса деметилирования ДНК и гистонов. Эти неожиданные открытия раскрывают ранее неизвестную функцию аскорбата, заключающуюся в регуляции эпигенома. Вследствие этого, представляется необходимым пересмотреть значение аскорбата для здоровья и болезни человека.

Эпигеном отражает взаимодействие меняющейся окружающей среды и генома. Известные эпигенические процессы – это ковалентные модификации в нуклеотидах и гистонах, реконструкция хроматина и некодирующие РНК, которые в совокупности и составляют эпигеном. Метилирование в позиции С5 цитозина (5-метилцитозин 5mC) – главный и самый очевидный эпигенический признак в ДНК млекопитающих. После завершения метилирования молекулы 5-метилцитозина, особенно в CpG-динуклеотидах, могут соединиться с группой метил-CpG-связывающих белков (MBP) которые выполняют различные функции: регулирование транскрипции, запуск механизма реконструкции хроматина, поддержание стабильности генома и клеточной идентичности. И хотя молекулы 5-метилцитозина являются достаточно стабильным эпигенический показателем, однако они могут распадаться из-за того, что DNMT1 не справляется со своей функцией (метилирования) во время репликации ДНК, в результате чего может произойти пассивное деметилирование. Несколько лет назад все еще оставалось неясным можно ли активно удалить метильную группу из молекул 5mC и как это сделать. Главным вопросом было существуют или нет такие ДНК деметилазы ?

Необходимость аскорбата как дополнительного кофактора для P4H и других диоксигеназ предполагает его возможную роль кофактора окисления в деметилировании ДНК. Примечательно, что аскорбат может изменять статус метилирования ДНК в клетках млекопитающих. Например, аскорбат инициирует деметилирование примерно 2000 генов в стоволовых клетках эмбрионов. Аскорбат также стимулирует создание индуцированных плюрипотентных стволовых клеток из дифференцированных клеток, что часто сопровождается полногеномным деметилированием ДНК.

Путем проведения многочисленных экспериментов пытались выяснить работает ли аскорбат как кофактор ТЕ-диоксигеназ для ускорения процесса превращения 5mC в 5hmC. Введение других восстановителей, таких как глутатион (GSH) не повлияло на уровень 5hmC. Это позволило предположить, что влияние аскорбата на 5hmC не может объясняться его функцией обычного восстановителя. Замедление синтеза ТЕТ короткими интерферирующими РНК значительно снизило влияние аскорбата на синтез 5hmC. Этот факт свидетельствует о том, что ТЕТ диоксигеназы опосредуют действие аскорбата на синтез 5hmC. Ингибиторы переноса аскорбата, такие как флоретин и сульфинпиразон, снизили эффект аскорбата на синтез 5hmC. Это позволило предположить, что внутриклеточное накопление аскорбата необходимо для активации каталитической активности ТЕТ-диоксиназы. Присутствие аскорбата на физиологически нормальной концентрации улучшило поглощение клетками железа. Это дало основания предположить, что влияние аскорбата на синтез 5hmC, возможно, носит не прямой, а опосредованный характер, и связано с увеличением усвоения железа в клетках. Однако удаление железа из среды клеточной культуры не повлияло на способность аскорбата стимулировать синтез 5hmC. Значит, влияние аскорбата на синтез 5hmC не связано с поглощением клетками железа.

При добавилении аскорбата в среду было выявлено, что наличие аскорбата влечет за собой быстрое и повсеместное увеличение синтеза 5hmC, за которым последовало ДНК деметилирование большого количества генных промотеров и повышение экспрессии деметилировавших генов зародышевой линии. После введения аскорбата, в плюрипотентных эмбриональных стволовых клетках значительно увеличилось содержание продуктов окисления 5mC, особенно содержание 5fC and 5caC. Более того, содержание 5hmC сократилось в тканях мышей с выключенным геном Gulo. Это позволяет предположить, что аскорбат является кофактором ТЕТ при многоступенном окислении 5mC.

Недостаточный прием аскорбата с пищей – главная причина его недостатка в организме. Диета и образ жизни оказывают большое влияние на уровень аскорбата в организме. Во всех развитых странах, даже США, большая часть населения имеют недостаточность или дефицит аскорбиновой кислоты (концетрация в плазме менее 11,4 μM). Самый высокий риск развития недостатка аскорбата у курильщиков, семей с низким уровнем дохода и людей с мутациями в SVCT. Т.к. скорость обмена витамина С достаточно высока , можно предположить, что еще больше людей страдают кратковременным недостатком аскорбата..

Таким образом, аскорбиновая кислота – важный микронутриент, и его функции намного шире, чем предупреждение развития цинги.

Литература

1. Camarena V, Wang G. The epigenetic role of vitamin C in health and disease.Cell Mol Life Sci. 2016; 73(8):1645-58.
2. Monfort A, Wutz A Breathing-in epigenetic change with vitamin C EMBO Rep.2013 Apr; 14(4): 337–346.
3. Young JI, Züchner S, Wang G. Regulation of the Epigenome by Vitamin C. Annu Rev Nutr. 2015; 35: 545-64.

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ГЕНОМА И ПРОТЕОМА.**

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ГЕНННОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

**ПРИМЕНЕНИЕ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ОФТАЛЬМОЛОГИИ**

*Кузнецова В. И.*

*Научный руководитель: к.б.н., доцент Лебедева*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Лечение заболеваний и повреждений глаза, при которых имеется выраженная несостоятельность процессов регенерации, приводящая в исходе к значительному снижению остроты зрения и слепоте, остается актуальной проблемой офтальмологии. Тяжелые заболевания поверхности глаза, приводящие к недостатку стволовых эпителиальных клеток, вызывают интенсивное помутнение и васкуляризацию роговицы и влекут за собой значительное снижение остроты зрения и слепоту. Для лечения данной патологии требуется выполнение реконструктивных вмешательств с использованием донорских тканей, однако, высокая частота развития реакции отторжения трансплантата и его гибели побуждает офтальмологов к поиску альтернативных методов лечения[2, с.1-2]. Сегодня во всем мире проводятся разработки в хирургии роговицы и лечения заболеваний глазной поверхности.Представлено большое количествоновейших разработок в области клеточных технологий в офтальмологии. Последние исследования посвящены использованию культивированных стволовых клеток лимба для лечения расстройств глазной поверхности. Преимуществами использования культивированных стволовых клеток являются:

* прочное научное обоснование,
* GMP-утвержденная процедура культивирования с контролем качества трансплантата путем использования p63-маркера лимбальных стволовых клеток,
* хорошая долгосрочная эффективность,
* транспортабельность и доступность.

К настоящему времени получены первые положительные результаты использования культивированных стволовых клеток в офтальмологической практике. В настоящее время исследования ученых направлены на выяснение тонких механизмов регуляции процессов дифференцировки стволовых клеток после трансплантации их на поверхность глаза.По результатам многочисленных проведенных мультицентровых исследований 152 трансплантаций первого лекарственного препарата на основе культивированных стволовых клеток лимба «Holoclar®» (у пациентов с частичным и тотальным постожоговым синдромом лимбальной недостаточности) успех был достигнут в 66,05% случаев[3, с. 9].

Поддержание постоянства любой эпителиальной структуры обеспечивается популяцией стволовых клеток (СК), которые представляют собой уникальный источник регенерации клеток, как в физиологических условиях, так и при заболеваниях или травмах. СК определяются по их способности к неограниченному и продолжительному размножению, в результате которого возникает, по крайней мере, один тип высоко дифференцированных клеток[1, с. 36]. Стволовые конъюнктивальные клетки расположены в основном в области сводов.В развитии новых СК ключевое значение придают именно микросреде, под которой понимают контактирование с окружающими клетками и взаимодействие с экстрацеллюлярным матриксом и факторами роста[2, с. 4].

В настоящее время существует ряд методов, способствующих поддержанию популяции СК: 1) трансплантация амниотической мембраны (АМ), 2) аутолимбальная трансплантация (пересадка участка лимба, взятого с контрлатерального глаза при одностороннем поражении), 3) аллолимбальная трансплантация (пересадка участка лимба, взятого у доноров), 4) пересадка культивированных exvivo стволовых эпителиальных клеток.

Экспериментальными исследованиями было доказано, что для длительного культивирования и размножения различных типов эпителиальных клеток необходимо наличие питательной среды либо субстрата, присутствие фибробластов, а также достаточное количество факторов роста и цитокинов. Для культивирования СК применяются системы эксплантов, клеточных суспензий, система выращивания многослойных культур эпителиальных клеток в интерфазе вода – воздух. Общие принципы получения культур стволовых клеток следующие: 1. Получение донорских стволовых клеток. 2. Выбор соответствующего субстрата для культивирования клеток. 3. Получение питательной среды, содержащей эпителиальные клетки. 4. Мониторинг клеточного роста. 5. Изучение характеристик полученной культуры клеток[2, с. 5].

В настоящее время имеется относительно небольшой клинический опыт применения культивированных СК. Впервые новый метод лечения применили Tsai R. etcoll. (2000) у 6 пациентов с односторонним частичным или тотальным синдромом лимбальной недостаточности. Они использовали ткань аутолимба, полученную путем биопсии контрлатерального глаза, для последующего культивирования на криоконсервированнойинтактной амниотической мембране и получили успешный результат: увеличение остроты зрения в 83% случаев, в реэпителизация без васкуляризации в 100% (при сроке наблюдения за пациентами в течение 15 месяцев).

Полученные к настоящему времени результаты экспериментальных, лабораторных и клинических исследований убедительно доказывают, что стволовые эпителиальные клетки роговицы и конъюнктивы могут успешно культивироваться invitro на АМ, которая служит уникальным субстратом, обеспечивающим рост и размножение СК. Эта концепция является основной в новом методе лечения тяжелой патологии поверхности глаза, сопровождающейся синдромом лимбальной недостаточности. В дальнейшем перспективным представляется изучение точной природы тонких взаимодействий между субстратом и растущими на нем СК. Разрабатывается методика выращивания стабильных клеточных пластов, способных продолжать рост и направленную дифференцировку после трансплантации на поверхность глаза. Поскольку имеются данные о том, что простого удаления эпителия АМ достаточно для запуска дифференцировки стволовых эпителиальных клеток, метод культивирования может помочь в дальнейшем определить, какие гены задействованы в этом процессе, а также выяснить способы управления ими. Необходимо разработать четкие диагностические критерии и показания к использованию метода трансплантации культивированных стволовых и эпителиальных клеток, а также оценить степень его эффективности и безопасности при различных заболеваниях органа зрения[4, с. 170].

Литература

1. Майчук, Ю.Ф. Терапевтические алгоритмы при инфекционных язвах роговицы. / Ю.Ф. Майчук // Вестн. офтальмол. – 2000. – № 3. – С. 35 – 37.
2. Ситник, Г.В. Современные клеточные биотехнологии в офтальмологии. Амниотическая мембрана как субстрат для культивирования стволовых эпителиальных клеток / Г.В. Ситник/ Белорусская медицинская академия последипломного образования.
3. Тонаева Х.Д. Трансляционные исследования роговицы. // Мир офтальмологии. – 2016. - № 5 (31). – С. 8-9.
4. Burman, S. Ophthalmic application of preserved human amniotic membrane: a rewiew of current indications / S.Burman [et al.] // Cell and Tissue Banking. – 2004. – N5. – P. 161 – 175.

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ**

*Жирова В. Е.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н. Фомина М.В.*

## *Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Согласно данным литературы наследственная патология занимает лидирующие позиции в структуре неинфекционной заболеваемости последних лет. Поэтому появление технологий, позволяющих проводить манипуляции с генами и их фрагментами по включению в заданные участки генома, стало знаменательным событием в биологии и медицине.

Цель данной работы – изучить теоретические основы генной терапии.

В современном понимании генная терапия – это совокупность биомедицинских технологий, которые применяются для лечения дефектов генов с помощью введения в организм генетических конструкций, способных восстановить или заменить дефектный ген, экспрессировать полноценный генный продукт или блокировать работу мутантных и чужеродных генов [1, c. 6].

Способы внедрения генетической информации в организм включают:

* технология in vivo основывается на системном введении через кровь гена (внутривенно или внутримышечно);
* терапия in situ предполагает доставку вирусных векторов непосредственно в ткань;
* генная терапия ex vivo реализуется через трансплантацию пациенту собственных клеток, количественно увеличенных in vitro в несколько раз, что не вызывает отторжение клеток со стороны иммунной системы.

Так, генная терапия ex vivo позволяет генетическое исправление изменённых клеток вне организма-хозяина с дальнейшим возвращением здоровых клеток в организм. В качестве трансплантируемых клеток учёными предложены фибробласты, стволовые клетки костного мозга, фетальные стволовые клетки.Уже проведены эксперименты по лечению этим методом болезни Паркинсона, нейродегенеративных заболеваний, диабета [3, с. 257].

Стандартная схема генной терапия ex vivo предполагает ряд этапов:

1) забор изменённых клеток больного и их культивирование;

2) перенос нужного гена в изолированные клетки с помощью трансфекции терапевтической генной конструкции;

3) отбор и наращивание генетически исправленных клеток;

4) трансплантация или трансфузия этих клеток пациенту.

Принципиально иной подход использования генной терапии in vivo, где ген доставляется в клетки определенной ткани пациента. Однако главным условием успешной генотерапии является эффективная доставка (трансфекция или трансдукции в случае применения вирусных векторов) чужеродного гена в клетки-мишени. Наряду с этим создание условий длительного функционирования последнего в клетках и работы (его экспрессии). Исследования последних лет показали, что только вирусные векторы способны к активной трансдукции, а в некоторых случаях и к длительной экспрессии чужеродных генов. Так, по данным литературы, среди более чем ста семидесяти пяти одобренных протоколов клинических испытаний по генотерапии–сто двадцать предполагают использование вирусной трансдукции.

Необходимо отметить, что эффективность трансфекции оценивается в условиях клеточных культур (in vitro), затем in vivo на биологических моделях – животных, и только после успешных испытаний возможны клинические испытания на человеке.

На сегодняшний день известны химические, физические и биологические методы доставки чужеродных генов в клетки. Физический, или безвекторный перенос генов в клетки хозяина предполагает использование методов: микроинъекций, электропорации, “генных пистолетов”. Наряду с этим, среди химических методов зарекомендовали себя как наиболее перспективные - гипертонический солевой, метод Ca2+-преципитации, декстрановый метод. Среди биологических методов - липофекция, рецептор-опосредованный перенос.

По данным литературы принято выделять два подхода в генной терапии:

* фетальная генотерапия, позволяющую вводить ДНК в зиготу или эмбрион на ранней стадии развития (найден способ введения в половые клетки);
* соматическая генотерапия (генетический материал вводится в соматические клетки и не передаётся половым клеткам) [2, c. 63-68].

Однако ряд авторов отмечает недостаточную степень разработанности на сегодняшний день методов фетальной генной терапии. Наряду с этим, соматическая генотерапия уже нашла применение в клинической практике.

Таким образом, теоретические основы заложенные десятки лет назад нашли свое применение в клинической практике.

Литература

1. Бабаев А.А. Генная терапия: коррекция генетической информации: учеб.-метод. материалы/ А.А. Бабаев, Г.П. Ежова, Н.А. Новикова, В.В. Новиков. Н. Новгород. 2007. С. 6-10.
2. Баранов В.С. Генная терапия – медицина XXI века / В.С. Баранов// СОЖ.1999. № 3. С. 63-68.
3. Горбунова В.Н. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний/ В.Н. Горбунова, В.С. Баранов. СПб, 1997. 287 с.

**ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ**

**В ПРОИЗВОДСТВЕ АНТИБИОТИКОВ**

Клютова А. С.

*Научный руководитель: доцент, к.м.н. Ляшенко И.Э.*

*Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В настоящее время генная инженерия является передовым направлением в медицине, что позволяет находить новые методы и новые способы борьбы с самыми серьезными заболеваниями человечества. Среди достижений генной инженерии, следует назвать, прежде всего, получение жизненно важных для человека веществ с помощью специальным образом генетически модифицированных микроорганизмов. Генная инженерия позволяет целенаправленно изменять генотип организма в отличие от случайного мутационного процесса. На данный момент методы генетической модификации позволяют создавать все необходимые органические вещества, в частности, лекарственные препараты - антибиотики. С помощью генной инженерии можно не только создавать новые антибиотики, но и увеличивать эффективность синтеза уже известных [5].

Лимитирующим фактором в промышленном производстве антибиотиков с помощью Streptomyces spp. часто является количество доступного клеткам кислорода. Вследствие плохой растворимости кислорода в воде и высокой плотности культуры Streptomyces его часто оказывается недостаточно, рост клеток замедляется, и выход антибиотика снижается. Чтобы решить эту проблему, можно, во-первых, изменить конструкцию биологических реакторов, в которых выращивается культура Streptomyces, а во-вторых, используя методы генной инженерии, создать штаммы Streptomyces, более эффективно использующие имеющийся кислород. Эти два подхода не исключают друг друга [2]. Одна из стратегий, используемых некоторыми аэробными микроорганизмами для выживания в условиях недостатка кислорода, состоит в синтезе гемоглобинподобного продукта, способного аккумулировать кислород и доставлять его в клетки. Например, аэробная бактерия Vitreoscilla sp. синтезирует гомодимерный гемсодержащий белок, функционально подобный эукариотическому гемоглобину [1]. Ген «гемоглобина» Vitreoscilla был выделен, встроен в плазмидный вектор Streptomyces и введен в клетки этого микроорганизма. После его экспрессии на долю гемоглобина Vitreoscilla приходилось примерно 0,1% всех клеточных белков S.coelicoior даже в том случае, когда экспрессия осуществлялась под контролем собственного промотора гена гемоглобина Vitreoscilla, а не промотора Streptomyces[4]. Трансформированные клетки S. coelicoior, растущие при низком содержании растворенного кислорода (примерно 5% от насыщающей концентрации) синтезировали в 10 раз больше актинородина на 1 г сухой клеточной массы и имели большую скорость роста, чем нетрансформированные. Этот подход можно использовать и для обеспечения кислородом других микроорганизмов, растущих в условиях недостатка кислорода.

Исходным материалом при химическом синтезе некоторых цефалоспоринов — антибиотиков, обладающих незначительным побочным эффектом и активных в отношении множества бактерий, — является 7- аминоцефалоспорановая кислота (7АСА), которая в свою очередь синтезируется из антибиотика цефалоспорина-С. К сожалению, природных микроорганизмов, способных синтезировать 7АСА, до сих пор не выявлено[1]. Новый̆ путь биосинтеза 7АСА был сконструирован включением специфических генов в плазмиду гриба Acremonium chrysogenum, который обычно синтезирует только цефалоспорин-С. Один из этих генов был представлен в ДНК гриба Fusarium solani, кодирующей оксидазу D- аминокислот, а другой происходил из геномной ДНК Pseudomonas diminuta и кодировал цефалоспоринацилазу [3]. В плазмиде гены находились под контролем промотора A.chrysogenum. На первом этапе нового биосинтетического пути цефалоспорин-С превращается в 7-р-(5-карбокси-5-оксопентанамид) цефалоспорановую кислоту (кето-АО-7АСА) при помощи оксидазы аминокислот. Часть этого продукта, вступая в реакцию с пероксидом водорода, одним из побочных продуктов, превращается в 7-бета-(4-карбоксибутанамид)- цефалоспорановую кислоту (GL-7ACA). И цефалоспорин-С, и кето-А0-7АСА, и GL-7ACA могут подвергаться гидролизу цефалоспоринацилазой с образованием 7АСА, однако только 5% цефалоспорина-С напрямую гидролизуется до 7АСА. Следовательно, для образования 7АСА с высоким выходом необходимы оба фермента[3].

Таким образом, генная инженерия открыла новые возможности для создания лекарственных препаратов - антибиотиков, источником которых являются генетически модифицированные микроорганизмы.

Литература

1. Грачева И.М., Кривова А.Ю Технология ферментных препаратов// М.: Элевар, 2000г. - 512 с. [4,с.205]
2. Егоров А.Т Основы биотехнологии// М.: Академия, 2003г. -208 с. [1,с.155]
3. Прищеп Т.П., Чучалин В.С., Зайков К.Л., Михалева Л.К. Основы фармацевтической биотехнологии// Учебное пособие/ Ростов-на-Дону: Издательство НТЛ, 2006г.- 256с. [2,с 134]
4. Сазыкин О.Ю. Биотехнология// Учеб. пособие для студентов высш. учеб. заведений 3-е изд./М.: Издательский центр «Академия», 2008г. - 321с. [3,с235];
5. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия//Новосибирск: Изд. Новосибирского университета, 1994. - 303 с.[5,с.321]

**Использование достижений генной инженерии в сельском хозяйстве**

*Шошина О.В.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Коткова Т.В.*

*Оренбургский государственный аграрный университет*

Возможности, открываемые генетической инженерией перед человечеством как в области фундаментальной науки, так и во многих других областях, весьма велики и нередко даже революционны. Так, она позволяет осуществлять индустриальное массовое производство нужных белков, значительно облегчает технологические процессы для получения продуктов ферментации — энзимов и аминокислот, в будущем может применяться для улучшения растений и животных, а также для лечения наследственных болезней человека. [2]

Генетическая инженерия или генная инженерия — это совокупность приёмов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов из организма (клеток), осуществления манипуляций с генами и введения их в другие организмы. [1,7]

Задача генетической инженерии - получение желаемых качеств изменяемого или генетически модифицированного организма. В отличие от традиционной селекции, в ходе которой генотип подвергается изменениям лишь косвенно, генная инженерия позволяет непосредственно вмешиваться в генетический аппарат, применяя технику молекулярного клонирования. Примерами применения генной инженерии в сельском хозяйстве являются получение новых генетически модифицированных сортов зерновых культур, устойчивых к насекомым-вредителям. [5,7]

При внесении в организм (это может быть как растение, животное, микроорганизм так и человек) новых генов, можно наделить его новой желательной характеристикой, которой он до этого никогда не обладал. Организмы, подвергшиеся генной инженерии называют ГМО (генетически модифицированный организм). Изменение генов прежде всего связано с преобразованием химической структуры ДНК: изменение последовательности нуклеотидов в хромосомной ДНК, выпадение одних и включение других нуклеотидов меняют состав образующихся на ДНК молекулы РНК, а это, в свою очередь, обуславливает новую последовательность аминокислот при синтезе. В результате в клетке синтезируется новый белок, процесс синтеза белка приводит к появлению у организма новых свойств. [1]

Генная инженерия непосредственно в сельском хозяйстве имела место быть уже в конце 1980-х годов, когда удалось успешно внедрить новые гены в десятки видов растений и животных — создать растения табака со светящимися листьями, томаты, легко переносящие заморозки, кукурузу, устойчивую к воздействию пестицидов. [6]

В настоящее время в результате успехов фундаментальных наук возникла

Возможность развития принципиально новых эффективных методов влияния на организм животных, на наследственность. [3]

Методы генной инженерии наиболее детально разработаны на микроорганизмах. Можно направленно изменять их генотип. В отличие от спонтанных мутаций эти изменения можно заранее планировать. Так, в микроорганизмы совершенно определенно встраивают гены, ответственные за синтез интерферона, соматотропина, некоторых незаменимых аминокислот. [7]

Возможности дальнейшего развития этого направления огромны. Широким фронтом ведутся исследования и разработки по выделению и клонированию определенных генов, их внедрению в геном. Если генная инженерия в микробиологии стала реальностью и приобретает все большее практическое значение, то у животных применение этих методов только начинается, однако установлено, что в принципе можно выделить определенные гены из генома животных и встроить их в геном другой особи. Ген соматотропина (гормона роста) крысы встроен в геном мыши. В результате у некоторых трансгенных животных увеличились скорость роста реципиента и конечная живая масса. Можно себе представить, какое огромное практическое значение будет иметь использование этого приема на сельскохозяйственных животных. Представляется возможным по заранее намеченному плану реконструировать геном домашних животных, придать ему заранее заданные свойства. Для достижения таких результатов традиционными методами потребовалась бы работа в течение многих поколений. Животных, несущих в своем геноме рекомбинантный (чужеродный) ген, принято называть трансгенными, а ген, интегрированный в геном реципиента, – трансгеном. Благодаря переносу генов у трансгенных животных возникают новые качества, а дальнейшая селекция позволяет закрепить их в потомстве и создать трансгенные линии. [5,6]

Возникает перспективная задача — использовать домашних животных как живые реакторы, ферментеры для производства ценнейших биологически активных веществ. Например, встроив ген интерферона с необходимыми регуляторными элементами в геном коровы, можно рассчитывать, что этот гормон будет экспрессироваться и в молочной железе. А поскольку активность молочной железы высокая, то можно получать данное вещество с молоком в значительных количествах и, вероятно, при высокой экономической эффективности. Это же в принципе относится и к другим биологически активным веществам. В данном случае молочный скот — оптимальный объект для создания таких живых реакторов. Ни одно другое сельскохозяйственное животное не имеет такого интенсивного синтеза самых разнообразных продуктов и выведения их из организма. Однако существующие методы введения в геном животных инородного генетического материала еще недостаточно совершенны и степень вероятности встраивания чужеродных генов и их экспрессии невелика и исчисляется несколькими процентами и менее. Поэтому необходимо наличие большого числа яйцеклеток для успеха генно-инженерных манипуляций. Установлено, что оптимальной фазой введения инородного генетического материала является стадия зиготы до слияния пронуклеусов. Именно при введении генов в пронуклеус обеспечивается наибольшая вероятность успеха. Следовательно, необходимо иметь большое число яйцеклеток, и уметь их оплодотворять, чтобы уже на фазе зиготы подвергнуть генно-инженерным манипуляциям. В принципе зиготы можно получать от предварительно стимулированных и оплодотворенных животных оперативным путем. Но это очень сложный и трудоемкий способ, связанный с операциями на животных. Поэтому особое значение для развития генно-инженерных работ в животноводстве приобретает отработка методов извлечения из яичников, культивирования, оплодотворения созревших овоцитов и последующего их раннего развития и трансплантации. Сочетание этих двух методов создает оптимальные условия для широкого внедрения генной инженерии в практику селекционно-племенной работы в животноводстве. В январе 1994 года было объявлено о том, что выяснена полная карта генома коров и свиней, что предшествовало дальнейшему развитию экспериментов над животными. В дополнение к изначальной жестокости подобных экспериментов (ошибочные экземпляры рождались с болезненными дефектами, хромыми, слепыми и т.д.), эти «производственные» создания не имели большего значения для их «создателей», чем механические изобретения. [1,2,5]

Животные, генетически созданные для использования в лабораториях, такие как печально известная «гарвардская мышь», которая имела человеческий ген, вызывающий рак, который передавался всем последующим поколениям, были созданы для страданий. Чисто редукционистская наука, биотехнология снижает значимость жизни до частиц информации (генетического кода), которые можно разбирать и собирать так, как заблагорассудится. Лишенные своей неповторимости и сокровенности, животные, которые являются просто объектами для своих «изобретателей», будут рассматриваться как таковые. В настоящее время ожидают одобрения патенты на более 200 генетически измененных «причудливых» животных. По всей вероятности, в ближайшей перспективе методами генной инженерии будут созданы новые формы сельскохозяйственных животных. [4]

Таким образом, генная инженерия – одно из магистральных направлений научно-технического прогресса, активно способствующая ускорению решения многих задач, таких, как продовольственная, сельскохозяйственная, энергетическая, экологическая, но при этом генная инженерия ставит перед учеными много этических проблем. [7]

Литература:

1. Бейсон Ж. Генетика. – М.: Просвещение, 2007. – 128с.

2. Гайсинович А.Е. Зарождение генетики. – М.: Наука, 2007. – 194

3. Голубовский М. И снова: о наследовании приобретенных признаков // Знание-сила. – 2007. – № 8. – С.44-52

4. Дубинин Н.П. Генетика вчера, сегодня и завтра. – М.: Наука, 2008. – 210с.

5. Сойфер В. Арифметика наследственности. – М., 2007. – 253с.

6. Фишер Э. Дешифровщики наследственности: Об истории и достижениях генетики // ГКО. – 1999. – № 9. – С.131-140

7. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. – Новосибирск, 2006. – 304с.

**НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕННОМОДИФИЦИРОВАННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

*Шураськин А. А.,*

*Научный руководитель: доцент к.м.н. Фомина М.В.*

## *Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Одним из наиболее важных достижений современной биотехнологии является создание и применение микроорганизмов с модифицированным геномом. Созданные рекомбинантные штаммы используются в качестве фабрик для производства лекарственных препаратов. Так, по некоторым данным, к 2016 году на мировом рынке насчитывалось свыше 130 генноинженерных лекарств[3].

Целью исследования стало изучение по данным литературы современного состояния проблемы применения генетически модифицированных микроорганизмов.

Известно, что прорывом в генетике стал синтез протективных антигенов и решение проблемы встраивания их в легко культивируемые бактерии. Метод генетической инженерии предпочтительнее традиционных методов в том случае, когда:

* микроорганизм высоко патогенен и опасен при промышленном производстве;
* исходное сырье для получения препарата традиционным способом является дефицитным или дорогостоящим;
* метод эффективнее традиционного;
* природный микроорганизм не культивируются в промышленных условиях;
* позволяет заменить многие методы, основанные на получении продуктов in vivo, на способы in vitro;
* для получения принципиально новых продуктов и препаратов, не существующих в природе [1].

Благодаря созданию рекомбинантного штамма *Е. coli* был создан в 1978 году человеческий инсулин, в 1979 году - человеческий гормона роста.

В 1984 году учёными были решены проблемы синтеза и налажено производство антитромбогенного фактора УПП.

Наряду с этим, уже в 1986 г. для лечения некоторых типов лейкемии был создан интерферон-альфа-2а. Его получают путем выращивания рекомбинантных штаммов бактерий (*Е. coli*, псевдомонад), способных продуцировать интерферон в результате встраивания им гена а-интерферона. Так, из 1 л культуры рекомбинантных бактерий получают 100-150 доз лейкоцитарного интерферона с активностью 106 ME [2].

В 1987 году - тканевый активатор плазминогена для удаления тромбов у пациентов с острым инфарктом миокарда и пульмозима для лечения запущенных форм муковисцидоза[1].

Известно, что ряд возбудителей трудно культивируется на искусственных питательных средах. Учёными удалось синтезировать гены протективных антигенов и встроить их в легко культивируемые бактерии и получить принципиально новые продукты. Так, ген HBs-антигена вируса гепатита был встроен в дрожжевую клетку, что позволило изготовить вакцину. Наряду с этим с помощью генной инженерии стало возможным получить рекомбинантные поливалентные живые вакцины, несущие антигены нескольких микроорганизмов. Так были получены рекомбинантные штаммы вируса оспенной вакцины, бешенства, клещевого энцефалита.

Генноинженерный метод позволил также заменить многие методы, основанные на получении продуктов in vivo, на способы in vitro. Так, в наше время, на основе рекомбинантных белков уже созданы диагностические препараты для обнаружения СПИДа, полученные путем выращивания рекомбинантных штаммов *Е. coli* или дрожжей, способных продуцировать основные антигены ВИЧ (р24, gp41, gp20 и др.)[3].

Известно, что иммуноцитокины получают путем культивирования клеток (лимфоцитов, макрофагов и др.) на искусственных питательных средах. Процесс сложен, продукция иммуноцитокинов незначительна и не имеет практического значения. Благодаря созданию рекомбинантных штаммов *Е. coli* и других штаммов, был налажен синтез интерлейкинов (ИЛ-1, 2, 6 и др.), факторы некроза опухолей, роста фибробластов и др.[2].

Таким образом, генноинженерные микроорганизмы нашли применение при решении многих глобальных медицинских проблем, которые считались ранее практически неразрешимыми.

Литература

1. Биотехнология. Принципы и применение/под ред. И. Хиггинса и др., пер. с англ. М., 1988. 107с.
2. Биологические препараты, полученные методом генетической инженерии,<http://microbiologu.ru/mikroorganizmyi/osnovyi-meditsinskoy-biotehnologii/biologicheskie-preparatyi-poluchennyie-metodom-geneticheskoy-inzhe.html>
3. Обзор мирового рынка биотехнологий. Frost & Sullivan,http://C:/Users/User/Downloads/20141020-russia-biotechnology-market-fin.pdf

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВА ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОГО ИНСУЛИНА**

*Бадрутдинова Д. В.*

*Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В.,*

*доцент, к.м.н. доцент Жежа В.В.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

УДК: 577.175.722:615.1

**Резюме.** В научномобзоре приведены строение белковой молекулы инсулина, классификация генно-инженерных инсулинов по продолжительности действия. Описаны молекулярные аспекты методов получения генно-инженерного инсулина.

**Ключевые слова**: генно-инженерный инсулин, инсулинозависимый сахарный диабет, инсулин, производство инсулина.

**Summary.**The structure of a proteinaceous molecule of insulin, classification of genetically engineered insulin by action duration are given in the scientific review. Molecular aspects of methods of receiving genetically engineered insulin are described.

**Key words**: genetically engineered insulin, insulin-dependent diabetes, insulin, production of insulin.

Сахарный диабет, в том числе инсулинозависимый, является проблемой современного общества.Частота встречаемости сахарного диабета за последние несколько десятилетий значительно выросла. По данным ВОЗ в 2012 году число больных, страдающих сахарным диабетом, превысило 3 млн человек [5]. Несмотря на неуклонный рост числа заболевших качество и продолжительность их жизни растет благодаря достижением медицины.

Важным фактором развития сахарного диабета является генетическая предрасположенность. Ещё в XII веке в Европе заговорили о семейных случаях сахарного диабета. При анализе родословных больных с сахарным диабетом наблюдают генетическую гетерогенность. Так в семьях пробандов, которые заболели до 40 лет, наследование связано с рецессивным геном, после 40 – доминантным[4].

Правильное представление о природе заболевания способствовало активному развитию и постоянному совершенствованию методов лечения. В настоящее время необходимый при инсулинозависимом сахарном диабете инсулин получают посредством генной инженерии. В данной статье пойдет речь о молекулярных аспектах получения генно-инженерного инсулина.

Инсулин являетсяполипептидным гормоном, который вырабатывается β-клетками островков Лангерганса. Наиболее изучены его первичная и третичная структуры. В 1955 году была установлена первичная структура белковой молекулы инсулина: она состоит из двух цепей,ковалентно связанных дисульфидными мостиками, которые соединяют остатки цистеина, что определяет жесткую пространственную структуру молекулы (рисунок 1). N-концы и С-конец β-цепи инсулина обладают подвижностью [1, 6].

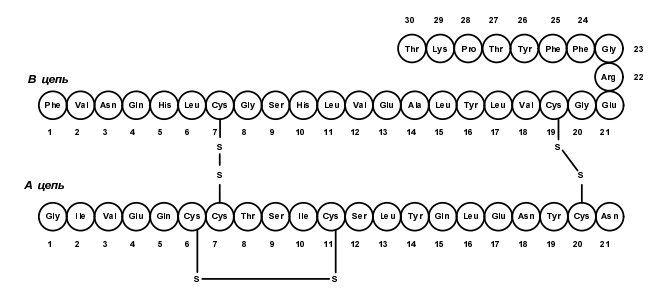


Рисунок 1 – Первичная структура инсулина человека[1]

Сейчас известно более 25 первичных структур инсулина у разных животных. Наиболее приближенноестроение к структуре человеческого инсулина имеют молекулы этого гормона у крупного рогатого скота (КРС) и свиней. В растворах состояние молекулы инсулина зависит от концентрации белка, температуры, pH, содержания цинка. Так, при щелочном значении pH, молекула инсулина существует в виде мономера, при кислом – в виде димера; в присутствие цинка образуются агрегированные массы.

Invivoв процессе биосинтеза инсулина сначала образуется молекула проинсулина (полипептид, состоящий из 84 аминокислотных остатков) от которого впоследствии отщепляется С-пептид. Биосинтез инсулина регулируется содержанием глюкозы в плазме крови. При сахарном диабете нарушения углеводного обмена приводят к гипергликемии. Сахарный диабет первого типа характеризуется практически полным разрушением β-клеток островков Лангерганса и, как следствие, абсолютной инсулиновой недостаточностью. При инсулинозависимом диабете второго типа, характеризующегося относительной инсулиновой недостаточностью, также необходимо введение инсулина [1].

Изначально инсулин выделяли из поджелудочной железы КРС или свиней, однако с развитием генной инженерии, в связи с возможностью создания биотехнологических методов производства гормона, необходимость в этом отпала [1].

Выделяют следующие генно-инженерные инсулины в зависимости от продолжительности действия [2]:

1. Инсулины ультракороткого действия:

Инсулин растворимый человеческий генно-инженерный.

1. Инсулины средней продолжительности действия:

Инсулина-цинк (человеческого генно-инженерного) комбинированного суспензия;

Инсулин-изофан человеческий генно-инженерный.

1. Инсулины длительного действия:

Инсулина-цинк (человеческого генно-инженерного) кристаллическая суспензия;

Инсулин растворимый человеческий генно-инженерный;

Инсулин-изофан человеческий генно-инженерный.

Для получение рекомбинантного инсулина человека были разработаны три метода: метод раздельного конструирования цепей инсулина, метод на основе проинсулина (внутриклеточная экспрессия) и метод на основе проинсулина (внеклеточная экспрессия).

Исторически первым был метод раздельного конструирования А- и В-цепей. Этот метод включает в себя химический синтез нуклеотидной последовательности полипептидной цепи инсулина. Синтетические гены А- и В-цепей встраивали в lac-ген E.Coli, рекомбинантный белок синтезировался в виде «телец включения», представляющие собой агрегаты белка. В таком состоянии белок не подвергается протеолизу. Тельца растворяют в муравьиной кислоте, рекомбинантные белки подвергают сульфитолизу и, таким образом, превращают в нативную молекулу двухцепочечного гормона [1].

Получение рекомбинантного инсулина человека включает пять стадий, в ходе которых происходит трансформация молекул. На первой стадии бактериями продуцируется гибридный белок, который представляет собой человеческий проинсулин с разомкнутыми или хаотически замкнутыми цистеиновыми группами. Во второй стадии производства он расщепляется на линейный проинсулин и А-белокпод действием BrCN. На третьей стадии, в результате реакции сульфитолиза,цистеиновые группы денатурированного проинсулина превращаются в SS-группы (образуется проинсулин-S-сульфонат. Затем проинсулин-S-сульфонат восстанавливают и ренатурируют. В завершающей пятой стадии под действием трипсина или карбоксипептидазы В от проинсулина отщепляется С-пептид и образуется инсулин, по структуре и свойствам не отличающийся от человеческого [3].

Помимо E. Coliв получении рекомбинантных белков используют клетки дрожжевых грибов Saccharomycescerevisiae иPichiapastories. Этот метод на основе проинсулина с внеклеточной экспрессией имеет значительные преимущества над предыдущим: дрожжи, в отличие от бактерий, не выделяют эндотоксины и пирогены, а синтезированные белки более доступны, так как накапливаются в цитоплазме с последующей секрецией во внеклеточную среду. Рекомбинантный белок подвергается процессингу в аппарате Гольджи и секретируется во внешнюю среду в виде одноцепочечногоминипроинсулина с правильно сформированными дисульфидными связями. Его выделяют из культуральной жидкости, очищают, и, после реакции с трипсином, превращают в инсулин человека [1].

Индустрия производства инсулина шагнула далеко вперед. Если изначально гормон выделяли из поджелудочной железы крупного рогатого скота, то сейчас для его получения необходимы минимальные экономические и временные затраты. Учеными были разработаны многочисленные инъекционные лекарственные формы, с каждым годом создаются более совершенные аналоги человеческого инсулина. Производство генно-инженерного инсулина является большой частью современного биотехнологического сектора. Ина данный момент генно-инженерный инсулин остается фактическиединственным и безальтернативным лекарственным препаратом заместительной терапии инсулинозависимого сахарного диабета.

Литература

1. Баирамашвили, Д. И. Генноинженерный инсулин человека: успехи и перспективы / Д. И. Баирамашвили, Ю.П. Швачкин, А.И. Мирошников // Российский химический журнал (Ж. Рос. хим. Об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2005, m. XLIX, №1. – С. 35-45.
2. ИНСУЛИНЫ / Г.А. Мельниченко, Н.В. Мазурина, А.Ю. Майоров, Л.А. Чугунова, Д.Е. Колода - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011.
3. Клюшниченко, В.Е. Генно-инженерный инсулин человека. ВЭЖХ в анализе продуктов основных стадий производства / В.Е. Клюшниченко, С.А. Акимов, К.В. Мальцев, А.М. Арутюнян, А.Е. Иванов, А.Н. Вульфсон // Биорганическая химия, 1992 - 18, № 12 – C. 1478-1486.
4. Кураева, Т.Л. Генетика сахарного диабета: история и современное состояние проблемы / Т.Л. Кураева // Журнал Вестник РАМН ФГБУ Эндокринологический научный центр (Москва). – 2005, №3. – С. 14-16.
5. Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы / под ред. А.И. Карпищенко - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 696 c.
6. Панин, Л.Е. Синтез фрагментов инсулина и изучение их физико-химических и иммунологических свойств. / Л.Е. Панин, Ф.В. Тузиков, О.Н. Потеряева, А.З. Максютов, Н.А. Тузикова, А.Н. Сабиров // Биоорганическая Химия, 1997 - 23, № 12–C. 953 - 960.

**СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОМА ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ. СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ**

***Серова Е. Ю., Фролова Т. И.***

***Кафедрой химии,***

***Кафедра ландшафтного строительства***

***Уральский государственный лесотехнический університет***

**В процессе развития человечества наши леса, как и остальные компоненты природы, подвергаются значительным изменениям. Так, в течение многих столетий выборочные рубки деревьев лучшего качества без заботы о восстановлении лесов отрицательно повлияли на лесонасаждения. Это сокращает мировой лесной генофонд лесных древесных популяций.**

**Работа по селекции всех видов растений, в том числе и древесных пород, основывается на использовании естественного генофонда местных древесных пород лесообразователей и интродуцентов. Сохранение генофонда древесных растений, как для осуществления мероприятий по улучшению свойств древесных растений в настоящее время, так и для селекционной работы при составлении перспективного ассортимента в будущем становится основой внимания лесной селекции.**

**Гибридизация известна как метод создания исходного материала для селекции лесных древесных пород. При гибридизации получают новые комбинации генов, которые не встречаются в исходном родительском материале. В современном понимании гибрид – это гетерозиготная особь, возникающая в результате скрещивания генетически различных родительских форм или генотипов, т.е. любой гетерозиготный организм, независимо от его происхождения. Целью гибридизации является:**

* **повышение устойчивости древесных растений против различных заболеваний, повреждений и вредителей. Повышение зимостойкости и засухоустойчивости, а также увеличение жизнестойкости и долговечности растений;**
* **повышение мощности и быстроты роста;**
* **улучшение качества древесины – плотности, структуры и др.,**
* **повышение декоративных качеств деревьев и кустарников и комбинирование их с устойчивостью к газам, задымлению и т.п.;**
* **повышение урожайности, качества плодов, смолопродуктивности, содержания ценных веществ [1].**

**Гибридизация используется в качестве способа изучения наследования,**

**получившего название гибридологического метода генетического анализа.**

**Этот метод генетики основан на принципе менделеевского анализа наследования и взаимодействия отдельных генов у организмов. При этом у гибридного потомства изучается наследование не совокупности признаков, а одного, двух или трех контрастных признаков в ряду последовательных поколений с применением индивидуального анализа потомства от каждого гибридного растения.**

**Лесные древесные растения выращиваются обычно с целью получения**

**вегетативной массы, поэтому стерильность гибридных растений не может препятствовать их выращиванию в промышленных масштабах. В современной лесной генетике и селекции гибридизация играет более важную роль, чем в селекции сельскохозяйственных культур. Применение межвидовой гибридизации близких видов в некоторых родовых комплексах древесных пород из разных районов произрастания имеет большое значение для получения гетерозисных межвидовых гибридов. Накоплены многочисленные экспериментальные данные, доказывающие целесообразность широкого применения внутривидовой гибридизации к лесным древесным растениям Проявление гетерозиса у лесных пород чаще наблюдается в первом гибридном поколении. Однако в некоторых случаях рациональнее селекционную работу распространять на второе и третье поколения. В связи с длительным периодом смены поколений у лесных древесных растении большое значение приобретает умелый подбор родительских пар с целью обеспечения в первом поколении гибрида с желательной комбинацией хозяйственно ценных признаков. Успешные примеры межвидовой и межродовой гибридизаций лесных древесных растений показали перспективность селекции путем гибридизации. Межвидовая гибридизация с отбором лучших форм тополей для вегетативного размножения на промышленных плантациях используется в лесоразведении при ускоренном выращивании сырья для целлюлозно-бумажной промышленности. Не меньшее значение в интенсификации лесного хозяйства имеет селекция на быстроту роста хвойных пород [2].**

**Таким образом, испытание потомства в гибридных популяциях необходимо вести по частной методике применительно к биологии данной породы и в соответствии с поставленными задачами.**

**Ранняя диагностика свойств** древесных растений, как научное направление лесной генетики и селекции, призванное разрабатывать принципы и методы ускоренной генотипической оценки свойств молодых растений и прогноза их изменения в онтогенезе в различных условияхсреды, основывается на известных генетических закономерностях: существовании материальных структур наследственности (генов), определяющих формирование признаков фенотипа; наличии в геноме растений групп сцепления, обусловливающих возможность появления в популяции генотипических корреляций между признаками. Учеными признана ведущая роль специфической нормы реакции в идентификации генотипов, различающихся по количественным признакам [3]. Используются следующие методы ранней диагностики: оценка по прямому признаку (например, отбор сеянцев по росту в питомнике), оценка по маркерным признакам (с помощью корреляции между числом семядолей у всходов сосны и последующим ростом молодых растений), оценка адаптивных признаков по их реакции на условия внешней среды. Последнее направление - наиболее результативное. В НИИ лесной генетики и селекции разработан метод функциональных экологических тестов, позволяющий осуществлять генотипическую оценку потенциала роста и засухоустойчивости на примере 3-летних сеянцев сосны при выращивании их в условиях специального экологического питомника и регистрацию ростовых и электрофизиологических реакций на анализируемые фоны и метеоусловия, а также др. адаптивных признаков (жаро-, соле-, газоустойчивости и т. д.) при оценке растений в контролируемых условиях.

Предполагается, что расшифровка геномов растений откроет перед наукой и практикой широкие перспективы. Прежде всего, выявление новых генов и цепочки их генетической регуляции позволит существенно повысить продуктивность растений за счет использования биотехнологических подходов. С обнаружением, выделением, размножением (клонированием) и секвенированием генов, отвечающих за такие важнейшие функции растительного организма, как размножение и продуктивность, процессы изменчивости, устойчивости к воздействию неблагоприятных факторов среды, а также гомологичное спаривание хромосом, связывают появление новых возможностей для усовершенствования селекционного процесса. Наконец, выделенные и клонированные гены можно использовать для получения трансгенных растений с принципиально новыми свойствами и анализа механизмов регуляции активности генов [4].

Лаборатория лесной геномики создана в Сибирском федеральном университете в апреле 2014 года в рамках выполнения проекта**«Геномные исследования основных бореальных лесообразующих хвойных видов и их наиболее опасных патогенов в Российской Федерации».** Ученые Сибирского федерального университета первыми взялись за расшифровку геномов лиственницы и сосны. Согласно предварительным исследованиям, они могут оказаться длиннее ДНК человека в 12 раз. Расшифровав гены хвойных деревьев, ученые смогут создавать новые породы, устойчивые и к вредителям, и к засухам. Кроме того, знания геномов хвойных помогут в борьбе с черными лесорубами.

В настоящее время наметились два направления использования гибридизации лиственницы в лесном хозяйстве:

1) отбор среди гибридных растений наиболее быстрорастущих особей, размножение их вегетативным путем с закладкой промышленных плантаций из лучших клонов;

2) получение гибридных семян от наиболее перспективных вариантов скрещивания с использованием их в лесокультурной практике на общих основаниях. Из семян гибридного сорта выращивают сеянцы, саженцы и закладывают культуры, в которых по законам конкуренции и влиянию отбора пойдет процесс самоизреживания [2].

Достижения красноярской лесной науки адекватны таёжным богатствам. Центр защиты леса Красноярского края (одно из подразделений филиала ФБУ "Рослесозащита") ведёт генетические исследования наравне с передовыми научными лабораториями мира.

Семена, собранные на разных участках леса, проходят проверку. Лаборатория располагает и классическими методами фитоанализа, и самыми передовыми. Если при традиционных исследованиях результаты приходится ждать 3 недели, то с привлечением ДНК-анализа качество семян можно проверить всего за один день.

Генетические исследования в какой-то степени являются современными методами мониторинга лесов. Ведь ДНК-анализ - это тоже мониторинг, просто слежение ведётся за более тонкими материями.

Одна их важнейших задач сегодняшнего дня - расшифровка генома лиственницы. Выбор не случаен. В мире существуют свои приоритеты в работе над расшифровкой генома древесных растений. Лиственница, наверное, наиболее важная для России порода, можно сказать, это символ страны. Для хрупких северных экосистем лиственница имеет особое значение, лиственничниками покрыты огромные территории России.

Генетический анализ сегодня используется для создания "кладовых" качественного леса, сохранения генетического разнообразия лесов и получению ценных по своим качествам семян - потомства плюсовых деревьев, отобранных по максимальному приросту древесины, урожайности, устойчивости к вредителям. Эти данные используются при геномной селекции, с целью рекомендации к воспроизводству лесов семян с ценными признаками, которые можно будет обнаружить простым, быстрым и недорогим анализом.

В совокупности с ранним обнаружением фитозаболеваний методами генетической экспресс-диагностики, которая может быть осуществлена за 1-2 дня, а не за две недели стандартным методом, геномная селекция может дать огромный толчок к эффективному лесовосстановлению. Её результаты могут быть использованы и для разработки методов генетической идентификации нелегально заготовленной древесины.

Исследования ведутся в рамках гранта Министерства образования и науки РФ «Геномные исследования основных бореальных лесообразующих хвойных видов и их наиболее опасных патогенов в Российской Федерации». По словам научного сотрудника Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Константина Валерьевича Крутовского «Деревья — это экстремалы. Им принадлежит большинство рекордов в мире живых организмов. Хвойные, о которых пойдёт речь, очень древние, экономически важные для нашего региона представители древесных. Именно им под силу влиять на климат не только нашей страны, но и планеты в целом» и даёт краткое определение понятий «геном» и генетического кода, проводит аналогию с языком, на котором все мы разговариваем: «Геном — это совокупность всех генов, регулирующих жизнедеятельность организма, это наша информационная программа, закодированная в цепочках нуклеотидов. Язык — тоже система передачи информации, закодированная при помощи знаков— букв. Геном сибирской лиственницы в четыре раза больше генома человека, кедровой сосны — в шесть-семь раз» [5]. По утверждению Константина Валерьевича, группа голосеменных, в которую входят хвойные растения, появилась 300 миллионов лет назад. И если раньше для нас синонимом необозримой древности было слово «динозавр», пора менять ориентиры. Предки современных хвойных гораздо древнее прославленных массовой культурой рептилий!

  Одна из величайших загадок голосеменных растений в том, что за все эти миллионы лет они практически не изменились. Безусловно, эволюционировали, но очень уж медленно в сравнении со своими современниками, от многих из которых ничего, кроме ископаемых останков, не дошло до нашего времени. Как это выяснили? Благодаря радиоуглеродному анализу древесных остатков (наиболее информативны те, что связаны с системой размножения — шишки, семена). Всем известен способ определения возраста и условий жизни растения по древесным кольцам, но тут есть нюанс: кольца образуются только у тех пород, которые растут в зонах с чётко выраженной сменой климата. Деревья-долгожители на охраняемых территориях никто не трогает, даже их семена, по идее, нельзя собирать и выносить из заповедника. Но есть же экземпляры, погибшие от естественных причин, вот на них и проводятся такого рода исследования. Биогеронтология - область знаний, которая изучает процессы старения и механизмы борьбы с ним, должна объяснять, от каких факторов зависит долгожительство деревьев. Насколько это связано с условиями их обитания: тысячелетние сосны произрастают на высокогорье, где мощное ультрафиолетовое излучение и морозы достигают — 50 оС. Никакие древесные вредители и бактерии— возбудители заболеваний там просто не выживают. Если бы не пожары и не вырубки, древние леса можно было бы считать поистине бессмертными.

Кстати, бореальные хвойные леса (тайга) составляют более шестидесяти процентов мировых запасов леса. Существуют весьма необычные способы использования древесины хвойных. Оказывается, лучшее и наиболее экологичное ракетное топливо получают из альфа-пиренов, а их, в свою очередь, добывают из смолы хвойных. А ещё из хвойных получают таксол, или паклитаксел - эффективное средство для лечения онкологических заболеваний [4].

На сегодняшний день в мире действует всего пять проектов, связанных с расшифровкой генома различных видов хвойных. Это крупные проекты, консолидирующие интеллектуальные усилия учёных из десятков университетов различных стран.

Особенность современного процесса секвенирования состоит в его значительной ускоренности и производительности. Геном человека был прочтён за одиннадцать лет, а шведским учёным понадобилось три года (2010–2013 гг.), чтобы сделать «первую сборку» хвойного генома. Что же представляет собой сам процесс расшифровки, или «прочтения» генома?

Учёные выделяют так называемую тотальную ДНК из любой части растения, она одинакова для всех клеток. В процессе пробоподготовки ДНК разделяется на фрагменты, и от начального текста остаются отдельные «куски». Затем эта нарезка помещается на специальный чип в секвенатор. «Прочитав» фрагменты, необходимо вновь собрать эти, теперь уже понятые и осмысленные, кусочки воедино. А их несколько миллиардов! Это огромная биоинформатическая задача. Как проверить правильность «сборки» после секвенирования, что выступает маркером адекватности в случае генома? Выясняется, что генетический текст «читается» по особым правилам. Некоторые фрагменты ДНК могут повторяться сотни и тысячи раз, поэтому компьютер выравнивает все данные в определённые перекрывающиеся кластеры и генерирует консенсусные сиквенсы — контиги. При расшифровке длинных фрагментов из трёх-пяти тысяч нуклеотидов удаётся прочесть только «хвосты», а середина иногда так и остаётся загадкой. Но благодаря перекрыванию прочитанных фрагментов компьютер позволяет поместить этот фрагмент в общую сборку [4].

 Геном хвойных таит много загадок эволюции. Это также сложная инструкция, по которой эти древние организмы функционируют. Чтобы прочитать эту инструкцию необходим мощный прибор— секвенатор. Прочтя геном, можно определить весь набор генов, а затем через сравнительный анализ выделить участки низкой и высокой изменчивости генов и использовать их в создании специальных маркеров для изучения связи этой генетической изменчивости с изменчивостью сложных адаптивных и хозяйственно— ценных признаков. А это уже позволит решать практические задачи селекции. Животноводческий сектор за рубежом практически на 90% определяется геномной селекцией. Настало время внедрить этот метод селекции и в лесное хозяйство.

Сейчас селекционер, специализирующийся на разведении сосны, тратит пятнадцать лет, чтобы оценить результат своей работы (именно столько требуется, чтобы вырастить новое поколение деревьев и в полной мере оценить их свойства). А вот зная геном сосны и заранее выявив корреляцию некоторых его фрагментов с фенотипом (внешними признаками) дерева, весь цикл селекции можно сократить до 4-5 лет и гарантированно получить ожидаемый результат — экземпляры с заданными показателями прироста биомассы, высоты, качества древесины, урожайности и т.д. Станет возможно «заказывать» растения с улучшенными, экономически и эстетически предпочтительными качествами и ускорить селекцию в несколько раз!

Можно предвидеть дальнейшее совершенствование хромосомных технологий, прежде всего метода микродиссекции. Его использование резко расширяет возможности геномных исследований, не требуя огромных затрат, как, например, тотальное секвенирование геномов.

Хромосомные технологии в обозримом будущем приобретут большое значение и для эволюционной геномики растений. Эти технологии, относительно недорогие, позволяют быстро оценивать внутри- и межвидовую вариабельность, изучать сложные аллополиплоидные геномы тетраплоидной и гексаплоидной пшеницы, тритикале; анализировать эволюционные процессы на хромосомном уровне; исследовать образование синтетических геномов и введение (интрогрессия) чужеродного генетического материала; выявлять генетические взаимоотношения между индивидуальными хромосомами различных видов.

Можно полагать, что в отечественной селекционной практике и растениеводстве будут широко использоваться такие геномные подходы, как генетическое типирование (RELF, RAPD, AFLP-анализы и т.п.), вполне доступные для нашего бюджета. Параллельно с прямыми методами определения ДНК-полиморфизма для решения проблем генетики и селекции растений будут применяться подходы, основанные на изучении белкового полиморфизма, в первую очередь запасных белков злаков. Широкое применение получат хромосомные технологии. Они относительно недороги, их развитие требует вполне умеренных вложений. В области хромосомных исследований отечественная наука не уступает мировой [5].

Полная расшифровка генома человека целиком преобразила медицину и фармакологию, создав гигантский рынок лекарств и лечебных рецептур, учитывающих индивидуальную генетическую восприимчивость. Расшифрованные геномы сельскохозяйственных животных и растений активно используются сейчас в области геномной селекции. Аналогично этим примерам геномные данные лиственницы открывают также большую перспективу практического использования [6].

Полученная геномная последовательность может быть использована для получения ценных пород, которые будут устойчивы к неблагоприятным природным условиям и изменению климата. А также расшифровка генома позволит разработать методику идентификации древесины с места заготовки - соответствует она этому месту или нет. Такую несложную работу можно будет в дальнейшем выполнять, имея расшифрованные данные о генотипе объекта. Это важно использовать для борьбы с браконьерством и нелегальной заготовкой древесины, если закрепить процедуру на законодательном уровне.

Наконец, выполнение проекта и создание в его рамках первоклассной высокотехнологичной лаборатории позволит проводить экспериментальную разработку новых высокопроизводительных нанотехнологичных методов секвенирования ДНК, позволяющих с лёгкостью давать ответы на сложные вопросы природы и лесной промышленности богатейших лесозаготавливающих регионов страны.

Всё это, по словам наших учёных, станет возможным года через три. Воплощение в жизнь проекта станет ещё одним шагом российской науки к передовым рубежам науки мировой.

Литература

1. Царев А. П. Селекция и репродукция лесных древесных пород / А. П. Царев, С. П. Погиба, В. В. Тренин. – М. : Логос, 2003. – 520 с.
2. Царев А. П. Генетика лесных древесных пород / А. П. Царев, С. П. Погиба, В. В. Тренин. – М. : Изд. Московского государственного университета леса, 2001.– 340 с.
3. Зеленин А. В. Геном растений // Вестник российской академии наук, том 73, № 9, 2003 - с. 797-806.
4. Крутовский К. В. От популяционной генетики к популяционной геномике лесных древесных видов: интегрированный популяционно-геномный подход // Генетика. 2006. T. 42. № 10. С. 1304–1318.
5. Тараканов В. В., Крутовский К. В., Турок Й. Проблема сохранения лесных генетических ресурсов Сибири в условиях глобального изменения климата и усиливающегося антропогенного влияния // Сиб. экол. журн. 2010. Т. 3. № 6. С. 969–974.
6. Крутовский К. В. Перспективы использования геномных исследований в лесном хозяйстве // Общие вопросы лесной молекулярной генетики и биотехнологии. Сибирский лесной журнал. 2014. № 4. С. 11–15.

**Механизм обратной транскрипции в работе Crispr/Cas-системы**

*Реймер И.А., Адилова А.Х.*

*Научный руководитель: к.б.н., Л.В. Гирина*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Crispr-система-это система специфического иммунитета прокариот, характерная как для бактерий, так и для архей.Crispr-структуры впервые были описаны почти 30 лет назад, однако их функции долгое время оставались не выясненными.Crispr-система состоит из геномных кассет, в которые записывается информация о вирусных и плазмидных инвазиях, и Cas-белков, обеспечивают молекулярный механизм иммунитета. В ответ на попадание инфекции Crispr-система вырезает из чужеродной ДНК небольшой фрагмент и встраивает его в свой геном. Высокоэффективная способность Crispr-системы для идентификации ДНКимеет большие перспективы для реализации в практической деятельности человека. Примером могут служить точные манипуляции с самыми различными геномами, в том числе с геномом человека.

На Crisp-систему возлагают большие надежды и выделяют следующие гипотетические функции:

* сегрегация хромосом;
* рекомбинация по повторам;
* система репарации ДНК;
* противовирусный иммунитет;

До определенного времени ученые считали, что основным механизмом Crispr-системы является транскрипция, т.е. она могла считывать информация только с ДНК. Но недавние исследования показали, что Crispr-система может работать и по принципу обратной транскрипции.

Обратная транскрипция-это процесс образования двуцепочечной ДНК на основании информации в одноцепоченой РНК. Для доказательства использования Crispr-системы обратной транскрипцией было наглядно продемонстрировано на опыте со специально синтезированной ДНК, которая кодировала самосплайсирующуюся РНК. Такая РНК сама способна вырезать из себя определенную последовательность нуклеотидов, поэтому ДНК отличалась от РНК-варианта и поэтому, можно было проследить работу Crispr-системы на базе информации, исходящей от ДНК и от РНК. Синтетическую ДНК в больших количествах внедряли в клетку для того, чтобы она стала мишенью для Crispr-системы, но проанализировав последовательность кассет, ученые обнаружили спейсеры, которые могли образоваться только от РНК-последовательности.

Такое открытие предполагает использование этой системы для лечения вируса иммунодефицита человека. Геном вируса, при помощи Crispr-системы вырезается из генома клетки. Для того, чтобы комплементарная ДНК вируса встроилась в геном клетки необходимы длинные концевые повторы, если направить Crispr/Сas9 в область длинных концевых повторов и провести разрез, то вероятность мутации вируса снижается в 3 раза. Но если направить систему в область, которая менее всего подвержена мутациям и выполнить разрез в этой области, то вирусная ДНК удалялась и происходило излечение, окружающий геном не претерпевал никаких изменений.

Можно с уверенностью сказать, что СПИД перестал быть неизлечимым заболеванием, но пройдет не мало лет, прежде чем эти технологии пойдут в повсеместное пользование, но плюсы этой технологии очевидны: Crispr/Cas9 удаляет полностью вирус из организма, когда современная терапия этого не делает.

Новый тип Crispr-систем – это первый пример использования принципа обратной транскрипции клеточными формами жизни. Было бы интересно выяснить, каково влияние такого типа иммунитета на выживаемость бактерий. Известно одно: такая система помогает бактериям бороться с вирусами с РНК-геномом, в жизненном цикле которых отсутствует ДНК.

Литература

1. Гущанская Е. «Мутагенная цепная реакция: редактирование геномов на грани фантастики»
2. Ченцов Ю. С. «Введение в клеточную биологию», 1 –е издание, 2004г, 443 стр.
3. Биомолекула «Просто о сложном: Crispr/Cas» http:// biomolecula.ru / content/2069
4. Биомолекула «Битва века Crisprvs ВИЧ». http://biomolecula.ru/content/2033
5. Биомолекула: «[CRISPR-системы: иммунизация прокариот](http://biomolecula.ru/content/1498)» http://biomolecula.ru/content/1498

**«ОБРАТНАЯ» ГЕНЕТИКА**

*Баловнева Е. В.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева.Е.Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Прогресс медицинской генетики, несомненно, обусловлен достижениями молекулярной биологии. В середине 70-х годов активно разрабатываются новейшие методы исследования генома человека, «обратная генетика», основанная на первичном исследовании структуры генов без предварительных знаний обоих белковых продуктов. К 2005 году в рамках международной программы «Геном человека» планировалось завершить тотальное секвенирование генных последовательностей.

В генетических исследованиях существует два основных подхода, получивших названия «прямой» и «обратной» генетики. В то время как «прямая» генетика занимается изучением закономерностей наследования признаков (фенотипа) у живых организмов в ряду поколений и выявляет генетические факторы, которые влияют на проявление данных признаков (работает по принципу «от фенотипа к генотипу»), «обратная» генетика, имея в качестве отправной точки ген с неизвестной функцией, выясняет его роль в организме путем изменения структуры или активности такого гена с последующим анализом ассоциированных изменений в фенотипе (принцип «от генотипа к фенотипу»). С развитием технологий широкомасштабного геномного секвенирования «обратная» генетика получила существенную поддержку, заняв лидирующее положение как в фундаментальной науке, так и в прикладных областях.

«Обратная» генетика – область исследований, где отправной точкой служит некоторая последовательность ДНК и эксперименты направлены на выявление ее фенотипических эффектов. Возможности для «обратных» генетических исследований появились сравнительно недавно, с развитием методов молекулярной биологии. Важную роль здесь играют манипуляции с ДНК и продуктами транскрипции. ДНК может быть встроена в геном другого организма, удалена или изменена. Мутации индуцируются либо направленно (с использованием гомологичной рекомбинации), либо случайным образом, с по­следующим отбором мутаций в определенном гене ( «генные ловушки»). На уровне транскрипта работают, например, некоторые процедуры генногосайленсинга. Основными объектами «обратной» генетики являются модельные организмы – вирусы, дрожжи, дрозофила, домовая мышь и др. Полученные результаты важны для общей генетики, генетики животных и растений, генной инженерии. Особую ценность имеют результаты, полученных путем «обратной» генетики на модельных животных, на гомологичные гены человека. Самый крупный проект– исследования нокаутных мышей (рис. 1).

Нокаут гена – это молекулярно-генетический метод, в ходе которого задуманные исследователем изменения вносятся в нуклеотидную последовательность изучаемого гена или его регуляторных элементов. Мышь является наиболее адекватным модельным животным для использования технологии инактивации генов. Это обусловлено следующими причинами:

а) мышь – хорошо изученный и доступный объект;

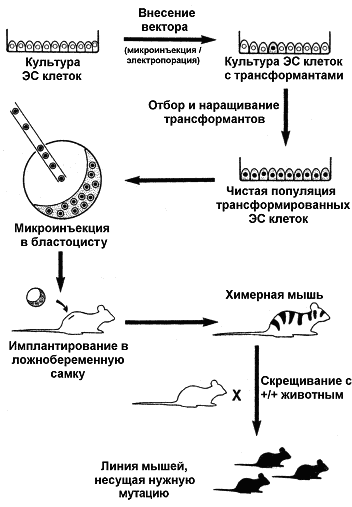
б) геном мыши и человека содержит приблизительно одинаковое число генов;

в) сходство аминокислотных последовательностей всех белков человека и мыши составляет около 90%.

Однако основной причиной использования мыши в качестве модели для инактивации гена является возможность изолирования эмбриональных стволовых клеток, в которых любой ген может быть модифицирован. Клеточные линии, содержащие модифицированный ген, могут быть привнесены в развивающийся зародыш, что позволяет получить химерное животное, несущее искусственно созданную мутацию (рис. 1).

Молекулярно-генетическим механизмом, позволяющим осуществлять инактивацию гена, является гомологичная рекомбинация между экзогенной ДНК, несущей задуманные исследователем изменения, и геномной ДНК объекта.

Классическая схема получения нокаутированных мышей включает несколько этапов: получение векторной конструкции, с последующим внесением ее в культуру эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) и отбор трансформантов. Трансформированные ЭСК вносят в зародыш, и полученных химерных животных скрещивают для получения линии мышей, гомозиготных по полученной мутации (см. рис. 1).



***Рис. 1.*** *Стратегия получения линии нокаутированных мышей* 

Первая нокаутная мышь была создана в 1989 г. Созданы нокаутные линии мышей для 2 400 генов, почти 800 из них описаны фенотипически. Еще для 12 тыс. генов существуют линии нокаутных эмбриональных стволовых клеток. В 2003 г. появилась также возможность создания нокаутных крыс. По оценкам, у 10–15 % мышиных нокаутов исследователи не находят никаких фенотипических отклонений. Одна из причин – способность генома компенсировать нарушения в одних генах за счет изменения активности других. В такой ситуации могут быть информативны двойные, тройные и т. д. нокауты (организмы, у которых выключена функция двух, трех и более генов). С другой стороны, около 15 % нокаутов не доживают до стадии взрослого организма. Исследование функций таких генов может быть произведено на условных нокаутах, у которых функция гена выключается лишь в определенных тканях или органах и в определенное время. Другой вариант – не выключать ген полностью, но снизить его экспрессию. Такую процедуру называют нокдауном. Нокдаун гена можно осуществить путем изменения самой последовательности ДНК (этим достигается постоянное снижение экспрессии). Генные нокины – организмы, полученные в результате вставки кодирующей последовательности ДНК в нужное место генома путем сайтспецифическогоинсерционного мутагенеза. Может быть вставлена последовательность мутантного гена и созданы условия для его оверэкспрессии. Присутствие мутантных вариантов продукта изучаемого гена наряду с его нормальными формами может дать информативный фенотип. Наконец, если известно достаточно много о гене и его белке, ДНК гена может быть отредактирована так, чтобы изменились регуляторные сайты его белкового продукта (например сайты фосфорилирования). Методы «обратной» генетики сейчас все чаще используются для подтверждения результатов генетического картирования. По сути, «обратной» генетикой являются любые направленные изменения последовательности ДНК или генной экспрессии, для которых исследуется фенотипический эффект, в том числе создание трансгенных организмов и ряд подходов функциональной геномики. «Обратная» генетика дает ценную информацию о том, как генотип особи реализуется в фенотипе. Эта информация постоянно востребована в «прямой» генетике при поиске кандидатных генов и для подтверждения результатов генетического картирования.

Литература

1. Аксенович Т.И. Статистические методы генетического анализа признаков человека. Уч. пособие. 2-е изд., перераб. и доп. Новосибирск: НГУ, 2003. 160 с.
2. Аксенович Т.И., Белоногова Н.М. Картирование генов с помощью неравновесия по сцеплению или аллельных ассоциаций. Уч. пособие. Новосибирск: НГУ, 2008. 97 с.
3. Белоконева О. Нобелевские премии 2007 года. Гены под прицелом // Наука и жизнь. № 12. 2007. http://www.nkj. ru/archive/articles/12348/>

**технологии Редактирования генома**

*Федорова А.А.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Голинская Л.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В 1953 году Джеймс Уотсон и Френсис Крик впервые расшифровали молекулу ДНК, что вызвало интерес у других ведущих ученых мира. Из ДНК формируются хромосомы. С момента зачатия у плода образуется набор хромосом, в котором заложены «характеристики»: цвет волос, кожи, разрез и форма глаз, группа крови, размер рук и ног, но так же и предрасположенность к различным болезням

Редактирование генома человека - эта технология начала развиваться сравнительно недавно. Никто из ученых не мог предположить, что болезни на генетическом уровне возможно вылечить с помощью бактерий. Японские ученые к концу 80-х годов XX века расшифровывали геном кишечной палочки и нашли участок, который содержал повторяющиеся последовательности ДНК. Чуть позднее такие повторения ДНК нашли и у большого количества бактерий и архей и назвали CRISPR.

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR), что в переводе означает «короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами». Между палиндромными повторами располагаются спайсеры – отличающиеся фрагменты ДНК цепи. Большинство спайсеров совпадают с участками геномов вирусов, которые могут взаимодействовать с данной бактерией. При попадании вируса в такую бактерию активируются специализированные СAS-белки уничтожающие вирус и защищающие клетку от инфекции. СAS9 – белок (разновидность СAS-белка) разрывает цепь ДНК так, что можно убрать целый участок цепи. При этом ученые на место разрыва встраивают нужную им последовательность. Генетики убирают поврежденные или мутированные участки гена и заменяют их на нормальные.

Таким образом, ученые могут изменять структуру ДНК. Множество лабораторий занялись исследованиями в этой сфере. Исследователи использовали технологию CRISPR/Cas9 для избавления клеток от вируса ВИЧ. Они вносили в культуру Т-лимфоцитов гены, которые вырезали ДНК вируса из генома лимфоцитов.

Осенью 2015 года медики успешно провели ряд работ, направленных на избавления от рака. Генетики получили от здорового донора Т-лимфоциты. При помощи препаратов эти клетки стали невидимы для противоопухолевых лекарств. Полученные Т-лимфоциты отредактировали и ввели пациенту. Они начали активно уничтожать опухолевые клетки. Рак перешел в стадию ремиссии. В ходе испытания было выявлено, что отредактированные частицы накапливаются в опухоли и снижают экспрессию генов раковых клеток.

Китайские ученые впервые сделали инъекцию пациенту, которая содержит его собственные отредактированные иммунные клетки для борьбы с раком легких. Медики изменили Т-лимфоциты, вырезали белок PD-1( programmed cell death 1) дающий опухолевым клеткам скрываться от иммунной системы. Вводя инъекцию пациенту, ученые полагали, что отредактированные клетки будут активнее уничтожать опухолевые клетки. Ингибирование PD-1 используется в испытаниях на многие другие опухолевые заболевания.

Американские исследователи в 2017 году хотят провести клинические испытания с использованием системы CRISPR-Cas9 против рака почек, мочевого пузыря.

Франко-американская компания Cellectis в конце прошлого года применила технологию TALEN, тем самым, вылечила годовалую девочку от лейкемии. Технология заключается в модификации ДНК иммунных клеток в пробирке. Измененные клетки уничтожают поврежденные при лейкемии кровяные клетки. Компания объявила о второй успешной операции, проведенной в той же больнице.

Генетическое редактирование можно применить не только для лечения ВИЧ и рака. Современные технологии развиваются в направлении на лечение болезни Альцгеймера, респираторных и аутоиммунных болезней, эпилепсии, шизофрении, сахарного диабета и многих других.

Литература

1. Анализ генома. Методы / Под ред. К. Дейвиса. М.: Мир, 1990. 246 с.
2. Генная терапия наследственных заболеваний с использованием технологии CRISPR / Cas 9 in vivo. Медицинская генетика. 2016.
3. Дыбан А. П., Городецкий С. И. Интродукция в геном млекопитающих чужеродных генов: пути и перспективы // Молекулярные и клеточные аспекты биотехнологии. Л.: Наука, 1986. С. 82 - 97.
4. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. Т. 1-2. М.: Мир, 1998.
5. <http://генофонд.рф/?page_id=8116>
6. <http://link.springer.com/article/10.1007/s13238-015-0153-5>
7. http://biomolecula.ru/content/2076

**ГИПОТЕТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ CRISPR/CAS- СИСТЕМЫ**

*Жиркова М. А.*

*Научный руководитель: ассистент Мачнева И.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

CRISPR/Cas – это система адаптивного приобретенного иммунитета бактерий и архей, направленная на уничто­жение проникшей в клетку чужеродной ДНК, например, фагов или плазмид. История изучения данных систем началось еще в 1989 г. Молодой докторант [Университета Аликонте](https://en.wikipedia.org/wiki/University_of_Alicante) [Франциско Мохика](https://es.wikipedia.org/wiki/Francisco_Juan_Mart%C3%ADnez_Mojica) обнаружил в  геноме Halofera xmediterranei группы почти совершенных и палиндромных прямых 30-нуклеотидных повторов, разделенных спейсерами — уникальными, неповторяющимися участками примерно такой же длины. В **1995г** Мохика опубликовал статью об обнаружении нового класса прокариотических повторов, названных shortregularlyspacedrepeats*(SRSR)*. Позжепо его жепредложениюих переименовалив clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR).К**2000** году Мохика выявил такие же повторы у массы архей и бактерий, включая возбудителей опасных инфекций —[Mycobacterium tuberculosis](https://ru.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_tuberculosis) и [Yersiniapestis](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A7%D1%83%D0%BC%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D0%BF%D0%B0%D0%BB%D0%BE%D1%87%D0%BA%D0%B0). В **2002**  исследовательская группа из Голландии заметила, что к CRISPR всегда прилегает однотипная группа генов. За что эти гены и получили название cas (CRISPR-associatedgenes) [[2](http://biomolecula.ru/content/2077#l2)].CRISPR-структуры были найдены у 45% всех известных бактерий и 85% архей. В геномах эукариот и вирусов ничего подобного обнаружено не был.

С момента открытия CRISPR-кассет возникло несколько гипотез о её функции.

**Гипотеза 1: сегрегация хромосом.** Для выживания прокариотам необходимо, чтобы генетический материал родительской клетки правильно удваивался и равномерно распределялся между потомками. Распределение хромосом между дочерними клетками контролируют системы сегрегации. У эукариот правильное расхождение хромосом обеспечивают центромеры - участки с особенной последовательностью и структурой, соединяющие сестринские хроматиды. Прокариоты значительно проще по организации целого ряда клеточных процессов; в частности, центромер у них нет. Однако у бактериальных плазмид P и F1 правильное расхождение двух копий плазмиды после репликации контролирует система par [4]. Важный элемент par-системы — итероны, короткие тандемные повторы, собранные в область под названием parC. С parC связывается белок parR, а тот, в свою очередь, с parM и другими белками системы. Важной особенностью этой области считаются тандемно расположенные повторы, что очень напоминает CRISPR-кассеты.В геномах двух видов архей — Haloferax volcanii и H. mediterranei — содержится несколько CRISPR-кассет общей протяженностью до 1600 пар нуклеотидов [4]. При введении дополнительных копий CRISPR-кассет у H.volcanii часто наблюдались отклонения в распределении генетического материала при делении клеток и снижалась их жизнеспособность [[3](http://biomolecula.ru/content/1498#l3)]. CRISPR-кассеты H. volcanii и H. mediterranei находятся в мегаплазмидах и собственно хромосомной ДНК, т.е. наиболее крупных репликонах (молекулах ДНК, копирование которых начинается с одной точки). Согласно этой гипотезе CRISPR- кассеты отвечают за правильное распределение по дочерним клеткам важных генов крупных репликонов, а расхождение мелких плазмид с несущественными генами происходит более или менее случайно.

**Гипотеза 2: рекомбинация по повторам.**Вторая гипотеза тоже опирается, в основном, на повторы CRISPR-системы, но учитывает не их тандемное расположение, а идентичность. Часто повторы служат точками для геномных перестроек. Они происходят благодаря рекомбинации, гомологичной или гетерологичной.В ходе рекомбинации часто происходят потери, перевороты и удвоения протяженных участков генома. Такие крупные перестройки не всегда оказывают отрицательное влияние: иногда они служат источником необходимой изменчивости для эволюции и адаптации к меняющимся условиям окружающей среды [4]. Тандемно расположенные повторы CRISPR-кассет могут служить мишенями для рекомбинации в геномах бактерий и архей. Часто наблюдаемые делеции целых групп последовательно идущих спейсеров из середины кассеты служат этому примером.

**Гипотеза 3: система репарации ДНК.** Прокариотический геном относительно невелик, но очень структурирован. Гены прокариот, отвечающие за одну биологическую функциючасто расположены рядом. Такое расположение гарантирует, что белки, которые совместно выполняют некоторую функцию, сразу после трансляции будут находиться поблизости в клетке. Во-вторых, это облегчает регуляцию экспрессии функционально связанных генов.У организмов с кассетами в непосредственной близости от CRISPR-локуса располагаются гены, которых нет у организмов без CRISPR-кассет, — это cas-гены. Филогенетическая сцепленность и близость расположения свидетельствуют в пользу функциональной взаимосвязи cas-генов и CRISPR-кассет.Набор cas-генов у разных организмов сильно различается, однако у всех организмов с CRISPR есть ген cas1, его можно считать универсальным маркером CRISPR-систем. Сas1 имеет выраженный положительный заряд и может электростатически взаимодействовать с отрицательно заряженным сахаро-фосфатным остовом ДНК.

Определение функций cas-генов позволило только понять, что CRISPR как-то связаны с перестройками ДНК. Предположили, что CRISPR может работать системой репарации у термофильных бактерий и архей, живущих в экстремальных условиях — при температурах более 100 °С [5]. Термофилы поразительно устойчивы к действию факторов, повреждающих ДНК: ионизирующему и ультрафиолетовому излучениям, химическим мутагенам. Термофилы должны обладать очень эффективной системой репарации ДНК, однако ничего подобного у них не найдено. На роль такой системы была выдвинута CRISPR со всеми Cas-белками. В пользу гипотезы, в первую очередь, говорит сходство некоторых Сas-белков с эндонуклеазамиRecBподсемейства [RecBCD](http://en.wikipedia.org/wiki/RecBCD) — основной системе рекомбинационной репарации E.coli. У других Сas-белков обнаружены домены, похожие на каталитические домены ДНК- и РНК-полимераз, а также хеликаз, которые тоже пригодились бы для репарации ДНК. Однако остается еще ряд белков, совершенно точно связанных с CRISPR, функция которых пока неизвестна.

**Гипотеза 4: противовирусный иммунитет.** В 2005 г. сразу несколько независимых исследовательских групп проанализировали спейсеры уже известных кассет с целью понять их происхождение. Они сравнили спейсеры со всеми известными последовательностями ДНК. Оказалось, что спейсеры CRISPR-кассет у Streptococcus thermophilus и S. vestibularis часто совпадают с участками генов бактериофагов (вирусов бактерий), специфичных к стрепококкам, или плазмид S. thermophilus и Lactococcuslactis [3]. Некоторые спейсеры оказались идентичны последовательностям бактериальных геномов: такие спейсеры часто попадают на последовательности [профагов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%B0%D0%B3) — геномов умеренных бактериофагов, интегрированных в ДНК бактерий.

Вскоре и у многих других архей и бактерий нашли спейсерывнехромосомного происхождения. Участки вирусных и плазмидных геномов, совпадающие со спейсерами, назвали протоспейсерами. Продукты генов, содержащих протоспейсеры, участвуют в репликации ДНК, сборке вирусных частиц, защите ДНК от рестрикции, переводе вирусов в «спящее» состояние и обратной их активации, сегрегации репликонов. Эти функции важны вирусам и плазмидам для проникновения в клетки прокариот, размножения и дальнейшего распространения.Помимо происхождения спейсеров к 2005 г. стало известно, что: устойчивость к фаговым инфекциям (у Streptococcus thermophilus) зависит от числа спейсеров в CRISPR-кассете [[18](http://biomolecula.ru/content/1498#l18)]; механизм появления CRISPR-кассет тесно связан с cas-генами [[20](http://biomolecula.ru/content/1498#l20)]; CRISPR-кассеты транскрибируются (у Archeoglobus fulgidus и Sulfolobus sulfoctaricиus) c образованием малых РНК [2].Все эти факты навели на мысль о том, что CRISPR защищает прокариот от вирусов и плазмид [1]. Согласно такой гипотезе, включение участков геномов мобильных элементов в виде спейсеров — не что иное, как иммунная память, которая может передаваться по наследству. Такая система должна давать своим хозяевам существенный выигрыш в приспособленности, что могло бы объяснять широкое распространение CRISPR-систем в мире прокариот.

Литература

1. Bolotin A., Quinquis B., Sorokin A., Ehrlich S.D. (2005). Clustered regularly interspaced short palindrome repeats (CRISPRs) have spacers of extrachromosomal origin. Microbiology 151, 2551–2561;
2. биомолекула: «А не замахнуться ли нам на... изменение генома?»;
3. Mojica F.J.M., Díez-Villaseñor C., García-Martínez J., Almendros C. (2009). Short motif sequences determine the targets of the prokaryotic CRISPR defence system. Microbiology 155, 733–740;
4. Mojica F.J., Ferrer C., Juez G., Rodríguez-Valera F. (1995). Long stretches of short tandem repeats are present in the largest replicons of the ArchaeaHaloferaxmediterranei and Haloferaxvolcanii and could be involved in replicon partitioning. Mol. Microbiol. 17, 85–93;
5. Журнал Биохимия Том 81,Номер7 стр870,2016г
6. <https://postnauka.ru/faq/59807>
7. <http://medach.pro/life-sciences/genetika/crispr/>

**ДНК-ДИАГНОСТИКА**

*Васильев Н.А., Тертичный А. А.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Фабарисова Л.Г.*

*Кафедра биологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

ДНК-диагностика — это совокупность методов и технологий, которые позволяют выявлять повреждения в определенном гене человека, который либо является причиной различных заболеваний, либо может к ним привести.

Различают прямую и косвенную ДНК-диагностику.

Прямая ДНК-диагностика – заключается в обнаружении конкретных повреждений в известном гене. При этом положительная черта метода – практически абсолютная точность. Однако, чтобы провести прямую ДНК-диагностику, необходимо знать ген, его нуклеотидную последовательность и расположение.

Косвенная ДНК-диагностика – применяется, когда мутантный ген еще не установлен, но точно картирован на хромосоме. С помощью сцепленных с данным хромосомным участком маркеров в ряду поколений анализируется наследование хромосомы, несущей патологический ген.

Недостаток: 1-5% ошибок в диагностике; необходимость привлекать для обследования больного его родственников.

Материалом для ДНК-диагностики может служить: кровь, букальный эпителий, слюна, сперма, ворсины хориона, амниотическая жидкость, пятна крови, нанесенные на пористую поверхность,трупный и эксгумированный материал.

Одним из наиболее популярных методов прямой ДНК диагностики является ПЦР (Полимеразная цепная реакция).

Полимеразная цепная реакция - это метод, имитирующий естественную репликацию ДНК и позволяющий обнаружить единственную специфическую молекулу ДНК, в присутствии миллионов других молекул.

В основе метода ПЦР лежит природный процесс - комплементарное достраивание ДНК-матрицы, осуществляемое с помощью фермента ДНК-полимеразы. Технология ПЦР заключается в следующем. Сначала производится денатурация ДНК исследуемого образца путем многократного нагревания и охлаждения. ДНК раскручивается и разделяется на две одноцепочечные молекулы. Затем добавляются праймеры, которые связываются с комплементарным участком и позволяют инициировать синтез. Далее ДНК-полимераза, используя нуклеотиды, достраивает молекулу.

Проведениеанализа с использованием метода ПЦР включает несколько этапов:

1. Выделение ДНК (РНК) из клинического образца.

2. Амплификация (размножение) специфических фрагментов ДНК (ПЦР).

3. Детекция продуктов амплификации (секвенирование).

На данном этапе проводится разделение смеси продуктов амплификации, методом горизонтального электрофореза – явление перемещения частиц (ДНК, белков) в жидкой среде под действием электрического поля в агарозном геле.

*В настоящее время ПЦР используют для генодиагностики:*

* моногенных болезней;
* инфекционных заболеваний;
* онкологических заболеваний (лейкемий, лим­фом, рака молочной железы);
* а также для идентификация личности.

Одним из методов косвенной ДНК-диагностики является анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

ПДРФ был разработан как первый и дешёвый метод для массового применения.

Ферменты эндонуклеазы рестрикции, разрезают ДНК по специфичным последовательностям нуклеотидов — сайтам рестрикции. Две молекулы ДНК будут разрезаны на фрагменты одинаковой длины, если молекулы идентичны. Но если в одной молекуле произошли какие-либо изменения с сайтом рестрикции, то фрагменты будут различными. Например, при серповидно-клеточной анемии в гене β-цепи гемоглобина исчезает сайт рестрикции, который есть в гене здоровых людей. В результате при ПДРФ анализе нормальный ген образует два фрагмента, а мутантный только один.

Этапы ПДРФ-анализа:

1. Сбор биоматериала для выделения ДНК;
2. Выделение ДНК;
3. Амплификация полученной ДНК;
4. Разрезание ДНК на фрагменты;
5. Разделение фрагментов ДНК методом электрофореза
6. Анализ полученных данных.

В клинической диагностике метод ПДРФ широко используется для диагностики генных болезней.

Метод ПДРФ используется для установления родства. Ребенок должен иметь совпадение длинных рестрикционых фрагментов с матерью и отцом.

Также, ПДРФ помог установить точную локализацию гена, так, например, была установлена точная локализация гена фиброза мочевого пузыря. Как только расположение гена установлено, его можно клонировать, определить природу дефекта, вызывающего генетическую болезнь, разработать новые методы лечения.

Каждый метод характеризуется как своими преимуществами, так и своими недостатками:

Преимущества ПЦР:

1. Возможность диагностики мультилокусных заболеваний
2. Возможность беспробандной диагностики

Недостатки ПЦР:

1. Требуется знание гена
2. Не всегда информативна

Преимущества ПДРФ:

1. Не требует знание гена и мутации в нем
2. Информативна для всех семей

Недостатки ПДРФ:

1. Требует абсолютной уверенности в диагнозе
2. Применим только для монолокусных заболеваний.

Литература

1. Клиническая генетика.Бочков Н.П., Пузырев В.П., Смирнихина С.А.  
   2011г.
2. Лабораторные основы диагностики Ф.Н.Гильмиярова, В.М.Радомская, Н.И.Гергель; Самара, 2001г.
3. Методики клинических лабораторных исследований. Том 3 [Меньшиков В.В.](http://bio-x.ru/avtory/menshikov-vv) 2009 г.
4. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний Горбунова В.Н., Баранов В.С.СПб. 1997 г.
5. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение [ГликБ.](http://bio-x.ru/avtory/glik-b) [Пастернак Дж.](http://bio-x.ru/avtory/pasternak-dzh) 2002 г.

**ГЕНЕТИКА НАСЛЕДСТВЕЕНЫХТ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**АДРЕНОГЕНИТАЛЬНЫЙ СИНДРОМ, КАК НАСЛЕДСТВЕННАЯ ПАТОЛОГИЯ**

*Хорьякова А.В*

*Научный руководитель: доцент, к. м. н. Попова Е.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Среди множества форм патологии человека отдельное место занимают наследственные заболевания. К одной из таких патологий относится адреногенитальный синдром (АГС). В странах Европы частота АГС варьируетот 1:10 000 до 1:14 000 живорожденных детей [3].АГС наследуется по аутосомно-рецессивному типу. При этом изменений в кариотипе не отмечается, уровень полового хроматина остается нормальным или слегка повышенным. Угетерозиготных супругов вероятность рождения больного ребенка составляет 25%[9].

АГС или(врожденная дисфункция коры надпочечников) — спектр заболеваний, обусловленных дефектом ферментных систем, участвующих в биосинтезе стероидных гормонов надпочечников[2]. Причем, с дефицитом 21-гидроксилазы связано 95 % всех случаев заболеваний.

Для диагностики АГС предложено проведение неонатального скрининга, позволяющего выявить заболевание на доклинической стадии и своевременно начать лечение[7]. В основе скрининга лежит определение уровня 17α-окси-гидропрогестерона (17-ОН- Пгн), являющийся стероидом, предшественником кортизола, обладающим натрийуретическими свойствами[8]. Гормон вырабатывается в яичниках, надпочечниках, яичках и плаценте. В пренатальной диагностикеучитывают уровень 17-ОН-Пгн в амниотической жидкости, так как надпочечники плода начинают функционировать на 3-м месяце внутриутробного развития. Постнатальная диагностика основана на определении 17-ОН- Пгнв крови, взятой из пятки новорожденного [3].Высокий уровень 17-ОН-Пгн в крови или амниотической жидкости свидетельствует о наличии у больного АГС.

*Нормальное содержание 17-ОН-Пгн в сыворотке*.

|  |  |
| --- | --- |
| 17-OH | прогестерон |
| фолликулиновая фаза | 0,1-0,8 нг/мл |
| лютеиновая фаза | 0,6-2,3 нг/мл |
| постменопауза | 0,13-0,15 нг/мл |
| мужчины | 0,5-2,1 нг/мл |
| дети | 1мес-1год 1,06-40,41 нг/мл |
|  | 1год-14лет 0,07-1,70 нг/мл |
| Третий триместр | 2,0-12,0 нг/мл |

В основе патогенеза АГС лежит снижение содержания кортизола в кровотоке, которое способствует усиленному выделению передней долей гипофиза АКТГ, что ведет к гиперфункции надпочечников, ее гиперплазии и увеличению секреции стероидных предшественников, в частности, предшественников андрогенов [6]. Однако, в данных условиях, большое количество андрогенов не в состоянии по принципу обратной связи уменьшить выделение гипофизом АКТГ. В результате, в коре надпочечников накапливается избыточное количество 17-ОН-Пгн как из-за недостаточного его превращения в кортизол, так и вследствие усиленного его образования[8].

Стабильное повышение уровня андрогенов при АГС отмечено еще внутриутробно, со II триместра гестации. Под их влиянием наружные половые органы девочки – плода изменяются, в результате у ребенка уже при рождении имеется гермафродитное, а иногда и полностью мужское строение наружных половых органов. У мальчика повышенный уровень надпочечниковых андрогенов не имеет принципиального значения, так как собственные яички активно вырабатывают тестостерон. Однако,сохраняющаяся после рождения, гиперандрогения приводит к увеличению размеров половых органов и ускоренному половому созреванию [8].

При полной потере активности 21-гидроксилазы, помимо дефицита кортизола, также формируется недостаточность минералокортикоидов (альдостерона) и развивается так называемая сольтеряющая форма заболевания. Дефицит минералокортикоидов приводит к потере жидкости и солей натрия, что способствует обезвоживанию организма, нарушению сократимости миокарда[5]. На высоте этих симптомов развивается сольтеряющий криз, что может привести к летальному исходу.

В связи с этим особое значение приобретает более ранняя диагностика АГС и проведение комплекса лечебных мероприятий.Несвоевременная диагностика может привести к бесплодию. При своевременно начатом лечении для жизни прогноз благоприятный. Для пациенток, получающих заместительную терапию, также необходимо регулярное обследование и анализ крови.

Больные с АГС получают глюкокортикоидную терапию. Препараты возмещают дефицит кортизола, подавляя чрезмерную секрецию АКТГ, тем самым снижается высокий уровень надпочечниковых андрогенов. При проведении терапии следует учитывать дозы глюкортикоидных препаратов. При правильном проведении используют дозы для Детям старшего возраста глюкокортикоиды назначают из расчета 6–7 мг/м2, новорожденным и грудным детям7–9 мг/м2, что обеспечивает нормальные темпы роста и костного созревания.Дети пубертатного и постпубертатного возраста принимают пролонгированные препараты преднизолона и дексаметазона[4].

Целью настоящего исследования явилось изучение уровня 17-ОН-Пгн у пациентов с АГС различных возрастных групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ: В данной работе приведен анализуровня 17-ОН-Пгн у 34 пациентов с АГС, проходящих обследование в ПНИЛ по изучению механизмов естественного иммунитета ОрГМУ (зав. лабораторией профессор, д.м.н., Смолягин А.И.). Уровень 17-ОН Пгн определялся методом ИФА ( «Алкор-Био», Санкт- Петербург) в венозной крови, взятой натощак в первую фазу менструального цикла. Статистическая обработка проведена с помощью пакетных программ «Statistica-10» с использованием методов параметрической статистики с расчетом средней арифметической и стандартного отклонения, проведения корреляционного и частотного анализов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ: Возраст обследованных варьировал от 1 мес до 30 лет, поэтому все обследованные были разделены на следующие возрастные группы: 1 мес- 1 год, 1-14 лет, старше 15 лет. Средние значения уровней 17-ОН-Пгн во всех возрастных группах не отличались от норм, рекомендованных фирмой- изготовителем наборов. Вместе с тем, среди детей 1 мес- 1 года у 33% выявлялось снижение уровня 17-ОН-Пгн, причем отмечалась положительная связь между уровнем гормона и возрастом обследованных. Снижение уровня 17-ОН-Прг может быть расценено как положительный ответ на начатое лечение. Во второй возрастной группе 1-14 лет, также, как и в старшей возрастной группе 15-30 лет, напротив, отмечалась отрицательная связь между уровнем 17-ОН Пгн и возрастом. Часто выявлялся повышенный уровень 17-Он-Пгн: у 50%- в средней возрастной группе и у 43%- в старшей возрастной группе. Возможно, невыявленные вдетстве или недостаточно откоррегированныенарушения, свозрастом прогрессируют

ВЫВОД: Результаты исследований позволяют не только оценивать терапевтическую эффективность препаратов, но и корректировать схему их применения.

Литература

1.Дедов И. И. Половое развитие детей: норма и патология.// Дедов И. И., СемичеваТ.В., Петеркова В.А.-М., -2002. -C. 119-130.

2.Ипатова О.Е. Сибиле Е.Н. Частота и структура адреногенитального синдрома в Архангельской области.//Экология человека.,-2008.-№5. –С.28-30.

3.Карева М. А., Семичева Т. В., Петеркова В. А. Адреногенитальный синдром: возможности неонатального скрининга.// Вопросы практической педиатрии., - 2006. - Том 1. - № 4. - С. 102-104.

4.Карева М.А.,Адреногенитальный синдром: современные аспекты диагностики и лечения.// Клинический опыт.,-2011.-С.34-37.

5.Матулевич С.А. Первые результаты неонатального скрининга на адреногенитальный синдром в Краснодарском крае.//Кубанский научный медицинский вестник.-2009.-№1.-С.70-72.

6.Петеркова В. А. Адреногенитальный синдром у детей: пособие для врачей.//ПетерковаВ.А.,Семичева Т.В.,Тюльпаков А. Н.,Карева М.А.-М., -2006.- C. 3-17.

7.Петеркова В. А. Врожденная дисфункция коры надпочечников у детей (этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение): пособие для врачей.// Петеркова В.А., Семичева Т.В., Кузнецова Э.С.и др.- М., -200З. - C. 29-З4.

8.Программа по организации диагностики и лечения адреногенитального синдрома при массовом обследовании новорожденных (неонатальный скрининг) и оценке психологического развития ребенка: методические рекомендации. -М., -2006. - C. 4—1З.

9.Семичева Т.В. Неонатальный скрининг адреногенитального синдрома: начало пути.// Вестник репродуктивного здоровья.-2007.-№1.-С.3-4.

10.ЦиликоваА.А. Анализ заболеваемости болезнями эндокринной системы в Российской Федерации в 2013-2014г.г.// Инновационная наука.-2016.-№8-3.-С.133-135.

**МОНОГЕННЫЕ МИОПАТИИ**

*Деннер В. А.*

*Научный руководитель: к.м.н., Попова Е.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Наследственные миопатии — обобщённое название наследственных заболеваний мышечной системы, обусловленных нарушением сократительной способности мышечных волокон и проявляющихся мышечной слабостью, уменьшением объёма активных движений, снижением тонуса и атрофией.

**Актуальность:**успехи современной медицины, интенсивное развитие молекулярной генетики и биологии, заставляют общество обратить все большее внимание на наследственные заболевания. По данным ВОЗ около 10-15% новорожденных имеют врожденные и наследственные болезни. Примерно в половине случаев ранняя детская смертность и инвалидность обусловлены различными генетическими причинами. Наследственные миопатии составляют наибольшую группу среди генетически детерминированных нервно-мышечных заболеваний, а их основными клиническими проявлениями являются слабость и атрофии различных групп мышц.

**Цель работы:** рассмотрение наиболее распространённых наследственных миопатий.

Примером болезней, протекающих с симптомами наследственных миопатий являются:

1.Детская псевдогипертрофическая мышечная дистрофия Дюшенна;

2.Поздняя дистрофия Беккера;

3.Плечелопаточная дистрофия Ландузи-Дежерина;

4.Лопаточно – перонеальная форма Давиденкова;

5. Ювенильная дистрофия Эрба;

6.Офтальмоплегическая форма миопатии;

7.Дистальная миопатия Веландера

А также ряд врожденных и непрогрессирующих форм.

**Детская миодистрофия Дюшена.**

Данная патология - одно из самых частых нервно-мышечных заболеваний, обусловленная мутациями в [гене дистрофина](http://medbiol.ru/medbiol/contisdis/00019506.htm). [Дистрофин](http://medbiol.ru/medbiol/01122001/medgen/x004588f.htm) в больших количествах находится в области сарколеммы, поддерживая целостность мембраны  мышечных клеток. Структурные изменения в сарколемме приводят к дегенерации цитоплазматических компонентов, усиленному входу ионов калия внутрь волокон, что вызывает гибель миофибрилл. Кроме того, миопатия приобретает признаки мышечной гипертрофии, приводящей в последствии к атрофии. [1, с.75]

Болезнь начинается рано, мышечная слабость возникает вначале в районе мышц таза, затем плеч, в возрасте ребенка до 3 лет. ***Классический признак*** – псевдогипертрофия икроножных мышц и «взбирание по себе руками», чтобы выпрямиться. При этой наследственной миопатии прогноз неблагоприятный: развивается полная обездвиженность, и в возрасте не старше 20 лет возникает смертельный исход. У больных детей часто возникает умственная отсталость, и недоразвитие интеллекта. [3, с. 97]

Высокая частота встречаемости этого заболевания связана с тем, что белок «дистрофин», который находится на коротком плече «женской» Х-хромосомы, имеет очень высокую способность к возникновению спонтанных мутаций.

**Поздняя дистрофия Беккера.**

По клинике это заболевание протекает так же, как и болезнь Дюшенна. Но при этом оно начинается после 10-летнего возраста, возникает в 8 раз реже, чем предыдущее заболевание.

Прогноз при миодистрофии Беккера намного более благоприятный, вследствие очень медленного прогрессирования болезни и длительного сохранения функции движения у пациентов. Иными словами, пациенты способны передвигаться самостоятельно до 30-35 лет. Нарушений интеллекта у них не бывает.

Заболевание также кодируется в виде рецессивного типа, сцепленного с полом и для диагностики миодистрофей Беккера и Дюшенна можно применять одни и те же пробы ДНК.

**Миопатия Ландузи – Дежерина.**

Это заболевание связано с тем, что фермент КФК (креатинфосфокиназа) не может превращать креатин в креатинфосфат, связывая его с АТФ. В результате мышца не получает высокоэнергетического соединения, которое может использоваться при повышенной мышечной работе. В результате накапливается КФК в мышцах, происходит их атрофия, а в поздних случаях – денервация. [2,с.39]

Наследуется по аутосомно-доминантному типу с высокой пенетрантностью и встречается с частотой 0,9–2 на 100 000 населения. В классическом варианте первые признаки заболевания появляются в основном в возрасте 10–20 лет. Атрофии и мышечная слабость локализуются в области мимической мускулатуры, лопаток и плеч. Сначала атрофии наблюдаются в плечевом поясе, с последующим распространением на лицо. Обычно начальными проявлениями становятся затруднение подъема рук над головой, выступающие «крыловидные» лопатки и сколиоз. При прогрессировании процесса грубо страдают круговые мышцы рта и глаз — не удается крепко зажмурить глаза и сжать губы. Вследствие атрофии лицо становится гипомимичным. Как правило, больные сами отмечают изменение своей мимики, их речь становится неразборчивой. Следует отметить и характерные симптомы в виде поперечной улыбки («улыбка Джоконды»), вывороченных губ («губы тапира»), «полированного» лба. Атрофии двуглавой и трехглавой мышц плеча, большой грудной, передней зубчатой, трапециевидной мышц могут обусловливать возникновение симптомов свободных надплечий, «крыловидных» лопаток, появление широкого межлопаточного промежутка, уплощения грудной клетки и сколиоза. В ряде случаев атрофии распространяются на мышцы ног. [4, с. 60]

**Лечение при миопатии Ландузи – Дежерина симптоматическое.** Прогноз – для жизни благоприятный, для качества жизни – возможна инвалидизация, начиная с возраста в 30-40 лет. При всех наследственных миопатиях специфического лечения не разработано. Применение гормонов приводит к замедлению прогрессирования поражения мышц, при выраженной дистрофии мышц показано хирургическое лечение (например, операция артродеза) при привычном вывихе болтающегося сустава. [3, с.99]

**Прогноз и профилактика миопатий.** Прогноз данного заболевания зависит от скорости развития и степени дистрофии в тканях скелетной мускулатуры. Важную роль играет и возраст, в котором болезнь начала проявлять себя.

Наиболее тяжелый случай — миопатия Дюшенна, первые симптомы которой имеют место уже в раннем возрасте. Эта разновидность заболевания очень рано приводит к полному обездвиживанию и становится причиной летального исхода ввиду нарастания сердечной и лёгочной недостаточности, а также появления гиповентиляционной и гипостатической пневмонии. Застой крови в тканях может проводить к инфицированию и последующему воспалению легких.

Поздние формы миопатии, симптомы которых проявляются после 20-30 лет, имеют более щадящий, доброкачественный характер. Пациент может вести относительно нормальный образ жизни и даже обеспечивать себя самостоятельно, получив профессию, соответствующую уровню его возможности двигаться. Как правило, это умственный и ручной труд, выбираемый в зависимости от уровня поражения мышц и не требующий высокого ритма.

Профилактические меры, направленные на избежание наследственных миопатий, заключаются в грамотном планировании семьи парами, у которых имеются родственники с данным диагнозом. Для этого следует прибегнуть к медико-генетическому консультированию с профессиональной оценкой вероятности рождения ребенка, больного миопатией.

**Заключение:** Все наследственные миопатии относятся к генетическим редким заболеваниям, и при помощи пренатального скрининга можно установить точно, присутствует ли у плода та или иная форма миопатии. В том случае, если известно точно «генеалогическое дерево» и история заболевания, то возможно заранее предсказать вероятность появления дефектного гена и снизить риск рождения ребёнка с данным видом патологии.

Литература

1. Бутев Е.В., Шаймурзин М.Р., Евтушенко О.С., Евтушенко И.С., Сажнева И.А.. Международный неврологический журнал // Случаи мышечных дистрофии у детей и подростков (Эмери-Дрейфуса, Бетлема и Роттауфа-Мортье-Бейера), дебютировавшие ретракциями ахилловых сухожилий и контрактурами суставов. – 2005. - №4 – С.70-76

2. Грознова О.С., Тренева М.С. Генетические аспекты возникновения жизнеугрожаемых состояний у больных с миопатией // Российский вестник перинатологии и педиатрии . – 2011. - №5 – С.38-41.

3. Доценко С. Н.. Миопатии (клиника и лечение). – М: Гос. изд-во мед. литературы, Л., 1963 г. – C. 94-102

4. Иллариошкин, С. Н. Молекулярные основы прогрессирующих мышечных дистрофий Текст. / С. Н. Иллариошкин, И. А. Иванова-Смоленская // Журн. неврологии и психиатрии. 1998. - № 10. - С. 55 - 61.

**КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ: АДРЕНОГЕНИТАЛЬНЫЙ**

**СИНДРОМ У ДЕТЕЙ**

*Воронцова А. А., Акопян М. Р.*

*Научный руководитель: д.м.н., профессор Зыкова Л. С*

*Кафедра факультетской педиатрии и эндокринологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Адреногенитальный синдром (АГС), или врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН), является одним из распространенных наследственных моногенных заболеваний, вариант хронической первичной надпочечниковой недостаточности и группу патологии полового развития, нарушений половой дифференцировки. Проблема АГС в неклассической форме занимает существенное место среди причин нарушения репродуктивного здоровья, таких как бесплодие, невынашивание беременности. С проблемой АГС встречаются врачи разных специальностей: неонатологи, педиатры, эндокринологи, гинекологи, генетики. Понимание основных принципов диагностики и лечения этого заболевания врачами разных специальностей является необходимым во избежание серьёзных ошибок на разных этапах оказания медицинской помощи. [1]

Пациентка Екатерина Л., 3г. 11мес., поступила в клинику по поводу нарушения строения наружных половых органов (пенисообразный клитор), появление волос в области лобка и нижних конечностей. Из анамнеза жизни известно, что данная беременность протекала с осложнениями: нефропатия беременной, анемия, угроза прерывания беременности в 3 триместре. В родильном зале у девочки обнаружены большие половые губы и пенисообразный клитор, в связи с чем на 5 сутки ребенка перевели в ОПН. При неонатальном скрининге уровень 17-OH-Pg составил 345нмоль/л, что почти в 70 раз превышает норму (до 5 нмоль/л), именно поэтому в возрасте 1 месяца было проведено эндокринологическое и генетическое обследования, по результатам которых установлена вирильная форма врождённого АГС. Назначены препараты кортеф и кортинефф. На фоне лечения получена положительная динамика. С возраста 2-х лет мама самостоятельно прекратила лечение ребёнка этими препаратами, что к 3-м годам вновь привело к увеличению клитора, появилось оволосение лобка и нижних конечностей. При осмотре выявлены признаки нарушения физического развития: ФР соответствует показателям 6-ти летнего ребёнка (рост 114 см, вес 22 кг, морфотип макросомия). Телосложение маскулинное, задержка речевого развития. У девочки имеются малые половые губы, прикрытые большими, влагалище и пенисообразный клитор величиной 3 см.

При рентгенографии костный возраст соответствует 7-9 годам. Данные лабораторных исследований: повышены уровни: ренина (259,7 МкМЕ/мл, норма 4,4-46,1 МкМЕ/мл), кортизола (1526,0 нмоль/л, норма 150-660 нмоль/л), 17-OH-Pg (116,4 нмоль/л, норма 0,07-1,70 нмоль/л), тестостерона (9,8 нмоль/л, в норме до 4,4 нмоль/л). На основании этих данных установлено, что у ребенка АГС в стадии декомпенсации.

Особенностью данного клинического случая является то, что основным принципом лечения АГС является пожизненная заместительная терапия. Несоблюдение этого правила ведет к ухудшению состояния пациентов. Данная пациентка направлена на радикальную операцию: пластику наружных половых органов. Адекватное и вовремя начатое лечение, соблюдение всех правил приема препаратов позволяет компенсировать дисфункцию надпочечников и провести коррекцию отклонений полового развития, обеспечивая пациенту высокое качество жизни, фертильность и делает его полноценным членом общества. [1]

Литература

1. Дедова И.Г. Эндокринология: Гациональное руководство./ И. Н. Дедова, Г. А. Мельниченко. - М.: ГЭОТАР-Медия, 2013 -752с.

**Болезнь Вильсона-Коновалова**

*Воронцова А. А.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н. Рябченко А.Ю.,*

*доцент, к.м.н. Белянин В.В.*

*Кафедра неврологии и медицинской генетики,*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Болезнь Вильсона-Коновалова (ГЦД, гепатолентикулярная дегенерация, болезнь Вильсона – термин больше распространен в англоязычной литературе; по МКБ-10 – Е 83) – заболевание, связанное с наследственным избыточным накоплением меди вследствие задержки ее выведения из организма и отложением в головном мозге и печени. Впервые заболевание описано английским врачом S.Wilson (1912 г.) и советским невропатологом Н. В. Коноваловым в 1948 г. [1, c.122]. Представления о патофизиологии, патогенезе и клинике этой болезни были значительно расширены отечественным неврологом академиком АМН СССР Н.В. Коноваловым, который предложил название гепатоцеребральная дистрофия», выделил 4 формы поражения нервной системы и одну абдоминальную. В 1974 г. Frommer привел доказательства нарушения процесса билиарной экскреции меди при болезни Вильсона-Коновалова. В 1985 г. Frydman и соавт. был открыт мутантный ген, детерминирующий развитие этого заболевания [3, c.38]. Распространенность ГЦД составляет 1 на 30 000, чаще встречается в изолированных популяциях с близкородственными браками (у евреев, живущий в Восточной Европе, у итальянцев, проживающих на Сицилии, и у японцев – жителей маленьких островов). Тип наследования – аутосомно-рецессивный. Ген *ATP7B*, ответственный за развитие болезни, расположен на длинном плече хромосомы 13 (13q14.3-q21.1). Описано около 380 различных мутаций этого гена. По данным P. Ferenci, при гепатолентикулярной дегенерации наиболее частой мутацией в Европе является H1069Q, в Испании – M645R, в странах Восточной Азии – R778L [2, c.34]. Именно множеством генных мутаций объясняются различия степени нарушений транспорта меди, клинической картины и биохимических данных в семьях больных. Больные дети рождаются у пары родителей, оба из которых клинически здоровы, но являются носителями патологического гена. Как правило, родители не имеют случаев аналогичного заболевания в родословной. Заболевают только те индивидуумы, которые унаследовали два мутантных гена, т.е. по одному от матери и от отца – гомозиготные носители мутации. Лица, которые от одного из родителей получили мутантный ген, а от другого – нормальный ген, являются гетерозиготными носителями мутации. Заболевание у них не развивается, хотя при биохимическом исследовании могут быть обнаружены субклинические изменения в метаболизме меди [3, c.38].

Патогенез болезни изучен недостаточно. Он связан с нарушением синтеза медь-транспортной АТФазы, синтеза белков (в том числе церулоплазмина), осуществляющих транспорт меди [2, c.34]. Известно, что организм человека содержит около 50-100 мг меди. Суточная потребность в меди для человека составляет 1-2 мг; 95% абсорбированной в кишечнике меди транспортируется в форме комплекса с церулоплазмином (один из глобулинов сыворотки, синтезируемых печенью) и только 5 % – в форме комплекса с альбумином. Кроме того, ион меди входит в состав важнейших метаболических ферментов (лизилоксидаза, супероксиддисмутаза, цитохром­С­оксидаза и др.) [4, с.201]. Экскреция меди из печени в желчь при данном заболевании снижена на 20-30% от нормальной, соответственно снижена и экскреция меди с калом. В результате нарушается выведение фракций меди с желчью из печени, снижается скорость ее включения в церулоплазмин. По другой гипотезе первичным звеном болезни считается нарушение метаболизма меди в печени, а снижение уровня церулоплазмина является его последствием. Вне зависимости от того, какое звено является первичным, свободная медь накапливается в печени и сыворотке крови, что приводит сначала к функциональным, а затем к структурным изменениям в головном мозге, радужке, печени, почках и селезенке. Медь, являясь прооксидантом, катализирует образование свободных гидроксильных радикалов и запускает процессы перекисного окисления липидов. Избыточное ее накопление вызывает нарушение функции плазматической мембраны, мембран митохондрий, выхода лизосомальных энзимов в клетку, нарушение функцио­нирования ДНК и белков, снижение содержания антиоксидантов (глутатиона и токоферола) в тканях. В результате перекисного окисления липидов образуется малоновый альдегид, который стимулирует синтез коллагена, что способствует фиброгенезу. Свободная медь, накапливающаяся в тканях, блокирует SH-группы глутатиона и многих ферментов, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях, что приводит к энергетическому голоданию. В печени потенциальными мишенями действия оксидантов являются митохондрии. Нарушение дыхательной цепи митохондрий и снижение активности цитохром-С-оксидазы еще больше увеличивает продукцию свободных радикалов. Вследствие недостаточного использования меди она последовательно депонируется в органах и системах. Прежде всего в печени, а затем в центральной нервной системе, в роговице, органах кроветворения, почках, коже, сердце, костно-суставной и эндокринной системах. Механизмами, защищающими гепатоцит от избытка меди, являются ее детоксикация при связывании с глутатионом и металлотионеином, билиарная экскреция с участием лизосом и других медьтранспортирующих систем. Отложения меди в головном мозге (преимущественно в базальных ядрах) вызывают развитие грубой неврологической симптоматики, а в радужке – формирование кольца Кайзера-Флейшера (накопление буро-зеленого пигмента) [2, c.34; 5].

В течении заболевания можно выделить три стадии. В первую стадию накапливается в цитозоле печеночных клеток (экстрализосомально); связанная SH-группами протеинов цитозоля она затрудняет секрецию гепатоцитами белков и триглицеридов. Клинические признаки заболевания отсутствуют. Во вторую стадию перераспределяется из цитозоля в лизосомы гепатоцитов, часть ее поступает в кровь; экскреция меди желчью снижается. Повышение концентрации меди в лизосомах приводит к усилению перекисного окисления липидов и повреждению лизосомальных мембран с последующим выходом кислых гидролаз в цитоплазму гепатоцитов. Наблюдаются некроз гепатоцитов, развитие хронического гепатита и гемолитической анемии. В третью стадию медь усиленно накапливается в печени, что приводит к фиброзу и циррозу печени, а также в других органах – головном мозге, роговице, дистальных отделах почечных канальцев, что тоже способствует развитию развернутой картины заболевания с характерными клиническими признаками [5].

По своим клиническим проявлениям гепатолентикулярная дегенерация может напоминать многие неврологические заболевания, поэтому часто диагностируется со значительным опозданием. В то же время чрезвычайно важна ранняя диагностика, так как заболевание является курабельным. Ни один из стандартных тестов не является абсолютным диагностическим критерием, и диагноз ставится по совокупности клинических симптомов и данных лабораторных исследований. При подтверждении диагноза необходимо обследовать других членов семьи даже в том случае, если у них нет клинических признаков. Так как при болезни Вильсона-Коновалова имеется, с одной стороны, недостаточное поступление меди в ферментные системы и вследствие этого нарушение биологических процессов, с другой – накопление меди в тканях с последующей интоксикацией этим металлом, поэтому целью терапии является нормализация концентрации меди и предотвращение образования ее депозитов в тканях организма, терапия является пожизненной. Неадекватное лечение или перерывы в лечении могут приводить к жизнеугрожающим осложнениям или необратимому поражению органов. Важную роль играет диетотерапия с исключением продуктов с высоким содержанием меди (какао, шоколад, печень, грибы, орехи, бобовые, моллюски). Желательно, чтобы суточный пищевой рацион содержал не более 1 мг меди. Однако высказываются сомнения в эффективности применения данной диеты. Основное лечение заключается в постоянном приеме препаратов, выводящих медь из организма. Основным лекарственным средством является пеницилламин [2, с.35].

При отсутствии лечения заболевание носит неуклонно прогрессирующий характер, и пациенты умирают через 1-3 года после появления неврологических симптомов. Летальность обусловлена печеночной недостаточностью. Точный прогноз течения болезни в остальных случаях сложен, что, вероятно, объясняется ее генетической гетерогенностью (большим числом возможных мутаций) и, следовательно, разнообразием клинических вариантов течения, а также разной чувствительностью к терапии [2, с.36].

Литература

1. Пономарев В. В. Нейродегенеративные заболевания. // Руководство для врачей. – СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2013. – 200 с.:ил. – С.122-130.
2. Белоусова Е. Д. Гепатолентикулярная дегенерация (болезнь Вильсона-Коновалова) // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2009. — № 54(3). — С. 34­-37.
3. Еремина Е. Ю. Болезнь Вильсона-Коновалова. // Вестник современной клинической медицины. – 2011. – Том 4, №1. – С. 38-46
4. Сенаторова А. С., Омельченко Е. В., Урываева М. К., Ермолаев М. Н, Чуб Е. И., Пушкарь Е. М. Болезнь Вильсона-Коновалова. // Журнал «Здоровье ребенка». – 2012. - №6. – С. 201-205
5. Голубова О. А. Болезнь Вестфаля-Коновалоа-Вильсона [Электронный ресурс] // Новости медицины и фармации. Гастроэнтерология. – 2009. - №304 – Режим доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/11092>, свободный

**РОЛЬ ГЕНА FTO В РАЗВИТИИ ПЕРВИЧНОГО ОЖИРЕНИЯ**

*Гречухина Е. И., Гречухина М. И.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н., Лебедева Е. Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Актуальность. Ожирение является серьезной международной проблемой здравоохранения. Распространенность ожирения растет во всем мире. По данным ВОЗ за последние 30 лет более чем вдвое увеличилось количество людей, страдающих ожирением; на 2016 год избыточный веснаблюдается у 39% взрослого населения, а 13% страдают ожирением [2]. Кроме того, по мере увеличения ИМТ повышается риск развития ряда других заболеваний. Ожирение является мультифакториальным заболеванием, в развитии которого играют роль как факторы окружающей среды, так и генетические факторы. Последние в настоящее время представляют особый интерес для науки.Исследования в области выявления вариантов генов, предрасполагающих к ожирению позволили обнаружить связь ИМТ с геном, локализованном на хромосоме 16q12.2 [3, стр. 724-726]. Ген получил название FTO (fat mass and obesity associated) – ген, ассоциированный с избыточной массой тела и ожирением, и на настоящий момент является наиболее изученным, среди генетических факторов, определяющих предрасположенность к избыточному весу.

Целью данной работы являются обобщение и систематизация данных о роли гена FTO, как генетического фактора риска развития избыточной массы тела и ожирения, и об ассоциации полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO с избыточным отложением жира.

В ходе анализа литературы, было установлено, что существует полиморфизм T/A гена FTO, где аллель А(rs9939609) ассоциирован с риском развития ожирения. Выяснилось, что лица, гомозиготные по аллелю А (16% населения), подвергаются значительно большему риску развития избыточной массы тела и ожирения, по сравнению с гомозиготными по аллелю Т (37% населения) [4, стр. 889-894]. Наличие хотя бы одного аллеля Т значительно снижает риск повышенного накопления жировой массы. В отдельных исследованиях была продемонстрирована ассоциация полиморфизмаТ/А гена FTO с ожирением в российской популяции. Носители генотипа АА гена FTO подвержены риску увеличения жировой массы в 2,4 раза выше, чем гетеро-(ТА) и гомозиготы(ТТ) [1, стр. 823-826]. В этой же научной работе авторы сообщают, что в среднем жители России с генотипом АА весят на 3 кг больше, чем жители с генотипом ТТ.

Ассоциация между наличием неблагоприятной аллели этого гена и повышенным ИМТ у мужчин и женщин была одинакова в группах исследуемых [3, стр. 724-726]. То есть, зависимость риска развития ожирения от пола под влиянием экспрессии гена FTO не подтверждена.

В ходе выяснения влияния гена FTO на ИМТ детей различных возрастных групп и популяций не было выявлено корреляции этого генетического фактора с антропометрическими данными плода и новорожденного. Но наблюдалась прямая связь между наличием аллели rs9939609 и наличием избыточной массы тела во всех возрастных группах, начиная с семи лет [4, стр. 889-894].

Вывод. В результате анализа изученной литературы следует отметить, что одним из факторов генетической предрасположенности к ожирению является полиморфизм в локусе гена FTO. Однако необходимо дальнейшее изучение этого вопроса с целью разработки мер, влияющих на экспрессию данного гена и позволяющих тем самым снижать риск развития ожирения у населения.

Литература

1. Насибулина Э.С. Ассоциация полиморфизма гена fto с избыточной массой тела в российской популяции / Э.С. Насибулина, Р.Р. Шагимарданова, А.В. Борисова, И.И. Ахметов // Казанский медицинский журнал. – 2012 г. – том 93, №5. – С. 823-826.
2. Центр СМИ ВОЗ. Ожирение и избыточный вес. Информационный бюллетень. Июнь 2016 г. —

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/ru/index.html>(дата обращения: 28.01.17).

1. Dina C., Meyre D., Gallina S. et al. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity //Nat. Genet. — 2007. — Vol. 39. — P. 724–726.
2. Frayling T.M., Timpson N.J., Weedon M.N. et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity // Science. — 2007. — Vol. 316. — P. 889–894.

**Молекулярные механизмы развития моногенных и полигенных форм артериальной гипертонии**

*Иванова Ю. Ю.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева Е.Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Выяснение этиологии и патогенеза артериальной гипертонии (АГ) остается одной из важнейших проблем современной медицины. В последнее время ученые склоняются к мысли, что в основе артериальной гипертонии лежит наследственный полигенный генетический дефект, так как повышенное артериальное давление наблюдается значительно чаще у людей, родители которых страдали данным заболеванием.

На основании результатов полногеномного сканирования к настоящему времени выявлено более 30 локусов на разных хромосомах, имеющих отношение к регуляции артериального давления. Установлено, что с систолическим и диастолическим артериальным давлением наиболее тесно сцеплены локусы на 1, 2, 5, 6, 15, 17, 18 и 22 хромосомах. Также выделены гены, ответственные за развитие так называемых моногенных форм АГ.

Моногенные болезни (МБ) - заболевания, в основе этиологии которых лежит единичная генная мутация. МБ наследуются в соответствии с законами Менделя. К основным моногенным формам АГ относят: синдром Лиддля, глюкокортикоид-подавляемый гиперальдостеронизм, псевдогиперальдостеронизм 2 типа, мутацию, активирующая минералокортикоидный рецептор.

Синдром Лиддля (патология амилорид-чувствительных эпителиальных натриевых каналов) наследуется аутосомно-доминантным путём. Впервые описан в 1963 г. в семье с гипертонией и аномалией реабсорбции натрия на уровне дистальных почечных канальцев, что симулировало альдостеронизм при отсутствии существенного усиления его секреции. Это указывало на наличие первичной аномалии в почечных канальцах. Мутация локализуется на коротком плече 16 хромосомы, нарушения происходят в  β и γ субъединицах амилорид-чувствительного натриевого канала. В основе патогенеза увеличение реабсорбции натрия, задержка воды и низкий уровень ренина плазмы. Частота описанных форм эндокринной гипертонии остается практически неизвестной, скорее всего она недооценивается из-за трудностей при установлении диагноза, малой доступности генетических тестов. [3, с. 7]

Глюкокортикоид-подавляемый гиперальдостеронизм - аутосомно- доминантное заболевание. Развитие синдрома обусловлено дупликацией генов вследствие неравноценного кроссинговера между генами, кодирующими альдостерон синтазу и 11β-гидроксидазу. Это вызывает секрецию больших количеств не поддающегося контролю АКТГ альдостерона, что приводит к реабсорбции соли и воды и повышению АД.

Псевдогиперальдостеронизм 2 типа - аутосомно-доминантное заболевание, характеризующееся высоким АД, гиперкалиемией и чувствительностью к тиазидным диуретикам. Это происходит вследствие нарушения функционирования ионных каналов Na+-Cl− и K+. Вызывают заболевание мутации в двух фракциях фермента WNK киназы: WNK 1 и WNK 4. Оба гена имеют высокую экспрессию в почке. К настоящему времени установлено, что главный локус, приводящий к развитию заболевания, локализуется на 12 хромосоме. [3, с. 6]

При мутации, активирующей минералокортикоидный рецептор, происходит замена лейцина на серин в кодоне минералокортикоидного рецептора. Возникает рано начинающуюся гипертония, которая становится значительно более выраженной во время беременности у женщин. При наличии мутации все стероидные гормоны, включая прогестерон, при связывании с диким типом минералокортикоидного рецептора вызывают его активацию.

Помимо моногенных форм АГ ученые выделяют полигенные, которые встречаются гораздо чаще. Полигенная форма артериальной гипертонии детерминирована множеством генов, взаимодействующих с разнообразными и многочисленными факторами внешней среды. Все гены по участию в определенных метаболических и физиологических путях формирования патологического фенотипа при артериальной гипертензии можно объединить, по крайней мере, в пять групп:

* гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (гены AGT, AGTR1, AGTR2, ACE, REN, CYP11B, KLK1),
* системы сигнальных пептидов (GNB3, GNAS1, RGS2),
* норадренергической системы (DRD1, DRD2, ADRA2B, ADRB1, ADRB2, PNMT),
* ионных каналов (SCNN1A, SCNN1G, SCNN1B)
* иммунной системы (IL6, NOS3, TGFB1, CCR2, CCR5).

Есть свидетельства, что вклад определенных генетических полиморфизмов меняется в зависимости от этнической принадлежности. Наиболее постоянные результаты о влиянии однонуклеотидного полиморфизма на регуляцию артериального давления получены для гена ангиотензиногена (*AGT*). Анализ показал связь между заменой метионина на треонин в 255 позиции (M−235T) и повышенным риском развития артериальной гипертензии. Связь с повышением АД отмечается преимущественно у белой расы, и в меньшей степени у негроидной и монголоидной. [2, с. 9]

Таким образом, на сегодняшний день можно с большей вероятностью определить предрасположенность человека к моногенной или полигенной форме артериальной гипертонии, сделав молекулярное тестирование генов.

Литература

1. Баранов В.С. Геном человека и молекулярная медицина // Бреслеровские чтения. Молекулярная генетика, биофизика и медицина сегодня. - СПб., 2002. – С. 95 – 105.

2. Бочков Н.П. Вклад генетики в медицину // Российские медицинские вести. – 2001. – Т. 6. - № 4. – С. 4 – 13.

3. Стрекалов Д.Л. Молекулярные основы патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний // Учебное пособие. – СПбГПМА. - 2004. - С. 4-7.

**Методы диагностики моногенной патологии**

*Муллагалеева А. Р., Хорунжая А. А.*

*Руководитель: доцент, к.м.н. Попова Е.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Моногенные болезни — разнородная по клиническим проявлениям группа заболеваний, обусловленных мутациями на уровне гена. [3, с. 118]

В основу классификации моногенных болезней положено несколько принципов, но с клинической и биохимической точки зрения наиболее важным является принцип классификации - по преимущественному поражению того или иного вида обмена. Благодаря этому многие МБ называются наследственными болезнями обмена веществ (НБО). Среди них выделено более 700 форм, в том числе 200 с установленным биохимическим дефектом.

Среди НБО выделяют:

1.болезни аминокислотного обмена (ФКУ, тирозиноз, алкаптонурия, лейциноз и др.);

2. болезни углеводного обмена (галактоземия, гликогенозы, мукополисахаридозы);

3.болезни липидного обмена (эссенциальные семейные липидозы, ганглиозидозы, сфинголипидозы, цереброзидозы, лейкодистрофии, гиперлипидемии и др.);

4.болезни биосинтеза кортикостероидов (адрено-генитальный синдром, гипоальдостеронизм и др.);

5. болезни пуринового и пиримидинового обмена (оротоваяацидурия, подагра и др.);

6. болезни порфиринового и билирубинового обмена (синдромы Жильбера, Криглера-Найяра, порфирии и др.);

7. болезни эритрона (анемия Фанкони, гемолитические анемии, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и др.);

8. болезни металлов (болезни Вильсона-Коновалова, Менкеса, семейный пери-одический паралич и др.);

9. болезни транспорта систем почек (болезнь де Тони-Дебре-Фанкони, витамин D-резистентный рахит, тубулопатии и др.);

10. болезни лимфоцитов и лейкоцитов (недостаточность аденозиндезаминазы, септический гранулематоз и др.). [1, с.209]

До недавнего времени диагностика моногенных наследственных болезней основывалась исключительно на особенностях фенотипического проявления заболевания. Только при некоторых наследственных болезнях обмена веществ диагностику проводили, определяя уровень измененных метаболитов или даже измененного фермента. Фенотипический уровень диагностики иногда был достаточным для решения некоторых проблем клинической генетики.[2, с.132]

В настоящее время существует широкий спектр методов для диагностики моногенных патологий.

Могут использоваться следующие методы:

1) Портретная диагностика – для диагностики моногенных синдромов, проявляющихся пороками развития.

2) Биохимические методы – для диагностики наследственных нарушений обмена веществ.

3) ДНК- диагностика для ферментопатий и др.

4). Цитогенетические методы – для диагностики синдрома фрагильной Х-хромосомы. [3, с.121]

Разнообразные биохимические методы используют для диагностики моногенных болезней с выявленным биохимическим дефектом из группы наследственных болезней обмена. Биохимическая диагностика имеет тем большую ценность, чем меньше клинических проявлений в ранних стадиях болезни.чем надежнее диагностические возможности гетерозиготного носительства, чем меньше стоимость этих исследований по сравнению с молекулярно-генетическими, иммуногенетическими и др.

Биохимические методы являются уникальными при массовом скрининге для ранней диагностики наследственных болезней у новорожденных. [2, с.135]

Критериями для включения патологии в программу массового биохимического скрининга новорожденных являются следующие:

• высокая частота встречаемости в популяции (не менее 1:20 000);

• тяжесть поражения с необратимыми последствиями в виде инвалидизации или ранней смерти;

• возможность простой, надежной (чувствительной, специфичной, без ложноотрицательных результатов) и экономически оправданной диагностики в доклинической стадии заболевания;

• возможность патогенетической или иной эффективной коррекции выявленного нарушения. [3, с.122]

Для целей массового скрининга чаще всего используют капиллярную кровь, которую берут из пятки новорожденного на 3-4-й день жизни и пропитывают ею с двух сторон отпечатанные на фильтровальной бумаге (специальные тест-полоски) кружочки в количестве, соответствующем числу диагностируемой патологии. Образец с высушенной кровью отправляется по почте в специализированные генетические диагностические центры, где обеспечивается экспрессдиагностика. При выписке из роддома мать получает на руки документ, в котором, наряду с данными о течении родов и параметрах новорожденного, указывается информация о том, на какие НБО у ребенка взяли анализы и дата забора биологического материала (крови). Семью извещают о результатах обследования только при выявлении патологии для проведения второго этапа - уточняющей диагностики и скорейшего назначения лечения. О результатах без патологий не сообщается. В условиях массового скрининга ребенок может быть не обследован в случае планированных домашних родов, при тяжелой перинатальной патологии, требующей интенсивной терапии или хирургического вмешательства.

К **генетическим биохимическим** методам диагностики относят:

* качественные,
* полуколичественные,
* количественные.[3, с.123]

Кроме крови, ее плазмы, сыворотки и форменных элементов, для биохимических исследований могут использоваться моча, пот, культуры клеток (фибробластов, лимфоцитов).

Качественные тесты дешевы, просты, чувствительны, позволяют выявить избыточные концентрации субстратов или их производных при ферментных блоках реакций, в которых они участвуют. Для качественных тестов обычно используют мочу. Качественные реакции делятся на универсальные, определяющие группу заболеваний с ведущим биохимическим дефектом (например, ЦПХ-тест при мукополисахаридозах, проба Бенедикта на редуцирующие вещества и др.), и специфические (тест на гомогентизиновую кислоту при алкаптонурии, тест на медь при болезни Вильсона-Коновалова и др.). [2, с.156]

Полуколичественные и количественные методы биохимической диагностики проводятся и с мочой, и с кровью. С их помощью можно разделить метаболиты, принадлежащие к одному классу химических веществ, и определить концентрации определенного вещества. К этим методам относятся бумажная, тонкослойная (одно- и двумерная) и другие виды хроматографии, электрофорез, хроматомассспектрометрия, спектрофотометрия, флуориметрия, высокоэффективная жидкостная хроматография, тандемная масс-спектрометрия (позволяет количественно определить до 3000 метаболических маркеров). Эти методы сложные, но высокоточные и требуют использования дорогостоящего оборудования. [2, с.159]

**ДНК диагностика**-это комплекс методов молекулярного анализа ДНК.

Методы ДНК диагностики позволять выявить: ДНК любого организма (человека, бактерий, простейшие или вирусы). Возможно диагностики паразитарной болезни.

Существуют различные методы ДНК диагностики.

Метод ПЦР(Полимеразная цепная реакция)- количественное увеличение необходимого участка ДНК, путем синтеза invite большого числа копий. [3, с.123]

**Этапы ПЦР:**

* Выделение ДНК
* Рестрикция ДНK
* Амплификация ДНК
* Электрофорез [3, с.123]

Рестрикционный анализ-это метод анализа, двухцепного фрагмента ДНК, которые образуются после обработки ферментами - рестриктаза. [3,с. 124]

Этапы:

* Выделение ДНК
* Рестрикция ДНК
* Электрофорез

**Цитогенетические методы**

Цитогенетические методы предназначены для изучения структуры хромосомного набора или отдельных хромосом. Наиболее распространенным методом в цитогенетике человека является световая микроскопия, а электронная и конфокальная лазерная микроскопия применяется только с исследовательскими целями. Во всей медико-генетической практике используется световая микроскопия (главным образом в проходящем свете), в том числе люминесцентная микроскопия. [2,с.161], [3, с.124]

Объектом цитогенетических наблюдений могут быть соматические делящиеся, мейотические и интерфазные клетки. Каждый из этих объектов имеет свои преимущества и недостатки. Выбор объекта определяется целью исследования. [2, с.163]

В настоящее время наблюдается высокая частота встречаемости моногенных патологий в популяции (не менее 1:20 000), наиболее часто встречаемыми заболеваниями являются :Фенилкетонурия,  Врожденный гипотиреоз, Адреногенитальный синдром, Галактоземия, Муковисцидоз, Нейрофиброматоз, Миотоническая дистрофия. Они характеризуются высокой тяжестью поражения с необратимыми последствиями в виде инвалидизации или ранней смерти. Поэтому важнейшая задача на сегодняшний день- это точная диагностика заболеваний на ранних этапах их развития.

Литература

1.Генетика и наследственные болезни. Учебник для мед.вузов - Кайбияйнен Т.М. 2012г. стр.208-223.

2.Медицинская генетика - Гинтер Е.К. 2003г.стр. 132 -198.

3. Медицинская генетика. Горбунова В. Н. Учебник для студентов медицинских вузов и слушателей последипломного образования. Стр.118-124.

**Синдром ломкой X-хромосомы**

**(синдром Мартина-** **Белл)**

Семенова К. А.

*Научный руководитель: к.б.н. Гирина Л.* *В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В 1934 году ирландский врач Джеймс Мартин и английский генетик Джулия Белл впервые описали семью, где умственная отсталость наследовалась, сцеплено с полом. В этой семье было 11 мужчин-олигофренов и две женщины с легкой степенью умственной отсталости. Обнаруженную форму заболевания назвали синдромом Мартина-Белл. Чуть позже Герберт Лабс, проводя цитогенетическое исследование, выявил в кариотипе четырех слабоумных мужчин и трех нормальных женщин странную Х-хромосому, которую он назвал маркерной: ближе к концу длинного плеча у нее была вторичная перетяжка. Лабс предложил отслеживать маркерную хромосому у эмбрионов мужского пола. Маркерную перетяжку локализовали на участке Xq27.3.Позже многие исследователи наблюдали под микроскопом Х-хромосомы не просто с перетяжкой, а как бы поломанными – с «оторванными» кончиками длинных плеч. Место перетяжки/поломки стали называть ломким сайтом (fragilesite). Поэтому заболевание получило другое название – синдром ломкой X-хромосомы (fragile X syndrome).

Особенности фенотипических проявлений синдрома ломкой Х-хромосомы:

• Возраст начала: детство

• Умственная недостаточность

• Дисморфическое лиц

• Постпубертатное увеличение яичек у мужчин (макроорхидизм)

Среди новорожденных мальчиков частота заболевания составляет от 1 на 1000 до 1 на 2000. Таким образом, частота распространенности этой формы умственной отсталости среди новорожденных лишь немного уступает распространенности синдрома Дауна.

Причина заболевания кроется в увеличении числа повторов триплета ЦГГ в области промотора (стартовой площадки для начала синтеза мРНК) гена FMR1. Продуктом этого гена является белок FMRP (fragile X mentalretardationprotein), который взаимодействует с РНК и направляет сложные молекулярные каскады, необходимые для нормального формирования нейронов, их синаптической пластичности. У здорового человека количество повторов варьирует в пределах от 5 до 54. При увеличении числа повторов до 55–200 возникает премутантныйаллель. В популяции он встречается достаточно часто: у одного из 200–250 человек. Хотя уровень мРНК гена оказывается выше нормы, содержание FMRP остается неизменным или даже немного снижается. Почему это происходит – пока неизвестно.

У большинства женщин – носительниц премутации, в отличие от мужчин, нет внешних проявлений патологии. В этом заслуга второй X-хромосомы, которая в большей или меньшей доле клеток компенсирует дефект. Более того, есть данные о преимущественной инактивации («выключении») именно дефектной хромосомы. Но зачастую таким женщинам свойственны эмоциональные проблемы, депрессии и фобии.

Инактивация одной из Х-хромосом – жизненно важный процесс дозовой компенсации генов, препятствующий удваиванию экспрессии всех Х-хромосомных генов у самок по сравнению с самцами. То есть в каждой клетке особи любого пола, несмотря на диплоидный набор хромосом, активна только какая-то одна X-хромосома – доставшаяся либо от отца, либо от матери.

Единственный метод профилактики заболевания – это пренатальный скрининг беременных. Существуют специальные обследования, которые позволяют ещё на раннем этапе определить наличие патологии, после чего рекомендуется прервать беременность. Как альтернативу используют ЭКО, способное помочь тому, чтобы ребёнок смог унаследовать здоровую хромосому Х.

Профилактика больного зависит от того, возникла ли мутация гена вновь, или передалась по наследству. Для этого проводится молекулярно-генетическая диагностика. В пользу «свежести» мутации говорит тот факт, что у родственников тест не выявил «ломкую Х-хромосому», а значит, риск родить ребёнка с синдромом Мартина-Белла очень мал. В семьях, где есть заболевшие, тест поможет избежать повторных случаев.

Прогноз синдрома Мартина-Белла для жизни благоприятен, для выздоровления - нет. Продолжительность жизни зависит от тяжести заболевания и сопутствующих пороков. Больной может прожить обычную по длительности жизнь. При тяжёлых формах синдрома Мартина-Белла больным угрожает пожизненная инвалидность.Патология не оказывает серьёзного негативного влияния на здоровье, поэтому продолжительность жизни большинства людей, у которых был обнаружен этотсиндром, не отличается от стандартных показателей.

Литература

1. КозловаС.И., ДемиковаН.С.,. СемановаЕ, Блинникова О.Е. "Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование" - М.: Практика, 1996г.
2. Куприянова Т.А. "Синдром Мартина-Белл (умственная отсталость с ломкой Х-хромосомой)"// Журнал невропатологии и психиатрии - 2001. - т.91 - вып.8 - с. 115-125.

**Наследственные заболевания, связанные с нарушением**

**обмена глюкокортикоидов**

Симонова Т.М.

*Научный руководитель: к.б.н., Л.В. Гирина*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Среди наследственных заболеваний человека одно из самых значительных мест занимают наследственные болезни обмена. Это довольно большая группа заболеваний, включающая в себя около 700 различных болезней. Для 200 из них в настоящее время установлена непосредственная причина, т. е. генетическая мутация, ее расположение в хромосоме человека. Большая часть обменных расстройств заключается во врожденной недостаточности определенного фермента, причиной чего и является генетическая мутация. При недостаточности фермента он либо не образуется в оганизме человека вообще, либо образуется, но отличается от нормального низкой активностью, что и приводит к нарушениям обмена.

Важное место в обмене веществ занимают гормоны, синтезируемые в корковом слое надпочечников — глюкокортикоиды. Глюкокортикоиды— стероидные гормоны из подкласса кортикостероидов, продуцируемые пучковой зоной коры надпочечников. Они являются производными холестерола и имеют стероидную природу. Основным гормоном у человека является кортизол. Синтез осуществляется в сетчатой и пучковой зонах коры надпочечников. Образованный из холестерола прогестерон подвергается окислению 17-гидроксилазой по 17 атому углерода. После этого в действие последовательно вступают еще два значимых фермента: 21-гидроксилаза и 11-гидроксилаза. В конечном итоге образуется кортизол.

Основным проявлением нарушения синтеза глюкокортикоидов является адреногенитальный синдром, или врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН). ВДКН наследуется по аутосомно-рецессивному типу, т. е. болезнь проявляется с одинаковой частотой как у мальчиков, так и у девочек. В синтезе гормонов коры надпочечников (кортикостероидов), к которым относят кортизол, альдостерон и андрогены, участвуют многочисленные ферменты. Генетический дефект какого-либо из них приводит к той или иной форме этого заболевания. Поэтому различных форм врожденной гиперплазии очень много, большинство из них не совместимы с жизнью. Поэтому новорожденные с такими формами умирают вскоре после рождения.

В 90 % случаев врожденная гиперплазия коры надпочечников вызвана дефектом фермента 21-гидроксилазы. У людей разных национальностей распространенность этой формы врожденной дисфункции коры надпочечников сильно меняется. У представителей белой расы дефицит 21-гидроксилазы встречается примерно 1:14 000 новорожденных. Значительно выше этот показатель у евреев — до 19 % новорожденных. Среди эскимосов Аляски —1 на 282 новорожденных.

Вследствие генетического нарушения фермента происходит снижение синтеза только кортизола и альдостерона, что вызывает надпочечниковую недостаточность. Снижение гормонов коры надпочечников приводит к повышению АКТГ (гормона гипофиза, который регулирует работу надпочечников). АКТГ, в свою очередь, вызывает гиперплазию надпочечников и усиление синтеза андрогенов.

Так как  21-гидроксилаза не участвует в синтезе андрогенов, то блока на синтез этих гормонов нет, и синтез их усиливается под действием АКТГ. В результате увеличения уровня андрогенов развивается гиперандрогения, которая вызывает изменения половых органов, а также рост волос в нежелательных местах. Поэтому раньше и называли это заболевание адреногенитальным синдромом. Выраженность симптомов может быть разная. Это зависит от степени дефекта фермента 21-гидроксилазы. В зависимости от выраженности дефекта выделяют 3 варианта ВДКН:

1) Сольтеряющая форма. При полной блокаде работы фермента 21-гидроксилазы развивается сольтеряющая форма ВДКН. При этой форме нарушается синтез как глюкокортикоидов, так и минералокортикоидов, основными представителями которых являются кортизол и альдостерон соответственно.

При снижении уровня альдостерона происходит потеря натрия и воды, поэтому эта форма так и названа. Она составляет около 75 % от всех случаев врожденной гиперплазии, связанной с дефектом 21-гидроксилазы. Развитие врожденной дисфункции коры надпочечников начинается еще во внутриутробном развитии. Проявления этого заболевания заметны уже при рождении ребенка.

2) Простая вирильная форма. При умеренной сохраненной активности фермента 21-гидроксилазы надпочечниковая недостаточность не развивается. Но остается такой же выраженный избыток андрогенов, который вызывает изменения наружных половых органов, как и при сольтеряющей форме.

3) Неклассическая (постпубертатная) форма. Когда генетический дефект фермента незначительный, то снижение кортизола и альдостерона умеренное. Потому и АКТГ повышен незначительно, что, в свою очередь, не сильно увеличивает синтез андрогенов. Поэтому при неклассической форме ВДКН надпочечниковая недостаточность не развивается, а также нарушений в строении наружных половых органов при рождении не обнаруживается.

Основная задача лечения - устранение дефицита глюкокортикоидов и гиперпродукции кортикостероидов, обладающих вирилизирующим анаболическим действием.

При ВДКН рекомендуется заместительная терапия глюкокортикоидами. Она восстанавливает обратную связь системы гипофиз - кора надпочечников и таким образом тормозит усиленную секрецию АКТГ гипофизом, что в свою очередь ведет к угнетению секреции андрогенов корой надпочечников. В результате уменьшается образование промежуточных продуктов биосинтеза - 17-гидроксипрегненолона и прогестерона, а следовательно, биосинтез и секреция андрогенов. При длитильном применении глюкокортикоидов (преднизолон и др. уменьшается вирилизация организма. В результате снятия "андрогенного тормоза" с органов-мишеней у девочек и женщин наступает феминизация, под влиянием собственных овариальных гормонов развиваются молочные железы, восстанавливается менструальный цикл. Дополнительного введения половых гормонов обычно не требуется. У мальчиков происходит истинное половое развитие, появляется сперматогенез, иногда исчезают опухолевидные образования в яичках. Прогноз в полной мере зависит от своевременности постановки  диагноза. Также имеет значение адекватность проводимой терапии, т. е. если доза препаратов недостаточна или имеются признаки передозировки, то в большинстве своем пациенты остаются низкорослыми, а у женщин имеется маскулинизация фигуры. Также это может привести к нарушению психосоциальной адаптации. Но при адекватном лечении даже у женщин с сольтеряющей формой возможны нормальное наступление и вынашивание беременности.

Литература

1. Балаболкин М.И. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний (руководство) / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Креминская. — М.: Медицина, 2002. — 752 с.
2. Бучин В.Н. Системный анализ морфогенеза коры надпочечников человека. / Бучин В.Н., Лазько М.В. // Вестник новых медицинских технологий. 2003. - Т. 10. - № 3. - С. 8- 11.
3. Гончаров Н.П. Биохимические маркеры врожденной дисфункции коры надпочечников и нарушений стероидогенеза / Н.П. Гончаров, Г.С. Колесникова // Проблемы эндокринологии. 2007. - Т. 53. - № 1. - С. 30 -33.
4. Карева М.А. Эпидемиология и молекулярная диагностика дефицита 21-гидроксилазы у детей: Автореферат дисс. . канд. мед. наук. М., 2004.
5. Петеркова В.А. Адреногенитальный синдром у детей / В.А. Петеркова, Т.В. Семичева, А.Н. Тюльпаков, М.А. Карева // Пособие для врачей; -Москва; -2006; -С.3-17.
6. Храмова Е.Б. Диагностика дефицита 21-гидроксилазы у новорожденных / Е.Б. Храмова, JI.A. Суплотова, О.Б. Макарова, Т.В. Баркова, В.В. Михальчук // Российский педиатрический журнал. 2006. - № 2. - С. 22-24.

**ДИСПЛАЗИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ:**

**ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНАЯ ФОРМА В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ**

*Кажаев М. С.*

*Научный руководитель: к.м.н., доцент**Л.М. Гордиенко*

*Кафедра факультетской педиатрии, эндокринологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Дисплазия соединительной ткани (ДСТ) — генетически обусловленная аномалия развития мезенхимального матрикса организма, приводящая к снижению прочности соединительной ткани многих органов и систем[1].

Актуальность проблемы: гастродуоденальные заболевания вызывают интерес в связи с их широкой распространенностью (140 случаев на 1000 детского населения и занимает 2-е место в структуре общей заболеваемости)[1], ранним развитием, прогрессирующим течением и осложнениями. В генезе хронического гастродуоденита (ХГД) имеют значение разнообразные причинные факторы и сложные взаимообусловленные связи между ними. К числу таких факторов можно отнести состояние соединительной ткани организма, формирующей его морфологическую и функциональную целостность[2]. Как известно, соединительная ткань выполняет в организме многочисленные и очень важные функции и реагирует практически на все физиологические и патологические воздействия [3]. Нарушения, формирующиеся в эмбриональном и постнатальном периодах, приводят к расстройству гомеостаза на тканевом, органном и организменном уровнях, к различным морфофункциональным дефектам висцеральных органов с прогредиентным течением [4]. Причиной ДСТ считаются мутации генов, отвечающих за различные составляющие соединительной ткани (волокна, межклеточное вещество, ферменты, их кофакторы).Диспластические изменения у детей с ДСТ в каждом случае индивидуальны и могут локализоваться в одной системе или сочетать значительное их число.Литературные данные позволяют утверждать, что взаимосвязь между фенотипическими признаками ДСТ и заболеваниями внутренних органов изучена недостаточно.[5]По данным J. B. Marshall, чаще всего при болезнях соединительной ткани поражался пищевод [6]. Тем не менее, в процесс может вовлекаться вся пищеварительная трубка [7]. Системность поражения при ДСТ находит свое подтверждение в сочетании патологии различных отделов желудочно-кишечного тракта.Синдром ДСТ выступает в роли фактора, усугубляющего выраженность клинических симптомов при синдроме раздраженного кишечника. Заболевание у диспластиков характеризуется большей степенью висцеральной гиперчувствительности и большей выраженностью вегетативной дисфункции,тревожности, имеющими конституционально-обусловленный характер [8, 9]. Инструментальные методы исследования помогли установить различные особенности течения заболеваний пищеварительного тракта у детей-диспластиков. Гастроэзофагеальный рефлюкс, по данным рН-метрии, характеризовался более длительными периодами снижения pH менее 4,0, большим числом эпизодов патологических рефлюксов и рефлюксов продолжительностью более 5 мин. Дуоденогастральный рефлюкс определялся у 69,6% больных с гастроэзофагеальнойрефлюксной болезнью, у 67,4% детей с хроническим гастродуоденитом, у 92,3% пациентов с функциональной диспепсией [10].В цитоплазме клеток эпителия желудка синтезируются нейтральные гликопротеины, входящие в состав защитного слоя желудочной слизи. У детей-диспластиковв цитоплазме эпителиоцитов, по данным ШИК-реакции, их содержание снижено, что указывает на дисфункцию этих клеток с нарушением слизеобразования, ведет к снижению резистентности слизистой оболочки гастро-дуоденальной зоны [11].У детей с ДСТ и заболеваниями пищеварительного тракта зафиксированы отклонения концентрации адренокортикотропного гормона и кортизола от нормальных значений, что может способствовать, по мнению авторов, развитию гастро-эзофагеальнойрефлюксной болезни [12].В желудочном соке пациентов с дисплазией соединительной ткани обнаружено повышение содержания свободных и белоксвязанныхсиаловых кислот, снижение концентрации связанной с белками фукозы в базальной и стимулированной порции, что отражает дестабилизацию защитных функций слизистых оболочек. Снижение содержания фукозы на фоне увеличения концентрации белков может свидетельствовать о возможности частичного распада гликопротеинов еще до выхода их в желудочный сок и выработки бедного гликопротеинами, «незрелого», желудочного секрета [13].Принципы ведения детей с патологией пищеварительного тракта на фоне дисплазии соединительной ткани внастоящее время четко не разработаны. Лечение должно быть направлено на ликвидацию зарегистрированных изменений. В дополнение к базисной терапии рекомендовано назначение поливитаминных препаратов (витаминов С, А, Е, РР, группы В), макро - и микроэлементов (селена, кальция, меди, магния, цинка, марганца и др.), являющихся кофакторами биохимических реакций созревания коллагена и других структурных элементов соединительной ткани, а также курсы биоэнергетической коррекции препаратами, содержащими соединения фосфора (аденозинтрифосфат, регуляторы кальциево-фосфорного обмена, инозин, триметил-гидразинияпропионат и др.); кокарбоксилаза, L-карнитин, транквилоноотропы (Ноофен). Важную роль отводят немедикаментозной терапии: адекватномурежиму дня, лечебной физкультуре, физиотерапии, грязелечению, психотерапии.

Клинический случай из педиатрической практики:

Пациент А. 6лет находился на лечении в гастро-энтерологическом отделении ГБУЗ ОДКБ с 23.01.17 - 10.02.17 с диагнозом: Язвенная болезнь 12 перстной кишки: язва луковицы 12 перстной кишки, осложненная кровотечением, рецидивирующее течение. Хронический гранулезный H.pyl.-ассоциированный гастрит. Проксимальный эрозивный дуоденит, стадия обострения. ДГР. Сопутствующий диагноз: ДСТ. Аномалия сердца: ПМК Iст. Диагональные трабекулы в левом желудочке.Миокардиодистрофия смешанного генеза.Грубая задержка психо-речевого развития, сенсорно-моторная алалия.Пациент предъявлял жалобы: на боли в животе, рвоту с примесью крови, отсутствие аппетита.Анамнез заболевания: Дебют заболеванияв 3 года, когда появились характерные симптомы: боли в животе, тошнота, рвота, отсутствие аппетита. В ноябре 2016 года кровотечение из верхнего отдела желудочно-кишечного тракта (ЖКТ),госпитализирован по экстренным показаниям. Оказана неотложная помощь по общепринятой программе при кровотечениях из ЖКТ. 23 января 2017 года рецидив заболевания.Госпитализирован в гастро-энтерологическое отделение ОДКБ. Проведена эрадикационнаяи посиндромальная терапия:МаастрихтV(2016г.)- 4-х компонентная терапия: Де-нол, Омепразол, Амоксициллин, Кларитромицин.Анамнез жизни: Ребёнок от IIбеременности IIродов. В течение всей беременности угроза выкидыша, пиелонефрит беременной, преэклампсия. Роды физиологические, стремительные. Масса при рождении 2400г, рост 51 см - задержкавнутриутробного развития. По шкале Апгар=7/8б - легкая асфиксия. К груди приложен на 1 сутки, пуповинный остаток отпал на 4 сутки. У ребенка наблюдаласьзадержка моторно-статической функции (голову держит с 5 мес., сидит с 9 мес., ходит с 1г.6мес.), речевой функции.Генетический анамнез: У мамы и у бабушки по материнской линии – хронический гастрит, у дяди по материнской линии – язвенная болезнь 12 перстной кишки. Перенесенные заболевания: Болеет ОРВИ- 2 раза в год. Привит по календарю прививок. Находится на «Д» учете у психотерапевта– задержка психо-речевого развития. Со слов матери, ребенок является носителем герпетической инфекции.

Клинический статус: Гастроэнтерологический:

Кожные покровы бледные. Язык обложен белым налетом,умеренная болезненность в эпигастральной области. Печень и селезенка не увеличены, пузырные симптомы отрицательные. Стул оформленный, склонность к запорам.

Диспластический:

|  |  |
| --- | --- |
| Фенотипические признаки, характерные для ДСТ[14] | 1. Астеническое телосложение  2. Долихоцефалическая форма черепа  3.Низкорасположенные ушные раковины  4. Гиперэластичная кожа (с наличием пигментных пятен)  5. Гипермобильность суставов  6. Плоскостопие, сандалевидная щель. |
| Генотипические признаки ДСТ[5] | полиморфизм генов коллагена (COL1A1)   геныдетоксикацииксенобиотиков (GSTM1,GSTT1,NAT2)ассоциированы с развитием ДСТ |

Данные параклинического обследования:

Общеклинические исследования: ОАК, ОАМ, Копрограмма, соскоб ная/глист – Без патологии. Специальные исследования: БАК(Белок= 64,9 г/л, Общий холестерин= 3,68 ммоль/л, Общий билирубин= 9,6 мкмоль/л, АлАТ=9,2 ЕД/л, АсАТ=22,7 ЕД/л, ЩФ=307,4. КФК=92,3)– Без патологии. Реакция Грегерсена положительна.Инструментальное исследование: УЗИ внутренних органов: печень, желчный пузырь, поджелудочная железа, почки – Без патологии.ФЭГДС: Явление гастрита с очаговой фолликулярной гиперплазией слизистой тела и антрального отдела желудка. Две острые язвы 12перстной кишки. Явления проксимального дуоденита. Дуоденогастральный рефлюкс.Хелп-тест–Helicobacterpylori положительный «+++». ЭХО-КГ с ДГ:ПМК Iст, МРО Iст, в ЛЖ диагональные трабекулы.

Заключение: Особенность клинического случая

1. Ранний дебют заболевания - с 3-х лет проявление гастроинтестинального синдрома (абдоминального, диспептического, астено-вегетативного)2. В возрасте 6-ти лет дебют язвенной болезни 12 перстной кишки, осложненная желудочным кровотечением, с последующим рецидивированием через 2 месяца. 3. Генетическая отягощенность по патологии ЖКТ.4. Многофакторное воздействие на плод (хроническая гипоксия плода, внутриутробное инфицирование).5. Полиорганное поражение органов и систем на фоне ДСТ: желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой, ЦНС.

Для врача-педиатра первичного звена здравоохранения чрезвычайно важно на ранних этапах развития заболевания выявить детей с признаками ДСТ- группы риска по эрозивно-язвенным поражениям, и, наоборот, при подтверждении диагноза следует обращать внимание на диспластические признаки; подтверждать синдром ДСТ ввиду не только возможности рецидивированиягастропатологии, но и осложнений. При этом возможно,что клиническая диагностика язвенной болезни 12 перстной кишки, эрозивного гастродуоденита на фоне ДСТ затруднительна в связи с преобладанием бессимптомных форм(15)Многочисленные попытки выявления механизмов влияния ДСТ на развитие патологии пищеварительного тракта у детей дали возможность расшифровать отдельные их звенья. Многие проблемные вопросы остаются нерешенными. В частности, нет окончательного ответа на самый главный вопрос: как помочь детям с дисплазией соединительной ткани? Отсутствие целостной картины патогенеза, сложные механизмы поражения пищеварительного трактапри ДСТ оставляют широкоеполе для деятельности будущих исследователей.

Литература

1. Иванова И .И., Гнусаев С. Ф., Апенченко Ю. С., Капустина Л. В., Герасимов Н. А., Солдатова И. А. Особенности проявлений заболеваний пищеварительного тракта у детей с дисплазией соединительной ткани // ВСП. 2012.№5.С.50-55.  
2.Комарова Е.В., Потапов А.С., Журкова Н.В. и др. Дисплазия соединительной ткани как одна из причин возникновения хронических запоров у детей // Вопр. соврем. педиатр. — 2007. — Т. 3. — С. 114–116. 3.Кадурина Т.И. Наследственные коллагенопатии (клиника, диагностика, лечение и диспансеризация). — СПб., 2000. — С. 271. 4. Яковлев В.М., Глотов А.В., Нечаева Г.И. и др. Клинико-иммунологический анализ клинических вариантов дисплазий соединительной ткани // Тер.арх. — 1994. — Т. 5. — С. 9–11.

5.Арсентьев В.Г. Дисплазии соединительной ткани как конституциональная основа полиорганных нарушений у детей. Автореферат дисс. д.м.н., 14.01.08 - педиатрия. ВМИ им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, 2012.

6.Marshall J. B., Kretschmar J. M., Gerhardt D. C. et al. Gastrointestinal manifestations of mixed connective tissue disease. Gastroenterology.1990; 98: 1232–1238с.

7.Ebert E. C.Gastric and enteric involvement in progressive systemic sclerosis. J.Clin.Gastroenterol.2008;42(1):5–12с.

8.Москович Г. И. Клинико-морфологические особенности синдрома раздраженного кишечника у детей с недифференцированной соединительнотканной дисплазией. Автореф. дис. канд. мед.наук. Екатеринбург. 2009. 26с.

9.Коржов И. С. Течение заболеваний верхнего отдела пищеварительного тракта у детей с дисплазией соединительной ткани. Вопросы практической педиатрии. 2008; 25–30с.

10.Осипенко М. Ф., Фролова Н. Н. Синдром дисплазии соединительной ткани и синдром раздраженного кишечника. Росс.журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.2006;16(1):54–60с.

11. Трутнева Л. А. Клинико-анамнестическая характеристика воспалительных заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки у детей школьного возраста с дисплазией соединительной ткани. Автореф. дис … канд. мед. наук. М.2007.24с.

12. Семенов С. В., Кашкина Е. И. Формирование и особенности течения гастроэзофагеальнойрефлюксной болезни у военно-служащих по призыву на фоне синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Саратовский научно-медицинский журнал. 2008; 4 (4): 46–49с.

13.Кильдиярова Р. Р., Иванова И. Л., Чернышева Т. Е. Обмен соединительной ткани у подростков в норме и при дисплазии соединительной ткани. В кн.: Педиатрические аспекты дисплазии соединительной ткани: достижения и перспективы, вып. 2. Под ред. С. Ф. Гнусаева, Т. И. Кадуриной, А. Н. Семячкиной. М., Тверь, С.-Пб: РГ «ПРЕ100».2011.С.52–57.

14. Якубовская О. Г. Клинико-морфологическая характеристика хронического гастродуоденита у детей с синдромом дисплазии соединительной ткани сердца. Автореф. дис. канд. мед.наук. Ставрополь. 2008. 24с.

15.Кильдиярова Р. Р. Дисплазия соединительной ткани и патология желудочно-кишечного тракта у детей. XV РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС «ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПЕДИАТРИИ И ДЕТСКОЙ ХИРУРГИИ». Доклад. Москва. 25-27.10.2016.

**СЕМЕЙНАЯ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЯ, ОБУСЛОВЛЕННАЯ НОВОЙ МУТАЦИЕЙ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ЛПНП**

*Шафикова А. И.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Афонина С. Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

**Семейная гиперхолестеринемия** (СГХС) — это генетическое заболевание, характеризующаяся высоким уровнем общего холестерина в крови, в частности, очень высоким уровнем липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), а также ранним возникновением сердечно-сосудистых заболеваний. При исследовании больных СГХС из российской популяции у 61,5% была диагностирована ишемическая болезнь сердца (ИБС) и у 31% — инфаркт миокарда.

В России работы по изучению влияния мутаций генов рецептора липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) на показатели липидного обмена у больных с СГХС и фенотипические особенности проявления атеросклероза немногочисленны. Около 70% больных с СГХС имеют уникальные для российской популяции мутации. Несмотря на то, что больные с СГХС относятся к лицам с высоким риском развития ИБС, прогноз у них разный. Это связано с типом генетической мутации, наличием дополнительных факторов риска развития атеросклероза.

При генетическом исследовании больных с клиническими признаками с ГХС исследовалась вся кодирующая область гена рецептора ЛПНП и осуществлен поиск мажорных мутаций в чеках APOB и PCSK 9.

У группыисследована вся кодирующая область гена рецептора ЛПНП и осуществлен поиск мажорных мутаций в генах APOB и PCSK 9. В гене рецептора ЛПНП было идентифицировано 13 мутаций. Все мутации были найдены в уникальных семьях и не встречались повторно. Мажорных мутаций в генах APOB и PCSK9 не выявлено ни у одного обследованного.

Мутации приводят к изменению кодирующей последовательности рецептора ЛПНП на число нуклеотидов, некратное трем, которое приводит к сдвигу рамки считывания при трансляции и преждевременной терминации трансляции. Эта делеция не приводит к исчезновению или появлению нового сайта узнавания ни для одной из известных эндонуклеаз рестрикции. Единственным способом ее диагностики является секвенирование.

Предсказано, что эта мутация, которую по правиламноменклатуры следует обозначить p. (Val731Serfs\*6),приводит к образованию рецептора без трансмембранного и цитоплазматического доменов. Таким образом,получается белок, неспособный связывать и интернализовать свои лиганды: липопротеины, содержащиеаполипопротеины В и Е. Фенотипические проявления мутациигена рецептора ЛПНП характеризуются значительнойвариабельностью. Так, наличие мутации гена не всегдасопровождается гиперхолестеринемией, а последняяне всегда приводит к клинически выраженной атеросклеротической патологии на момент исследования.В то же время при СГХС не всегда удается выявитьмутацию гена рецептора ЛПНП.

В связи с вышеизложенным,требуется дальнейшее изучение различий фенотипических проявлений атеросклеротического процесса упациентов с СГХС при различных мутациях, выявление ранних маркеров церебрального атеросклероза иизучение особенностей течения церебрального атеросклероза в разные возрастные периоды.

Литература

1. Мешков А.Н., Малышев П.П., Кухарчук В.В.. Семейная гиперхолестеринемия в России: генетическая и фенотипическая характеристика. Терапевтический архив. 2009; 81 (9): 23—8.
2. Zakharova F.M., Damgaard D., Mandelshtam M.Y., Golubkov V.I., Nissen P.H., Nilsen G.G. et al. Familial hypercholesterolemia in St-Petersburg: the known and novel mutations found in the low density lipoprotein receptor gene in Russia. BMCMed. Genet. 2005; 6: 6.
3. Soutar A.K., Naoumova R.P. Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. Nature Clin. Pract. Cardiovasc. Med. 2007; 4 (4): 214—25.

**ТИРЕОИДНЫЕ ГОРМОНЫ КАК МАРКЕРЫ ВРОЖДЕННОГО ГИПОТИРЕОЗА**

*Абдуллаев М. Д., Ахмерова Р. И.*

*Научный руководитель: доцент, к.мед.н. Попова Е.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Моногенные болезни — разнородная по клиническим проявлениям группа заболеваний, обусловленных мутациями на уровне гена. В настоящее время описано более 5000 моногенных болезней [1, c. 162]. Мутации, вызывающие наследственные болезни, могут затрагивать ферменты, структурные, транспортные и рибосомальные белки. В каждом гене может возникать до нескольких сотен вариантов мутаций. [2, c. 283].

Мутации могут реализовываться в различные периоды онтогенеза: до 25% наследственной патологии проявляется внутриутробно, в допубертатном периоде — 45%, в подростковом и юношеском периоде — 20%, и лишь 10% моногенных болезней развиваются в возрасте старше 20 лет [5, c. 313].

Существует несколько классификаций наследственных моногенных болезней. Согласно классификации по типу наследования выделяют аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный, Х-сцепленный доминантный, Х-сцепленный рецессивный, Y-сцепленный и митохондриальный [3, c. 24]

Частота встречаемости моногенных наследственных болезней колеблется у разных этнических групп в разных географических зонах.

Одним из наиболее часто встречающихся моногенных заболеваний является врожденный гипотиреоз. Частота встречаемости от 1 случая на 4.000 новорожденных в Европе, до 1 на 7.000 новорожденных в Японии, у лиц негроидной расы заболевание встречается достаточно редко. У девочек заболевание встречается в 2 раза чаше.

Врожденный гипотиреоз - полиэтиологичное заболевание, обусловленное морфофункциональной незрелостью гипоталамо-гипофизарной системы, щитовидной железы или их повреждением во внутриутробном периоде.

В подавляющем большинстве случаев (90%) имеет место первичный врожденный гипотиреоз, в основе которого лежит дисгенезия щитовидной железы. Этот вариант гипотиреоза обычно возникает спорадически. Существуют семейные случаи заболевания врожденным гипотиреозом с аутосомно-рецессивным типом наследования. Гораздо реже (5% случаев) встречается вторичный врожденный гипотиреоз, проявляющийся изолированным дефицитом синтеза ТТГ, или пангипопитуитаризмом.

В последние годы внимание исследователей привлечено к редкой форме гипотиреоза, связанного с резистентностью тканей к тиреоидным гормонам. Описано наследование этого признака, как по аутосомно-рецессивному, так и по аутосомно-доминантному типам. Обсуждается вопрос о возможности трансплацентарной передачи аутоантител к щитовидной железе от матери к плоду [6, c. 225] Особой формой гипотиреоза является транзиторный гипотиреоз новорожденных. Эта форма заболевания чаше всего имеет место в регионах, эндемичных по недостатку йода [1, c. 171]

В основе любой формы врожденного гипотиреоза лежит абсолютная или относительная недостаточность тиреоидных гормонов. Она может быть обусловлена недостатком секреции тиреоидных гормонов плода или недостаточностью их продукции у матери в период до становления тиреоидной функции плода [4, c. 187]

Гормоны щитовидной железы представляют собой йодированные молекулы, называемые йодтиронинами. Главным стимулятором секреции Т4 и Т3 является тиреотропный гормон. Под его контролем находятся процессы, обеспечивающие синтез, запасание и секрецию йодтиронинов.

В свою очередь, секреция ТТГ контролируется пептидным гормоном гипоталамуса - тиролиберином, стимулирующим синтез и секрецию ТТГ в аденогипофизе, и тиреоидными гормонами, непосредственно ингибирующими секрецию ТТГ по механизму отрицательной обратной связи.

Гипотиреоз приводит к развитию дисметаболизма, снижению скорости протекания окислительных процессов, активности ферментативных систем, повышению трансмембранной клеточной проницаемости, накоплению в тканях недоокисленных продуктов обмена. Дефицит тиреоидных гормонов грубо нарушает процессы роста, дифференцировки всех тканей и систем организма.

Больше других от недостатка тиреоидных гормонов страдает центральная нервная система. Происходящие при этом выраженные нарушения носят необратимый характер. Развивается глубокое слабоумие с неспособностью к обучению и самообслуживанию. Психоэмоционалъная сфера характеризуется преобладанием негативных эмоций [4, c. 189]

Хотя эффективная заместительная терапия тиреоидными препаратами началась еще в 1930 году, умственная отсталость детей с врожденным гипотиреозом осталась весьма распространенной, ввиду того, что предотвратить ее возможно лишь при начале лечения в первый месяц жизни ребенка [2, c. 249]

С введением в клиническую практику высокочувствительных радио- и иммунологических методов определения концентрации гормонов - Т3, Т4 и ТТГ в крови стала возможной ранняя диагностика врожденного гипотиреоза путем осуществления нео- и постнатального скрининга.

Поскольку именно свободные Т3 и Т4 обеспечивают биологическую и метаболическую активность, в последние годы не вызывает сомнения большая диагностическая значимость и ***актуальность*** определения именно свободных форм тиреоидных гормонов.

***Целью* *исследования*** является изучение уровня тиреоидных гормонов и ТТГ у пациентов с врожденным гипотиреозом различных возрастных групп.

***Материалы и методы:*** в данном исследовании приводится анализ уровня Т3, Т4 и ТТГ у 42 пациентов с врожденным гипотиреозом, проходящих обследование в "ПНИЛ по изучению механизмов естественного иммунитета ОрГМУ". Уровень гормонов определялся методом ИФА («Алкор-Био», Санкт-Петербург). Статистическая обработка проведена с помощью пакетных программ «Statistica-10», с использованием методов параметрической статистики, с расчетом средней арифметической и стандартного отклонения, проведением корреляционного и частотного анализов.

***Результаты******и обсуждение:*** обследуемые были разделены на группы по возрастному критерию: 1) 1 месяц - 1 год, 2) 1 - 14 лет, 3) старше 15 лет. В ходе работы установлено, что средние значения уровней Т3, Т4 во всех возрастных группах соответствуют референсным значениям, рекомендованным фирмой-изготовителем и принятым в ПНИЛ. Однако, выявленное повышение уровня ТТГ во всех возрастных группах может указывать на наличие гипотиреоза.

Число детей **до года**, находившихся в состоянии эутиреоза и субклинического гипотиреоза было одинаковым, составив 44%. У 1 ребенка выявлен манифестный гипотиреоз (12 %) с повышением уровня ТТГ и снижением уровня Т4. Уровень Т3 соответствовал референсным значениям у всех обследованных детей.

Во **второй** группе у детей более часто выявлялся субклинический гипотиреоз (47% обследованных). Состояние эутиреоза было выявлено у 32% пациентов. У 1 ребенка (5%) выявлен манифестный гипотиреоз. Кроме того, в 16% случаев обнаружен вторичный гипотиреоз.

В **третьей** возрастной группе, у 58% пациентов выявлялся эутиреоз. У 42%- манифестный гипотиреоз.

***Выводы:*** Полученные данные позволяют оценить эффективность проводимой терапии и необходимость корректировки схемы лечения у каждого индивидуального пациента.

Литература

1. Бочков Н.П. Клиническая генетика. – М.: Медицина, 1997. – 250 с.
2. Вернер С. Щитовидная железа. Пер. с англ. – Л.: Государственное издательство медицинской литературы, 1963. – 450 с.
3. Пузырев В.П. Патологическая анатомия генома человека, 1997. – М.: Медицина,– 360 с.
4. Фролов, Б.А. Физиология и патология нейроэндокринной регуляции / Б.А. Фролов. – М.: Медицина, 2006. – 320 с.
5. Янушевич О.О. Медицинская и клиническая генетика: учебник для вузов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 400 с.
6. McKusick V.A. Mendelian inheritance in man: a catalog of human genes and genetic disorders, 1994 – Baltimore: Johns Hopkins University Press.

**ПРОЯВЛЕНИЯ ВРОЖДЕННОГО ГИПОТИРЕОЗА В ОБЛАСТИ ЛИЦА И РОТОВОЙ ПОЛОСТИ**

*Ахмерова Р. И., Абдуллаев М. Д.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н. Попова Е.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Моногенные болезни - заболевания, в основе этиологии которых лежит единичная генная мутация. На сегодняшний день описано около 5000 нозологических единиц моногенных болезней. Одной из них является врожденный гипотиреоз [2, c. 213].

Гипотиреоз – это синдром, обусловленный снижением действия Т3 и Т4 на ткани-мишени [1, c. 200]. Врожденный гипотиреоз – моногенное заболевание, являющееся результатом генетически обусловленного дефекта ферментативных систем, синтезирующих тиреоидные гормоны, при морфологически мало измененной щитовидной железе.

В зависимости от причин, вызывающих врожденный гипотиреоз, выделяют:

1. Первичный гипотиреоз

* Дисгенезия (аплазия, гипоплазия, эктопическая щитовидная железа) щитовидной железы
* Нарушение синтеза, секреции или периферического метаболизма тиреоидных гормонов
* Лечение матери радиоактивным йодом
* Нефротический синдром

1. Преходящий первичный гипотиреоз

* Применение антитиреоидных лекарственных средств для лечения тиреотоксикоза у матери
* Дефицит йода у матери
* Воздействие избытка йода на плод или новорожденного
* Трансплацентарный перенос материнских тиреоблокирующих антител

1. Вторичный гипотиреоз

* Пороки развития головного мозга и черепа
* Разрыв ножки гипофиза при родовой травме или асфиксии
* Врожденная аплазия гипофиза

1. Преходящий вторичный гипотиреоз [4, c. 591]

Этиология обусловлена дефектами 1, 2, 3, 8 и 14 хромосом. В 1 хромосоме находится ген TSHB, кодирующий β-субъединицу тиреотропного гормона, во 2 – PAX8, являющийся парным доменом фактора концентрации, в 8 – Blk (тирозинкиназа), TG (тиреоглобулин), FGFR1 (фактор роста фибробластов, фибробласт связывающая тирозинкиназа 2), в 14 – TSHR (рецептор тиреотропного гормона) [2, c. 225;6].

При поломке гена TSHR в 14 хромосоме наблюдается дефект рецепторов тиреотропного гормона, в частности рецепторов на поверхности эпителия щитовидной железы, вследствие чего гормон не связывается с рецептором, а значит не активирует синтез и секрецию Т3 и Т4. Тироксин и трийодтиронин не синтезируются и не секретируются и при дефекте гена TSHB в 1-ой хромосоме, т.к. при этом не происходит синтеза нормального ТТГ [4, c. 591;5].

Неспособность йодидного насоса захватывать йодид из крови, переносить эти анионы через мембрану обусловливает нарушение транспорта йода, а следовательно концентрирование его в цитоплазме (ген PAX8 2-ой хромосомы) [4, c. 591].

При недостаточности йодидоксидазы йодид не окисляется до нейтрального йода и не связывается с остатками тирозина в тиреоглобулине, что предотвращает образование предшественников (монойодтирозин, дийодтирозин) тиреоидных гормонов. Дефект гена TG 8-ой хромосомы означает изменение структуры тиреоглобулина или нарушения его гидролиза. Это говорит о том, что отщепление Т4 и Т3 от тиреоглобулина не происходит. Следовательно, гормоны не поступают в кровь и не осуществляют своих функций [4, c. 591].

Каждый из этих молекулярно-генетических нарушений ведёт к одному – к снижению действия Т3 и Т4 на клетки-мишени. Это отражается на всех видах обмена веществ организма и нарушает деятельность и функциональное состояние практически всех органов и систем органов, в том числе кожи лица и тканей ротовой полости. Об изменении гомеостаза последних будет подробнее сказано ниже.

Тироксин и трийодтиронин играют важную роль в фосфорно-кальциевом обмене, т.е. принимают непосредственное участие в минерализации костной ткани. Так, при недостатке этих гормонов наблюдается задержка сращения небного шва (волчья пасть), прогнатия (выступание верхней челюсти вперед), недоразвитие подбородка в результате несращения двух половин нижней челюсти [3, c. 389; 5].

Кроме того, ярко выражено нарушение белкового обмена, что проявляется как микседема – слизистый отек в результате инфильтрации мукопротеинами. В ротовой полости это проявляется увеличением языка, который всё время выпячивается. Это способствует формированию открытого прикуса. Слизистая оболочка десны набухшая и разросшаяся, но не воспаленная. Кожа лица отечная, набухшая, губы увеличены [3, c. 382;3, с. 389].

Дефицит тиреоидных гормонов задерживает прорезываение молочных и постоянных зубов, рассасывание корней временных зубов [3, c. 389].

На основании вышеизложенного можно сделать вывод: тиреоидные гормоны являются ключевым звеном в осуществлении целого ряда процессов, происходящих в организме. Клиника, наблюдающаяся при дефиците этих гормонов, дает врачам возможность заподозрить врожденный гипотиреоз у детей и предпринять необходимые меры по его лечению. А знание вызывающих данное заболевание причин позволяет предотвратить его возникновение.

Литература

1. Фролов, Б.А. Физиология и патология нейроэндокринной регуляции / Б.А. Фролов. – М.: Медицина, 2006. – 320 с.
2. Медицинская и клиническая генетика для стоматологов: учебник для вузов/ под ред. О.О. Янушевича. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 400 с.
3. Щитовидная железа / под ред. С. Вернера. Пер. с англ. – Л.: Государственное издательство медицинской литературы, 1963. – 450 с.
4. Эндокринология / под ред. Н. Лавина. Пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 1128 с.
5. Тиреоидные гормоны [Электронный ресурс], - <https://ru.wikipedia.org/wiki/Тиреоидные_гормоны> - статья в интернете.
6. Хромосомы [Электронный ресурс], - <https://ru.wikipedia.org/wiki/Хромосомы> - статья в интернете.

**Наследственная предрасположенность в развитии**

**сахарного диабета первого типа**

Немцева Е. К.

Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В.,

профессор, д.м.н. Немцева Н.В.

*Кафедра фармакологии*

*Кафедра биологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

УДК: 616.379-008.64:612.6.051:575.174.015.3

**Резюме.**Представленный научный обзор содержит сведения о молекурярной основе сахарного диабета 1 типа на молекулярном уровне. Приведены результаты современных генетических исследований, свидетельствующих о взаимосвязи с некоторыми локусами области HLA.

**Ключевые слова**: сахарный диабет 1 типа, наследственная предрасположенность, мультифакторная модель наследования, генетическая гетерогенность.

**Summary.**The structure contains information about the molecular basis of diabetes mellitus type 1.The results of modern genetic researches showing the relationship with some loci of HLA region.

**Key words**: diabetes mellitus type 1, genetic predisposition, multifactorial model of inheritance, genetic heterogeneity.

Сахарный диабет (СД) - это заболевание эндокринной системы, которое сопровождается хроническим повышением уровня глюкозы в крови, обусловленным абсолютной или относительной недостаточностью инсулина.При сахарном диабете нарушается обмен углеводов, белков и жиров[1].

Сахарный диабет 1 типа возникает при хронической недостаточности инсулина – гормона поджелудочной железы. Чаще всего данным типом диабета страдают люди в возрасте до 40 лет. Основной причиной считается выработка организмом антител, которые повреждают инсулинопродуцирующие клетки островков Лангерганса в поджелудочной железе. Немаловажное значение для исходного состояния поджелудочной железы играют также наслед-ственные факторы. Известно, что диабет нередко встречается у членов одной семьи. Описаны внутрисемейные формы этой болезни[5].

На сегодняшний день выдвинуто 2 теории возникновения заболевания– моногенная и мультифакторная. Совершенствование статистических методов генетического анализа позволило отвергнуть моногенную теорию. Сахарный диабет – многофакторное заболевание.С использованием статистических методов доказано, что наследуемость сахарного диабета, его возникновениеу пациентов в возрасте до 10 лет составляет 70-80%, после 50 лет – 30-40%[2].

Мультифакторная модель наследования предполагает появление болезни как соотношение генетических и средовых факторов. Под генетичес-ким фактором понимают совокупность аллелей полиморфных генов, которые ассоциируются с СД 1 типа[6].

Последние исследования свидетельствуют о значительнойгенетичес-кой гетерогенности сахарного диабета [4].

По данным И.И. Дедова, значение генетических факторов СД 1 типа все же выше, чемпри СД 2 типа[1]. Достижения молекулярной генетики позволили конкретизировать наследственную предрасположенность к СД 1 типа путем изучения его ассоциированности с различными полиморфными генетическими системами. Изучено распределение отдельных аллельных ва-риантов данного гена в популяции и в случайной выборке больных с СД 1 типа. Выделен ряд генетических локусов на разных хромосомах, где обнаружены ассоциацииполиморфных аллелей с СД 1 типа[7].Наибольший вклад в предрасположенность к СД имеет локус IDDMI(HLAобласти) – 32%, расположенный на коротком плече 6 хромосомы.

Каждый человек с СД 1 типа («семейной» или «несемейной» формы) имеет аллели HLA-области, которые ассоциируются с этим заболеванием[7]. Это показывает, что сходные гены вносят свой вклад в развитие заболевания вне зависимости от формы (табл. 1).

**Таблица.** Локусы, определяющие генетическую предрасположенность к развитию СД 1 типа [7]

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Локус** | **Ген** | **Хромосомная локализация** | **Семейный риск СД, %** |
| IDDM1 | HLA | 6p21 | 32,0 |
| IDDM2 | INS | 11p15,5 | 10,0 |
| IDDM3 |  | 15q26 |  |
| IDDM4 |  | 11q13 | 2,0 |
| IDDM5 |  | 6q25 | 5,0 |
| IDDM6 |  | 18q | 4,0 |
| IDDM7 |  | 2q31 | 5,0 |
| IDDM8 |  | 6q27 | 13,0 |
| IDDM9 |  | 3q21-25 | 8,0 |
| IDDM10 |  | 10p11.2 | 14,0 |
| IDDM11 |  | 14p24,3-q31 |  |
| IDDM12 |  | 2q32.1-q33 |  |
| IDDM13 |  | 2q33-q34 |  |
| IDDM15 |  | 6q21 |  |
| GCK |  | 7p |  |
| DXS 1068 |  | Xq | 7,0 |

Из представленных в таблице данных видно, что наибольший вклад в предрасположенность к сахарному диабету имеет локус IDDM 1 (HLAобласти). Имеют значение и локусы IDDM 10, IDDM 8, IDDM 2, IDDM 9.

Кроме МНС, предполагают изменения еще в более чем десятке локусов, увеличивающих восприимчивость к сахарному диабету 1 типа. Это вариабельность числа тандемных повторов в промоторе гена инсулина и прос-той нуклеотидный полиморфизм в гене иммунного регулятора CTLA4, а также в гене PTPN22, кодирующем протеин-фосфатазу[8].

Гены области HLA чрезвычайно полиморфны. В главном комплексе гистосовместимости выделяют 3 области, кодирующие молекулы 1,2 и 3 классов. Антигены DR3 и DR4, которые относятся ко 2 классу, положительно коррелируют с СД 1 типа[8].

С совершенствованием молекулярно-генетических методов стало возможным проводить идентификацию аллельных вариантов различных генов. Были полученыданные о том, чтоDQA1, кодирующий остаток аргинина в 52 положении (Arg52+) и ген DQB1, не кодирующий остаток аспарагина в 57 положении (Asp57-), ассоциируются с СД 1 типа. Данные аллели этих генов являются предрасполагающими к развитию сахарного диабета 1 типа в 83-87% случаев. Еще больший риск представляет комбинация обоих генов [9].

Точный механизм возникновения и развития СД 1 типа до настоящего времени не установлен. Предполагается, что остатки молекул Arg52 и Asp57действуют на установление активной супрессии иммунного ответа против собственных антигенов во время созревания Т-лимфоцитов в тимусе, что приводит к образованию на периферии потенциально опасных Т-лимфоцитных клонов.

В отличие от моногенных синдромов, сочетающихся с различными нарушениями углеводного обмена при аутоиммунном сахарном диабете 1 типа, причина заболевания лежит гораздо глубже, чем мутации отдельных генов. При изучении последовательности нуклеотидов, входящих в состав генов, выявлены отличия у разных людей. Подобное явление выраженного полиморфизма характерно для многих генетических систем. Эти различные ва-рианты одного и того же аллеля получили название множественного аллелизма. У больных в случае положительной ассоциации наблюдается накопление нескольких генетических маркеров, т.е. вариантов генов и их комбинаций, по сравнению создоровыми людьми[9].

Отмечено, что для различных популяций характерны свои особенности разной степени ассоциаций, наличие «нестандартных» генотипов и выраженности того или иного гена в ассоциации. Положительно коррелирующие с СД 1 типаантигены DR3 иDR4 более чем в 90% случаев представлены в европейской популяции. При этом гетерозиготность по HLA-DR3/4 повышает риск гораздо больше, чем гомозиготность по DR3 и DR4[7].На американском континенте с СД 1 типа чаще коррелируют DR3, что касается северных европейских популяций, то среди них преобладает ­ DR4. Данные литературы о частоте HLA-антигенов и полиморфных аллелей в различных популяциях неоднозначны и применимы лишь для каждой отдельно изученной популяции [8].

Исходя из представленного материала, сахарный диабет 1 типа - это заболевание эндокринной системы мультифакторной природы, включая генетические и средовые факторы. С использованием современных генетических методов наследственная природа этого заболевания связана с локусами IDDM1, IDDM 10, IDDM 8, IDDM 2, IDDM 9, расположенных в области HLA на кончике короткого плеча 6 хромосомы. Значительная генетическая гетерогенность сахарного диабета объясняется множественным аллелизмом в указанных локусах области HLA, а также разной степенью полиморфизма антигенов у больных в различных популяциях.

Литература

1. Дедов И. И., Кураева Т. Л., Ремизов О. В., Петеркова В. А., Носиков В. В., Щербачёва Л. Н. Генетика сахарного диабета у детей и подростков.- М, 2003. – 74с.
2. Дедов И.И., Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Щербачева Л.Н. Сахарный диабет у детей и подростков. - М., 2002. - 391 с.
3. Кураева Т.Л. Генетика сахарного диабета: история и современное состояние проблемы//Сахарный диабет. - 2005, № 3. - С. 14-16.
4. Меликян М.А., Кураева Т.Л., Дубинина И.А. Молекулярная генетика сахарного диабета у детей и подростков//Сахарный диабет.- 2008, № 3. - С. 78-80.
5. Петеркова В.А., Кураева Т.Л., Прокофьев С.А., Емельянов А.О., Захарова Е.Ю., Цыганкова П.Г., Гришина Д.П. Молекулярная генетика и клинические особенности моногенных форм сахарного диабета // [Вестник Российской академии медицинских наук](http://cyberleninka.ru/journal/n/vestnik-rossiyskoy-akademii-meditsinskih-nauk). – 2012, Т.67, №1. – С. 81-86.
6. Рыжков П. А., Рыжкова Н. С., Коновалова Р. В. Генетика сахарного диабета 1 типа // «Живые и биокостные системы». – 2013, № 4. [Электронное периодическое издание ЮФУ] http://www.jbks.ru/archive/issue-4/article-14.
7. Семинский И.Ж., Ягельская М.В. Генетика сахарного диабета (лекции) // [Сибирский медицинский журнал (Иркутск)](http://cyberleninka.ru/journal/n/sibirskiy-meditsinskiy-zhurnal-irkutsk).- 2003, Т. 40, № 5. – С. 97-101.
8. Ali O. Type 1 Diabetes Mellitus: Epidemiology, Genetics, Pathogenesis, and Clinical Manifestations / L. Poretsky (ed.), Principles of Diabetes Mellitus. USA: Springer International Publishing Switzerland. - 2015.- P. 1-25. DOI 10.1007/978-3-319-20797-1\_12-1.
9. Nosikov V. V.,Seregin Yu. A. Molecular Genetics of Type 1 Diabetes Mellitus: Achievements and Future Trends // Molecular Biology. - 2008, Vol. 42, No. 5. - P. 773–*783.*

**РЕЦЕПТОРЫ К ЛИПОПРОТЕИДАМ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ, ИХ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ, КАК ПРИЧИНА РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА.**

*Устинова А. Д., Богданова С. А., Сукманюк Е. О.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева Е.Н*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Атеросклероз - процесс, лежащий в основе большинства заболеваний сердечно-сосудистой системы. Хорошо известно, что смертность от сердечно-сосудистых заболеваний занимает лидирующее место в общей структуре смертности в любой развитой стране.

Статистика показывает, что с каждым годом процент заболеваемости атеросклерозом увеличивается среди молодого поколения. Весомую роль в развитии атеросклероза играет генетический фактор. Вся наследственная патология определяется грузом мутаций, вновь возникающих и унаследованных из предыдущих поколений.

В последние годы удалось выяснить, как холестерин осуществляет контроль над синтезом ЛПНП-рецептора на уровне транскрипции. Установлено, что снижение содержания холестерина в клетке стимулирует протеолиз N-терминального фрагмента белка, связанного с мембраной эндоплазматического ретикулума. Данный белок обозначают как SREBP (sterol regulatory element binding protein). Освободившись от мембраны SREBP эндоплазматического ретикулума, мигрирует в ядро клетки, где связывается с так называемым стерин-регулирующим элементом, находящимся в промоторе гена рецептора и запускает синтез последнего.

Синтезированный рецептор направляется к клеточной мембране и встраивается в неё. Затем рецептор осуществляет захват ЛПНП, пополняя таким образом клетку холестерином. Как только содержание холестерина превысит определённый уровень, происходит ингибирование протеолиза белка, связанного с мембраной эндоплазматического ретикулума, и освобождение SREBP не происходит. Холестерол регулирует синтез ЛПНП-рецепторов гепатоцита.

Важно отметить, что SREBP активирует также ген синтетазы ГМГ-КоА-редуктазы - ключевого фермента биосинтеза холестерола. Таким образом, при недостатке холестерола в клетке при участии SREBP активируются 2 процесса, ведущие к пополнению клетки необходимым количеством холестерола: синтез ЛПНП-рецепторов (поступление холестерина извне) и синтез синтетазы ГМГ-КоА-редуктазы (образование собственного холестерола). Другими словами, клетка имеет двойную надежную регуляция клеточного холестеринового гомеостаза.

При патологии рецепторного взаимодействия развивается ГХС (гиперхолестеринемия) и гипербета-липопротеидемия, для которых характерно быстрое прогрессирование атеросклероза. Наиболее ярко это проявляется при наследственной семейной ГХС. Частота обнаружения гетерозиготной формы в популяциях составляет 1 на 500 человек. Особенно тяжелые и ранние формы коронарного атеросклероза характерны для гомозигот. При недостаточности ЛПНП-рецепторов не только повышается уровень ЛПНП, но и продлевается время циркуляции этих ЛП, что способствует образованию изменённых, модифицированных форм ЛПНП, обладающих высокой атерогенностью.

Среди многочисленных мутаций в гене рецептора ЛПНП большая часть обусловлена крупномасштабными делециями или перегруппировками, остальные являются результатом делеции одной или нескольких пар нуклеотидов, реже инерции или представляют собой точковые нуклеотидные замены. Всё многообразие мутаций в гене рецептора ЛПНП подразделяют на пять основных классов*.*

Первая разновидность составляют мутации, при наличии которых не образуется иммунодектируемый белок. Это так называемые нуль-аллели. Значительная часть нуль-аллелей отличаются пониженной концентрацией мРНК рецептора ЛПНП в клетках больных. Встречаются также пациенты, в клетках которых соответствующие мРНК вообще не образуется.

Мутации второго класса приводит к замедленному транспорту рецепторного белка из эндоплазматического ретикулума к мембране клетки. Это связано с нарушением превращения незрелого белка в зрелую форму. Дефектный белок имеет неправильную пространственную укладку полипептидной цепи и не достигает при процессинге аппарата Гольджи, деградируя в эндоплазматическом ретикулуме.

При мутациях третьего класса рецептор нормально синтезируется и транспортируется на клеточную поверхность, но он обладает пониженной способностью связывать ЛПНП, однако при этом сохраняет в большинстве случаев способность взаимодействовать с ЛПОНП.

Для мутаций четвёртого класса характерно образования дефектного рецептора, который не обладает способностью формировать кластеры в окаймленных клатрином ямках, что препятствует внедрению внутрь клетки связанных с рецепторами ЛПНП.

При пятой разновидности мутаций образуется укороченный белок ЛПНП-рецептора, который не может в полной мере выполнять свои функции, что приводит к деградации рецептора.

Напомним, что при участии апо E, B-рецепторов осуществляется захват не только ЛПНП, но и ЛППП. Поэтому активное функционирование этих рецепторов лимитирует превращение ЛППП в ЛПНП. При недостаточности рецепторов происходит, с одной стороны, накопление ЛППП в крови и с другой- более значительно их превращение в ЛПНП, что также способствует прогрессированию ГХС.

Применительно к мультифакториальным заболеваниям наибольшее практическое значение имеет анализ полиморфизмоф генов-кандидатов, представляющих собой отклонения последовательности ДНК, в относительно разной степени влияющие на функции кодируемых белков-ферментов.

Полиморфные гены представлены в популяции несколькими разновидностями – аллелями, которые могут быть как протективными, так и аллелями генов высокого риска. Чаще всего мутантные аллели существенно влияют на риск заболевания только в присутствии определенных факторов внешней среды, модифицировав или исключив которые можно существенно снизить вероятность развития патологии.

Эффективность изучения генов, участвующих в патогенезе многофакторных заболеваний, к числу которых относится и атеросклеротическое поражение сосудов, осложняется большим количеством генов-кандидатов и комплексным взаимодействием генетических и средовых факторов. Тем не менее, уже к настоящему времени идентифицирован полиморфизм десятков генов, претендующих на роль генетических маркеров атеросклероза.

К генетическим факторам риска атеросклероза относятся, прежде всего, изменение генов белков, связанных с регуляцией метаболизма липидов. Разнообразные дефекты генов, контролирующих структуры и функцию сосудистой стенки, а также генов, отвечающих за агрегацию тромбоцитов, воспаление, артериальную гипертензию также ведут к развитию атеросклероза.

К настоящему времени изучены множество генов, экспрессия которых играют роль в патогенезе атеросклероза.

Наиболее часто изучаемы гены-кандидаты атеросклероза:

* Гены воспаления: ген CRP; локализация 1q 22, 2; ассоциирован с атеросклерозом, позволяет предсказывать повторный инфаркт миокарда.
* Гены обмена липопротеинов: LPL; 8p 21, 2; ассоциированы с повышенными уровнями АРОС3 и триглицеридов в плазме, с пониженными уровнями ЛПВП и увеличением риска ИБС.
* Гены метаболизма жировой ткани: ADRB3; 8p 11, 23; ассоциирован с повышением уровня триглицеридов плазмы, ожирением и гипертонией.
* Гены вазоконстрикция и вазодилатация.

Не вызывает сомнения, что дальнейшее наиболее перспективное изучение роли генетических полиморфизмов патологии ССС может быть связано с поиском и изучением молекулярных регуляторов экспрессии генов.

Благодаря использованию новейших методов ДНК–тестирования стало возможным получать информацию о генетической предрасположенности к развитию такого заболевания, как гиперхолестеринемия, которое приводит к развитию атеросклероза.

Таким образом, данная проблема остается актуальной. Современные научные разработки направлены на раннюю диагностику, профилактику и лечение наследственных патологий, связанных с нарушением липидного обмена.

Литература

1. Нарушения липидного обмена / Питер П. Тот, Кевин К. Мэки ; пер. англ. под ред. В.В Кухарчука. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 272с.
2. Ожирение и нарушение липидного обмена / Генри М. Кроненберг, Шломо Мелмед, Кеннет С. Полонски, П. Рид Ларсен; пер. с англ. Под ред. И. И. Дедова, Г. А. Мельниченко. – М. : ООО «Рид Элсивер», 2010. – 264 с.

Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения: руководство для врачей / Климов А. Н., Никульчева Н. Г. – СПб: Питер Ком, 1999. – 512

**МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ САХАРНОГО ДИАБЕТА ВТОРОГО ТИПА**

*Пархета К. А., Шукшин Д. В.*

*Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В.;*

*зав. кафедрой, д.м.н., проф. Кузьмин О.Б.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Сахарный диабет является одной из проблем современного здравоохранения. По данным Международной диабетической федерации, в настоящее время в мире СД болеют около 366 млн человек, большую часть из которых составляют пациенты с сахарным диабетом второго типа (СД2). На 01.01.2015г. в Российской Федерации число больных сахарным диабетом 2 типа составляет 3,7 млн чел. С каждым годом число таких больных стремительно увеличивается и наблюдается тенденция к омоложению возраста дебюта. В связи с этим возникает острая необходимость в изучении генетических вариантов, приводящих к возникновению СД2 типа. Патогенез СД2 связан с дисфункцией β-клеток с уменьшением секреции инсулина, снижением массы β-клеток, усилением секреции глюкагона, уменьшением инкретинового ответа, повышением продукции глюкозы в печени, усилением реабсорбции глюкозы, активацией процессов липолиза, снижением захвата глюкозы мышцами, дисфункцией нейротрансмиттеров [1].

Благодаря  достижениям молекулярной генетики, известно более 100 генетических вариантов, связанных с развитием СД2 [2]. Наибольший интерес представляют полногеномные исследования. Данный метод обладает высокой статистической мощностью, воспроизводимостью и надежностью результатов. Несмотря на то, что он позволяет обнаруживать сравнительно слабые ассоциации с относительным риском (OR) не менее 1,1–1,2, метаанализы первой волны полногеномных исследований показали, что генетическая предрасположенность к многофакторным заболеваниям не всегда объясняется распространенными полиморфизмами, и для поиска этиологических вариантов требуется дальнейшее исследование и секвенирование участков генома, выявленных в ходе полногеномных исследований.

В настоящее время лишь для небольшого количества генов определен продукт гена (белок), изменения в ко­тором лежат в основе молекулярных механизмов дисфункции β-клеток [2]. Так, ген CDKAL1 кодирует сериновую/треониновую протеазу. Предполагается, что продукт гена CDKAL1 играет роль ингибитора активности киназы (CDK5), участвующей в дегрануляции гранул инсулина. Кластер генов CDKN2А/CDKN2B кодируют ингибиторы тирозиновых киназ (CDK4 и CDK6). Ингибиторы циклинзависимых киназ входят в семейство белков, участвующих в регуляции клеточного цикла, пролиферации и дифференциации клеток, вклю­чая β-клетки.

Проведенные исследования показали, что уменьшение количества и регенеративного потенциала β-клеток при старении, приводящее к общему снижению эндокринной функции поджелудочной железы, ассоциировано с ге­ном CDKN2А [2]. Ген SLC30A8 кодирует трансмембранный белок-транспортер ионов цинка типа 8 (ZnT-8). Наибольший уровень экспрессии этого гена наблюдается именно в β-клетках. ZnT-8 выполняет функцию канала, через который ионы Zn2+ поступают в секреторные везикулы. Внутри везикул ионы Zn2+ образуют комплекс с инсулином, в результате чего инсулин приобретает гексамерную структуру. Таким образом, каналы транспорта ионов цинка играют важную роль в регуляции созревания, хранения и секреции инсулина β-клетками, а наличие полиморфного маркера rs13266634 гена SLC30A8 повышает риск развития СД2 на 15% (OR~1,15). Ген IGF2BP2 кодирует белок, связывающий мРНК инсулиноподобного фактора роста 2 (IGF2). В 99% случаев продукт гена IGF2BP2 образует комплекс с мРНК гена IGF2, что резко ускоряет деградацию молекул мРНК гена IGF2 и, таким образом, снижает регенерацию β-клеток. Предполагается, что ген IGF2 непосредственно влияет на выживание β-клеток. Другой ген –HHEX– кодирует транскрипционный фактор, экспрессия которого наблюдается на эмбриональной стадии в вентролатеральной части передней кишки, из которой в дальнейшем образуются поджелудочная железа и печень. Наличие полиморфного маркера rs1111875 этого гена увеличивает риск развития СД2 на 15%. Ген IDE кодирует белок инсулиназу – фермент, расщепляющий инсулин и участвующий в процессах деградации инсулина и других пептидных гормонов. Ген KCNQ1 кодирует α-субъединицу канала транспорта ионов калия. Возможный механизм действия связан с нарушением деполяризации клеточной мембраны и уменьшением секреции инсулина, однако точный молекулярный механизм не изучен. Ген WSF1 – ген вольфрамина, кодирует трансмембранный белок мембран эндоплазматического ретикулума. Он участвует в регуляции гомеостаза ионов кальция. Нарушения в структуре белка могут приводить к нарушению кальциевого гомеостаза, что, в свою очередь, приводит к нарушению секреции инсулина β-клетками. Полиморфный маркер rs1801214 гена WSF1 ассоциирован с развитием СД2 (OR~1,13). Мутации в этом гене описаны давно и приводят к развитию синдрома Вольфрама (аутосомно-рецессивно наследуемый синдром, проявляющийся СД, прогрессирующей атрофией зрительного нерва, нейросенсорной тугоухостью и центральной формой несахарного диабета). В последние годы активно изучается влияние мелатонина на углеводный обмен. Секреция мелатонина – нейрогормона, регулирующего циркадианный ритм, минимальна в течение светового дня и максимальна ночью (в противоположность секреции инсулина). Ген MTNR1B кодирует рецептор мелатонина 1В. Рецепторы к мелатонину обнаружены в человеческом мозге, сетчатке и островках поджелудочной железы. Было показано, что однонуклеотидный полиморфизм rs10830963 гена MTNR1B достоверно связан с повышением уровня глюкозы натощак и снижением секреции инсулина[2].

Таким образом, существует множество генетически обусловленных вариантов, связанных с развитием СД2 типа, которые эффективнее всего определяют с помощью полногеномных исследований. Результаты генетических исследований способствуют выявлению и раскрытию ключевой роли белков, участвующих в метаболизме глюкозы. Точный молекулярный механизм влияния генов на развитие СД2 окончательно не установлен. Раскрытие этих механизмов поможет понять основы патофизиологии СД2, выявлять группы людей с высоким риском заболевания; определенно, появятся новые возможности в лечении и профилактике заболевания.

Литература

1. Бондарь И.А. Генетические основы сахарного диабета 2 типа/ И.А. Бондарь, О.Ю. Шабельникова // Сахарный диабет.-2013.- Т. 16, № 4.- С.11-16
2. Дедов И.И. Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика/ И.И. Дедов, М.В. Шестакова // - М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агенство», 2011.- 808с.
3. Дедов И.И. Инициация и интенсификация сахароснижающей терапии у больных сахарным диабетом 2 типа: обновление консенсуса совета экспертов Российской ассоциации эндокринологов (2015 г.) / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, А.С. Аметов, М.Б. Анциферов, Г.Р. Галстян А.Ю. Майоров А.М. Мкртумян, Н.А. Петунина, О.Ю. Сухарева // Сахарный диабет.- 2015;(1):-C. 5-23

**НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ СИНТЕЗА**

**СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У ДЕТЕЙ НА ПРИМЕРЕ СИНДРОМА МАРФАНА**

*Баязитова Г. И., Мажарова В. В.*

*Научный руководитель: ст. преподаватель, к.б.н. Гирина Л. В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Моногенные формы наследственных нарушений соединительной ткани (ННСТ) и диcплазии соединительной ткани (ДСТ) полигенно-многофакторной природы достаточно распространены в популяции. Однако, несмотря на высокий уровень современных молекулярных технологий, уточнение их нозологической формы на сегодня по-прежнему остается отдаленной перспективой. Уточнение частоты встречаемости ДСТ затруднено отсутствием единой терминологии, унифицированных критериев диагностики, а также практической недоступностью современных молекулярно-генетических методов для выявления данной гетерогенной патологии.

На сегодня имеется 7 нозологических форм, для которых согласованы международные критерии диагностики: синдром Марфана, синдром Элерса-Данло, синдром гипермобильности суставов, несовершенный остеогенез, пролапс митрального клапана, семейный синдром марфаноидной внешности, MASS-синдром [1].

Синдром Марфана (СМ) - ННСТ, ведущим проявлением которого являются расширение аорты, эктопия хрусталика, разнообразные скелетные аномалии. Тип наследования - аутосомно-доминантный с высокой пенетрантностью и различной экспрессивностью. Частота диагностированных случаев 1 : 5000-1 : 10 000-15 000, тяжелых форм - 1 : 25 000-1 : 50000 новорожденных. Мужчины и женщины поражаются с одинаковой частотой [2].

Молекулярной основой заболевания является нарушение синтеза одного из белков соединительной ткани - фибриллина, который в норме придает ей эластичность и сократимость. При СМ вследствие дефицита фибриллина или его аномального строения соединительная ткань обладает повышенной растяжимостью и теряет способность выдерживать физиологические нагрузки. Ген фибриллина-1 располагается на длинном плече хромосомы 15, и картирован в локусе 15q21. Мономеры фибриллина-1, образованные аномальным геном, нарушают полимеризацию фибриллина-1 и препятствуют образованию микрофибрилл. Механизм блокирования образования микрофибрилл различен при различных мутациях. Это и объясняет фенотипический. полиморфизм СМ. Синтез мутантного фибриллина 1 тормозит образование нормальных микрофибрилл нормальным фибриллином 1 или стимулирует протеолиз несоответствующих внеклеточных микрофибрилл. Более того, микрофибриллы фибриллина 1 в норме связывают и уменьшают концентрацию и активность факторов роста суперсемейства TGFb. Потеря фибриллина 1 увеличивает сигналы свободного TGFb значительно содействующие заболеванию [3].

Фибриллины являются основным компонентом соединительной ткани. Они входят в состав микрофибриллярных протеинов, формирующих основу эластина. Фибриллин - большой гликопротеин, входит в семейство фибронектина. Он является структурным компонентом микрофибрилл, толщиной 10-20 нм, которые возникают раньше эластина и обеспечивают образование и ориентацию эластиновых волокон. Фибриллин 1 полимеризуется, формируя микрофибриллы как в эластичных, так и в неэластичных тканях, например стенке аорты, цилиарных поясках и коже.

Поскольку фибриллин находится в соединительной ткани различных органов, симптоматика СМ многосистемна и разнообразна. При этом наиболее часто наблюдается сочетанное поражение сердечно-сосудистой системы, скелета и органа зрения. Выявляются арахнодактилия, долихостеномелия и тенденция к увеличению длины тела, массы тела, долихоцефалическая форма черепа, узкое лицо, аркообразное небо, гипоплазия мышц и подкожной клетчатки, тенденция к гиперрастяжимости кожи, моторная неловкость движений. Характерны деформации грудной клетки (килевидная, воронкообразная), аномалии позвоночника (сколиоз, кифоз, ювенильный остеохондроз, нестабильность шейного отдела), вывихи голеностопных суставов и плоскостопие. Практически у всех больных наблюдается поражение крупных сосудов и сердца [5].

Особое диагностическое значение имеет расширение или аневризма аорты, а также нарушения органов зрения, бедренные или паховые грыжи, варикозное расширение вен нижних конечностей, повышенная кровоточивость, висцероптоз, эмфизема легких, спонтанный пневмоторакс.Диагностика СМ основывается на Гентских критериях DePaepe A. etal. (1996) , пересмотренных Loeys A. etal. (2010).

Для синдрома Марфана недоступно эффективное лечение; следовательно, помощь сфокусирована на профилактике осложнений и симптоматическом лечении. Оказание офтальмологической помощи включает регулярные осмотры, коррекцию миопии и, часто, замену хрусталика. Ортопедическая помощь заключается в укрепляющем лечении или хирургической коррекции сколиоза. Помощь при аномалии грудины в основном косметическая. Физиотерапия может компенсировать нестабильность суставов. Сердечно-сосудистые проблемы решаются комбинацией терапевтических и хирургических мероприятий. Терапевтические усилия направлены на предохранение или замедление развития расширения корня аорты за счет уменьшения кардиологических показателей, снижения артериального давления и усилия выброса желудочков с помощью бета-адреноблокаторов, ограничение участия в контактных видах спорта, соревновательных видах спорта и в изометрических упражнениях [6].

Диагностика и лечение ННСТ - один из самых сложных разделов медицинской науки и педиатрии в частности. Благодаря научно-технической революции в генетике для многих моногенных ННСТ с четким фенотипом и установленным типом наследования идентифицированы сотни мутаций и предложены новые перспективные методы молекулярной диагностики.

Литература

1. Кильдиярова Р.Р., ред. Соединительная ткань при патологии. - Ижевск: ИГМА, 2011.
2. Faivre L, Collod-Beroud G, Child A, et al. Contribution of molecular analyses in diagnosing Marfan syndrome and type I fibrillinopathies: an international study of
3. 1009 probands. J Med Genet. 2008;45(6):384-390. doi: 10.1136/jmg.2007.056382.
4. Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. J Med Genet. 2010;47(7):476-485. doi: 10.1136/jmg.2009.072785.
5. Kono AK, Higashi M, Morisaki H, et al. Prevalence of dural ectasia in Loeys-Dietz syndrome: comparison with Marfan syndrome and normal controls. PLoS
6. One. 2013;8(9): е 75264.
7. Mattioli AV, Aquilina M, Oldani A, et al. Atrial septal aneurism as a cardioembolic source in adult patients with stroke and normal carotid arteries. Eur Heart J.2001;22(3):261-268. doi: 10.1053/euhj.2001.2293.
8. Научно-практический журнал «Педиатр» 2016, том 7 ,выпуск 2 ISSN 2079-7850
9. Наследственные нарушения соединительной ткани// Российские рекомендации. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2009. - № 8 (6, Приложение 5).

**НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ФЕНИЛАЛАНИНА**

*Горохов Е. А.*

*Научный руководитель: ст. преподаватель, к.б.н Гирина Л.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский Государственный Медицинский Университет*

Наследственные нарушения обмена белка – это большая группа заболеваний, которые вызваны перестройками и нарушениями в генетическом материале организма – хромосомах и генах,и как следствие влекущие за собой расстройства метаболизма.

Фенилкетонурия (ФКУ) – генетическое заболевание метаболического обмена, связанное с нарушением метаболизма аминокислот, главным образом фенилаланина (ФА).

В России по данным неонатального скрининга частота фенилкетонурии составляет 1:7000 и колеблется по регионам от 1:4735 в Курской области до 1:18000 в Республике Тыва.В Санкт-Петербурге частота ФКУ 1:7600 новорожденных,в Москве 1:6772. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу.

Различают две формы ФКУ:

•Классическая ФКУ - наследственное заболевание, связанное с мутациями в гене фенилаланингидроксилазы (ФАГ), которые приводят к снижению активности фермента или полной его инактивации, ведущим к накоплению фенилаланина и продуктов его распада в биологических жидкостях. Локализуется на длинном плече хромосомы 12, участке 12q22- q24. ФА выше 20 мг/дл.

•Птерин-зависимая ФКУ (тип II, III и др.) составляет около 2% всех случаев ГФА. Эти состояния обусловлены дефицитом ферментов, участвующих в синтезе или восстановлении тетрагидробиоптерина (ВН4),являющегося кофактором ФАГ, а также тирозингидроксилазы и 9 триптофангидроксилазы. Птерин-зависимые формы ФКУ имеют сходные с классической ФКУ клинические проявления. При этих формах основную роль в патогенезе играет резкая недостаточность нейромедиаторов катехоламинового и серотонинового ряда, что делает изолированную диетотерапию бесперспективной и требует иного принципа лечения. Также в комплекс лечения больных ФКУ II типа, помимо диеты с ограничением ФА, входят препараты L-дофы (10-15 мг/кг/сут) в сочетании с карбидофой (1-1,5 мг/кг/сут), 5-окситриптофан (10 мг/кг/сут), 5- формилтетрагидрофолат в средней дозе 25 мг/сут. Дополнительно назначается тетрагидробиоптерин (10-20 мг/кг/сут) . Ген PTS расположен на длинном плече хромосомы 11в районе q22.3-23.3. ФА 10,1 - 20 мг/дл.

Механизм действия классической ФКУ основан на метаболической блокаде превращения фенилаланина в тирозин. В результате происходит значительное накопление фенилаланина и его токсических метаболитов (фенилпировиноградной, фенилмолочной, фенилуксусной кислот, фенилэтиламина и др.) в биологических жидкостях больного, что оказывает токсическое действие на центральную нервную систему токсическое действие на клетки мозга, ограничивается транспорт тирозин и триптофана через гематоэнцефаличеекий барьер и тормозят синтез нейромедиаторов (дофамина, норадреналина, серотонина),что ведет к тяжелым неврологическим нарушениям. Для больных фенилкетонурией характерна вялость с редкими вспышками злобы и раздражительности.

Первыми проявлениями болезни служат вялость ребенка, отсутствие интереса к окружающему, иногда повышенная раздражительность, беспокойство, срыгивания, нарушение мышечного тонуса (чаще мышечная гипотония), судороги, признаки аллергического дерматита. Отчетливо формируется задержка статикомоторного и психоречевого развития, возможно формирование микроцефалии и гидроцефалии. Характерны такие фенотипические особенности как гипопигментация кожи, волос, радужной оболочки глаз. Обращает внимание своеобразный «мышиный» запах мочи больных. Эпилептические приступы, умственная отсталость достигает, как правило, глубокой степени, IQ составляет около 20 единиц (норма 85-115 единиц). В психологическом статусе больных отмечают нарушение игровой и предметной деятельности, отсутствие дифференцировки эмоциональных реакций, недостаточность экспрессивной и импрессивной речи. Могут наблюдаться двигательные стереотипии, насильственные движения, психопатоподобные или шизофреноподобные нарушения.

Биохимические методы диагностики основаны на обнаружение патологических метаболитов в моче, определение концентрации фенилаланина в крови (тест Гатри) и моче, хроматография, флюориметрия, тест толерантности к фенилаланину, рестрикционного анализа и ПЦР, неонатальный скрининг для обнаружения гиперфенилаланинемии (тандемная масс-спектрометрия). Главным критерием диагностики ГФА является повышенное содержание фенилаланина в крови, нормальный уровень которого в крови у здоровых людей составляет 0-2 мг/дл.

Патогенетически обоснованный и наиболее эффективный метод лечения классической ФКУ – диетотерапия. Ее основной целью является предупреждение развития повреждения ЦНС, нарушений физического и интеллектуального развития. Диетотерапия должна быть начата не позднее первых недель жизни ребенка. Дефицит белка восполняется аминокислотными смесями без фенилаланина. Из питания исключают продукты с высоким содержанием белка (соответственно и фенилаланина): мясо, мясопродукты, рыбу, рыбопродукты, творог, яйцо, бобовые, орехи, шоколад и др. Допустимые в диете натуральные продукты, такие как женское молоко, детские молочные смеси (для детей в возрасте до 1 года), овощи, фрукты и некоторые другие продукты с низким содержанием белка вводят в соответствии с подсчетом содержащегося в них фенилаланина. В зависимости от переносимости пищевого фенилаланина допустимое и безопасное количество его в сутки составляет от 90 до 35 мг/кг массы тела для детей первого года жизни. В питании детей старше года допустимое количество ФА постепенно снижается от 35 до 10 мг/кг массы тела ребенка.

При организации диетотерапии необходимо учитывать:

- клиническую форму заболевания;

- уровень ФА в крови;

- возраст ребенка;

- нутритивный статус (физическое развитие);

- толерантность ребенка к пищевому ФА;

- количество ФА и натурального белка,получаемого с пищей;

- количество основных пищевых веществ и энергии в лечебном рационе.

Опасность заболевания – вызывает необратимые процессы изменения тканей головного мозга ,ведущий к идиотии и имбецильности .

Профилактику фенилкетонурии можно разделить на три уровня.

I. Проспективное медико-генетическое консультирование пар, планирующих беременность с рекомендацией обследования на гетерозиготное носительство частых мутаций в гене РАН. При выявлении 27 ФКУ в семье – обследование родственников для уточнения гетерозиготного носительства мутации.

II. В семье, где имеется ребенок с ФКУ, при следующей беременности проведение пренатальной диагностики для уточнения наличия патологии у плода.

III. Проведение неонатального скрининга с практическим охватом 100% новорожденных, позволяющего рано выявить заболевание,своевременно начать лечение и избежать тяжелых проявлений патологии.

Прогноз заболевания: Прогноз состояния и уровня психического развития больных зависит от многих факторов: формы заболевания и связанной с ней тяжести энзимного дефекта, сроков начала и адекватности специализированного лечения. Для классической ФКУ, выявленной в первые недели жизни ребёнка, при соблюдении рекомендаций врачей по лечению, прогноз по заболеванию благоприятный.

Литература

1. Анненков Г.А. Фенилкетонурия и гиперфенилаланинемия: клинико-генетическая классификация 14 форм // Ж. невропатол. и психиатр.-1984.
2. Барашнев Ю.И. Питание в лечении наследственных заболеваний обмена веществ у детей // Теоретич. и практич. аспекты изучения питания человека.- М.,1980.
3. Барашнева С.М.,Ладодо К.С. Возможности диетотерапии детей с наследственными заболеваниями обмена веществ // Специализир. помощь детям с насл. патологией: Сб. науч. трудов Моск. НИИ педиатрии и детской хирургии.- 1981, вып.16.
4. Блюмина М.Г., Лебедев Б.В., Копылова Н.В., Ситченко Е.И., Герасимова Н.С. Зависимость тяжести поражения мозга при фенилкетонурии от степени гиперфенилаланинемии // Ж. невропатол. и психиатрии им. С.С. Корсакова.- 1980, вып. 12.
5. И.Бочков Н.П., Захаров А.Ф., Иванов В.И. Медицинская генетика.- М.: Медицина, 1984.

**ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЛКОВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ НА ПРИМЕРЕ ВРОЖДЕННЫХ ЭНЗИМОПАТИЙ**

*Медведева Ю.А., Завацкая Е.Г.*

*Научный руководитель: к.б.н., Е.Н. Лебедева*

*Кафедра биохимии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Появление при патологических процессах в клетках организма новых «аномальных» белков, которые плохо поддаются деградации путем внутриклеточного протеолиза это один из возможных путей образования амилоида в клетке (молекулярные болезни накопления). Молекулярные болезни накопления «аномальных» белков, их внутриклеточная полимеризация тесным образом связана с явлением патологической белковой инженерии. В результате образуются новые, не свойственные клеткам данного организма белки. В частности, патологические изменения естественного белковой инженерии может являться одной из форм молекулярной патологии клеток организма при дегенеративных заболеваниях внутренних органов. Возникновение «аномальных» молекулярных форм ферментов в клетке также может возникать в результате патологической белковой инженерии. Это особые формы аномальных энзимопатии, связанные с появлением совершенно новых молекулярных форм ферментов, которые не свойственны в физиологических условиях конкретной клетке организма.

Следует отметить, что энзимопатии в клетке могут быть, как минимум трех основных видов:

1. Энзимопатии, связанные с уменьшением определенного количества конкретных молекулярных форм фермента.

**Нарушение образования конечного продукта.**

**Например, а) при** **альбинизме** **имеет место недостаточность фермента** **тирозингидроксилазы** **(тирозиназы), что нарушает синтез меланина. Наблюдается слабая пигментация кожи, волос, красноватый цвет радужки. б) недостаток катехоламинов при** **паркинсонизме.**

2. Энзимопатии, связанные с увеличением определенного количества конкретных молекулярных форм фермента.

**Накопление субстратов предшественников. Имеет место при** **алкаптонурии** **– нарушении активности фермента окисления гомогентизиновой кислоты –** **диоксигеназы гомогентизиновой кислоты. Гомогентизиновая кислота – промежуточный метаболит катаболизма тирозина. При этом заболевании её уровень растёт и увеличивается выделение с мочой. В присутствии кислорода воздуха гомогентизиновая кислота превращается в соединение чёрного цвета – алкаптон.** **Фенилкетонурия, связана с дефектом** **фенилаланин-4-монооксигеназы, которая превращает фенилаланин в тирозин. В результате накапливаются аномальные метаболиты фенилаланина, оказывающие сильный токсический эффект. Заболевание** **подагра** **связано с дефектом ферментов метаболизма пуриновых оснований и накоплением мочевой кислоты, свободного билирубина при** **желтухах новорожденных, некоторых жиров при болезнях лизосомального накопления (липидозы). Кроме указанных, распространенными первичными энзимопатиями являются** **галактоземия, лактазная и сахаразная недостаточность.**

3. Энзимопатии, связанные с появлением аномальных молекулярных форм фермента.

**Нарушение образования конечных продуктов и накопление субстратов предшественников. Например, при** **гликогенозах, сопровождающихся гипогликемией при избытке гликогена в печени. В частности – при** **болезни Гирке** **(гликогеноз Iа типа) наблюдается гипогликемия (снижение уровня глюкозы в крови) в перерывах между приёмами пищи. Это связано с нарушением распада гликогена в печени вследствии нарушения фермента** **глюкозо-6-фосфат фосфатазы** **и накоплением гликогена в клетках печени (гепатомегалия).**

Достижения энзимологии находят все большее применение в медици- не, в частности в профилактике, диагностике и лечении болезней. Успешно развивается новое направление энзимологии – медицинская энзимология. Выделяются три её главных направления: 1) изучение энзимопатологий (эн- зимопатий), то есть таких болезней, причина которых лежит в недостаточно- сти или полном отсутствии какого-либо фермента; 2) энзимодиагностика, то есть использование ферментов в качестве избирательных реагентов для от- крытия и количественного определения нормальных или аномальных хими- ческих веществ в биологических жидкостях или открытие и количественное определение самих ферментов в биологических жидкостях при патологиях; 3) энзимотерапия, т.е. использование ферментов и модуляторов (активаторов и ингибиторов) действия ферментов в качестве лекарственных средств.

**МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ И ЕГО ПАТОЛОГИЯ**

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КЛЕТОЧНОГО ВЫЖИВАНИЯ: РОЛЬ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА, МИТОХОНДРИЙ И ПРОТЕАСОМ В ПРОЦЕССАХ АПОПТОЗА И АУТОФАГИИ**

*Астафьев Б.В.1, Тараканова Ю.Е.1, Гатиатулина Е.Р.1,2, Цейликман В.Э.2, Никоноров А.А.1*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

*Южно-Уральский государственный медицинский университет*

Апоптоз и аутофагия являются важнейшими процессами в жизни клеток, определяющими их судьбу как в норме, так и при различных патологических процессах. Аутофагию принято считать защитным механизмом клетки в случае повреждения, однако, в случае пролонгированного стресса или фатального повреждения каскадные механизмы данного процесса приводят к гибели клетки [5; 6].Последние исследования в данной области показали сложную взаимосвязь между ними, например, когда аутофагия блокирует каспазный механизм активацииапоптоза [6]. Также известно, что регуляторные белки апоптоза могут индуцировать аутофагию[6]. Однако, механизмы данных процессов все еще остаются недостаточно изученными. В настоящее время существует множество теорий, объясняющих гомеодинамические процессы внутри клетки и большинство исследователей сходятся во мнении, что регулирование и «принятие решения о жизни и смерти» клетки осуществляется работой эндоплазматического ретикулума (ЭР), митохондрий и протеасом [4].Причем, основополагающую роль играют колебания концентрации активных форм кислорода (АФК), ионов кальция и мембранного потенциала митохондрий [4; 4]. В настоящее время роль АФК вданных процессах активно обсуждается.

ЭР представляет собой органеллу, основными функциями которой является синтез и фолдинг различных белков, синтез липидов, создание внутриклеточного резерва ионов кальция и т.д. [3]. Известно, что нарушения процесса фолдинга лежат в основе многих заболеваний и, соответственно, процесс удаления белков с патологической конформацией является ключевым в жизни клеток [3]. Накопление измененных белков в ЭПР ведет кэндоплазматическому стрессу (ЭПС) и активации убиквитин-протеасомногопротеолиза и аутофагии. Протеасомы тесно связаны с ЭПР и их основной функцией является разрушение поврежденных белков с участиемубиквитина и E3убиквитинлигазы.[1].При чем, известно, что окислительный стресс является регулятором активности протеасом. Так, умеренный стресс активирует работу 26S протеасом, в то время как длительное и сильное воздействие АФК вызывает диссоциацию субъединиц [2]. Митохондрии же в данном случае тесно связаны с ЭПР, протеасомами и способны формировать с ними единую сеть, тонко реагирующую на различные внешние и внутренние факторы [4]. Известно, что они являются основным источником АФК в клетке, которые помимо повреждающих свойств также являются сигнальными молекулами, обеспечивающими поддержание гомеостаза и адаптацию к стрессу [8, 9].

Таким образом, митохондрии, ЭР и протеасомы являются ключевыми клеточными органеллами, обеспечивающими сложную и многокомпонентную реакцию клетки на стресс и поддерживающие ее гомеодинамическое состояние. При этом, активация различных сигнальных путей в итоге приводит или каутофагии и выживанию клетки, или к запуску апоптоза и ее гибели.

Литература

1. Adams, J. The proteasome: Structure, function, and role in the cell. Cancer Treat. Rev. 2003, 29, 3–9. 64.

2. Aiken, C.T.; Kaake, R.M.; Wang, X.; Huang, L. Oxidative stress-mediated regulation of proteasome complexes. Mol. Cell. Proteom. 2011, 10, R110.006924, doi:10.1074/mcp.M110.006924.

3. Braakman, I.; Bulleid, N.J. Protein folding and modification in the mammalian endoplasmic reticulum. Annu. Rev. Biochem. 2011, 80, 71–99.

4. Chirumbolo, S., Bjørklund, G., 2017. PERM Hypothesis: The Fundamental Machinery Able to Elucidate the Role of Xenobiotics and Hormesis in Cell Survival and Homeostasis. Int. J. Mol. Sci. 18, 165. doi:10.3390/ijms18010165

5. Fulda, S., Gorman, A.M., Hori, O., Samali, A., 2010. Cellular stress responses: Cell survival and cell death. Int. J. Cell Biol. 2010. doi:10.1155/2010/214074

6. Mukhopadhyay, S., Panda, P.K., Sinha, N., Das, D.N., Bhutia, S.K., 2014. Autophagy and apoptosis: Where do they meet? Apoptosis 19, 555–566. doi:10.1007/s10495-014-0967-2

7Orrenius, S., Gogvadze, V., Zhivotovsky, B., 2015. Calcium and mitochondria in the regulation of cell death. Biochem. Biophys. Res. Commun. 460, 72–81. doi:10.1016/j.bbrc.2015.01.137

8. Sena, L.A., Chandel, N.S., 2012. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. Mol. Cell 48, 158–166. doi:10.1016/j.molcel.2012.09.025

9. Shadel, G.S., Horvath, T.L., 2015. Mitochondrial ROS Signaling in Organismal Homeostasis. Cell 163, 560–569. doi:10.1016/j.cell.2015.10.001

**ПОВРЕЖДЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА КАК ОСНОВА ВОЗНИКНОВЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

*Сагандыкова А.К*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н., С. Н. Афонина*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Митохондриальные болезни – клинически гетерогенная группа заболеваний, развивающихся при нарушении работы комплексов дыхательной цепи митохондрий – главного конечного пути аэробного метаболизма.

В результате аномалий, возникающих в их комплекса, скорость синтеза АТФ снижается, продукция активных форм кислорода усиливается, активизируются механизмы запрограммированной гибели клеток, включая апоптоз, аутофагию и некрозоподобные изменения. Все это приводит к подавлению энергоемких процессов, повреждениям мембранных структур свободными радикалами с последующим высвобождением цитохромасиз митохондрий в эндоплазматический ретикулум, что усиливает выход Ca2+ , ионы которого стимулируют нитросинтазу, повышающую выраженность окислительного стресса.

Важное значение имеют возникающие при этом дефекты в геноме. Самыми распространенными причинами этих дефектов служат эндогенные факторы, такие как ошибки работы ДНК-полимераз и репараз, а также повреждение в гене ДНК-полимеразы.

Подобные повреждения в геноме могут быть вызваны и экзогенными мутагенами: гипоксией, ионизирующим излучением, лекарствами, экопатогенами, неадекватной физической нагрузкой.

Репликация митохондриальной ДНК идет очень быстро, поэтому при действии патогенов происходит быстрое накопление возникших в ней мутаций.

Митохондриальные расстройства могут возникать из-за нарушения либо в ядре, либо в митохондриальном геноме, поэтом могут получится любые варианты наследования. Митохондриальный геном наследуется по материнской линии. В зрелом овоците число копий ДНК достигает 100000, а в сперматозоиде не более 100 молекул. При оплодотворении в яйцеклетку может входить некоторое количество отцовских митохондрий, но они быстро деградируют, поэтому большинство мутаций мтДНК передается по материнской линии.

**Митохондриальные нарушения**

Мутации в мтДНК и яДНК могут привести к митохондриальным заболеваниям, которые возникают в результате недостаточной выработки энергии, необходимой для удовлетворения энергетических потребностей различных органов. При этом страдают в первую очередь наиболее энергозависимые ткани и органы, т.е. нервная и мышечная ткани, что и отражено в термине «энцефаломиопатия», а также любые органы и ткани. Например, при болезни Лебера потеря зрения в некоторых случаях сочетается с нарушением проводимости сердца. Термин «нейродегенеративные заболевания» также подчеркивает тот факт, что в основе патогенеза лежит дегенерация нервной ткани. Нервныеклетки погибают «изнутри», в результате апоптоза.

К основным митохондриальным заболеваниям можно отнести 15 нозологических форм, диагностические критерии которых сегодня четко сформулированы. Выявлены также гены, чаще всего подверженные патогенным мутациям:*tRNAs,POLG1-2, TFB1MOPA1, ANT1, SCO2, COX-10,15, Tafazzin,NDUFS1-4,7,8, PEO1, PUS1, DDP1,MTCYB, MTND1-6, MTCO1-3, 12SrRNA, MTATP6.*

**Проявления**

Митохондриальные заболевания могут встречаться в любом возрасте, однако у одной трети пациентов с недостаточностью ферментов дыхательной цепи начальные симптомы проявляются в первый месяц жизни.

Поражение ЦНС и мышечной ткани доминирует в клинике. Миопатический синдром включает в себя слабость и атрофию проксимальной мускулатуры, мышечные боли, непереносимость физической нагрузки, прогрессирующую наружную офтальмоплегию, птоз, отсутствие рефлексов. Основными неврологическими проявлениями являются судороги, инсульты, нейросенсорная тугоухость, атрофия зрительного нерва, атаксия, миоклонусы, крампи, полинейропатия, олигофрения, деменция, нарушение психомоторного развития, мигрень. Митохондриальные изменения являются клинико-патогенетической основой для развития кардиомиопатий, нарушения проводимости (сердечные блокады), феномен "рваных" красных волокон в сердечной мышце.

Среди эндокринопатий, выявленных при митохондриалыюй патологии, первое место занимает сахарный диабет. Также описаны гипопаратиреоз, изолированный дефицит гормона роста, гипогонадизм, экзокринная недостаточность поджелудочной железы при синдроме Пирсона.

Описано поражение костного мозга с развитием панцитопении у новорожденных, трансфузиозависимоймакроцитарной анемии, тромбоцитопении, нейтропении в старшем возрасте при синдроме Пирсона.

**Диагностика**

Для диагностики митохондриальных заболеваний используют метод клонирования. Более точные результаты при меньшей трудоемкости можно получить с помощью флуоресцентной ПЦР, однако, метод не позволяет выявлять мелкие делеции и вставки. Денатурирующая высокоразрешающая жидкостная хроматография дает воспроизводимые результаты при любых видах мутаций (делеции, вставки, точковые мутации), находящихся в состоянии гетероплазмии.

**Заключение**

В настоящее время вылечиться от митохондриальных болезней практически невозможно. В первую очередь, это связано с пробелами в понимании биогенеза митохондрий. Однако по мере развития физико-химических, молекулярно-генетических и биоинформатических методов данные о структуре и функциях митохондрий постоянно корректируются и дополняются. Кроме того, человек остается практически единственным объектом исследований, что, естественно, вносит массу ограничений в связи с возможностью опасных для здоровья/жизни последствий. Тем не менее, существуют возможности избежать наследования патогенной митохондриальной мутации, либо отсрочить развитие заболевания, вызванного нарушением функции митохондрий.

Литература

1. И. О. Мазунин\*, Н. В. Володько, Е. Б. Стариковская, Р. И. Сукерник. Митохондриальный геном и митохондриальные заболевания человека./ Молекулярная биология. – 2010. – Т. 44. № 5. - С. 755–772.

2. Никитина Л. П., Гомбоева А. Ц., Соловьева Н. В., Кузнецова Н. С. Митохондриальные болезни. Часть 1. Генетический аппарат митохондрий./ Забайкальский медицинский вестник. – 2011. - №1. – С. 134-139.

3. Никитина Л. П., Соловьева Н. В., Максименя М. В., Гомбоева А. Ц. Митохондриальные болезни: критерии и методы диагностики./ Забайкальский медицинский вестник. – 2012. - №1. – С. 110-116.

4. Патрушев М.В.,. КаменскийП.А., Мазунин И.О. Мутации Митохондриальной ДНК и методы их коррекции./ Биохимия. – 20014. – Т. 79. №11. – С 1417-1428.

**НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ КАТАБОЛИЗМА ЖИРНЫХ КИСЛОТ У ДЕТЕЙ**

*Хафизова А.Р.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н., С. Н. Афонина*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Актуальность проблемы наследственных заболеваний не вызывает сомнений. По данным всемирной организации здравоохранения около 6% новорожденных страдают теми или иными генетически обусловленными дефектами, что является причиной 8-10% случаев детской смертности. К этому числу также относят наследственные патологии, которые проявляются сразу после рождения и в более позднем возрасте. Немалое место среди этих заболеваний имеют врожденные нарушения обмена веществ, обусловленные дефектами обмена нуклеиновых кислот, врожденной недостаточностью ферментов, отвечающих за синтез и распад, нарушениями обмена органических кислот, дефицитом жирных кислот и др.

Дефицит ацил-КоАдегидрогеназы жирных кислот со средней длиной цепи (MCAD, ACADM, MCADH)– аутосомно-рецессивное заболевание, которое характеризуется недостатком фермента ацил-КоА-дегидрогеназы, приводящим к нарушению бета окисления жирных кислот. Патогенез проявляется накоплением токсичных жирных кислот со средней длиной цепи и их производных, нередко приводящим к летальному исходу (60%). Встречается с частотой 1:13000 новорожденных. Из—за наиболее распространённого типа метаболического дефекта окисления ЖК эксперты поставили этот метаболический дефект на первое место в списке претендентов для создания программы неонатального скрининга метаболических болезней.

Основной причиной заболевания является мутация гена, кодирующего данный фермент — [ACADM](http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ACADM&keywords=ACADM) локализованный в [1-ой хромосоме](https://ru.wikipedia.org/wiki/1-%D1%8F_%D1%85%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0_%D1%87%D0%B5%D0%BB%D0%BE%D0%B2%D0%B5%D0%BA%D0%B0)области 1р31. В 90% случаев это мутацияобусловлена заменой лизина в 304 позиции полипептидной цепи фермента наглутамат, чтоприводит к нарушению нормального функционирования фермента. Так как MCADD относится к рецессивным мутациям, то часто родители детей, которые стрaдaют от дeфицитaявляются носителями данной мутации.

Ацил-КоА-дегидрогеназа жирных кислот со средней длиной цепи (MCAD) — один из митохондриальных [ферментов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B5%D1%80%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82) группы [ацил-КоА-дегидрогеназ](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D1%86%D0%B8%D0%BB-%D0%9A%D0%BE%D0%90-%D0%B4%D0%B5%D0%B3%D0%B8%D0%B4%D1%80%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B0%D0%B7%D1%8B), класса [оксидоредуктаз](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%B0%D0%B7%D1%8B),ферментов, катализирующихреакции переноса протонов  от субстрата — aцил-КоA жирной кислоты нa электрон-переносящий флaвопротеин ( ФАД), учaствуют в процессе [β-окисления](https://ru.wikipedia.org/wiki/%CE%92-%D0%9E%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5) жирных кислот.

Клиника этого заболевания начинает проявляться в первые дни или месяцыжизни ребенка, чаще всего при голодании в течение 12 и более часов. Основные симптомы: гипогликемия, рвота, судороги, диарея, лихорадка, метаболический ацидоз,кардимиопатия,гепатомегалия, в крайних случаях наступление комы.  У выживших после комы пациентов отмечается умеренные психоневрологическиерасстройства. Отмечается, что с возрастом метаболические кризы становятся реже и исчезают у многих выживших пациентов после 5 лет. Однако при отсутствии диетической коррекции, повторяющиеся гипогликемические кризы могут приводить к задержке психомоторного развития и трудностями в обучении. В то же время, недавно опубликованные данные неонатального скрининга показывают, что многие случаи протекают асимптомно, хотя у носителей дефекта смертность превышает популяционную в 5 раз.

Основным методом подтверждения диагноза является повышение экскреции адипиновой, пробковой, себациновой кислот, сиберилглицина, октаноилкарнитина при тандемной масс-спектрометрии мочи.

Дефицит длинноцепочечной 3-гидроксиацил-КоА дегидрогеназы(LCHAD) является вторым по распространенности наследственным заболеванием, связанным с дефектом митохондриальногоβ–окисления жирных кислот. Причиной является мутация генов HADHA, которые локализованы на 2p23. Дефект этого фермента приводит к нарушению окисления жирных кислот, вследствие накопления токсического ацил-КоА-производных 3-гидрокси- длинноцепочечных жирных кислот, что неблагоприятносказывается на печени (жировая инфильтрация, холестатическая желтуха, гепатонекроз) и сердечной мышце (гипертрофическая кардиомиопатия), скелетных мышцах (мышечная гипотония, миоглобинурия, повышение активности сывороточной креатинкиназы).

**Клиника** имеет несколько форм: неонатальная кардиомиопатическая, неонатальная с поражением печени и легкая с поздней манифестацией и преимущественным поражением скелетных мышц.

Неонатальная кардиомиопатическая форма проявляется в неонатальный период тяжелой гипертрофической кардиомиопатией в сочетании с нарушениями ритма сердца, гипогликемией как реакция на голодание. Прогноз неблагоприятный. Обычно ранний летальный исход происходит в первые дни или месяцы жизни.

Неонатальнаформа этой патологии, сопровождающаясяпоражением печени,является наиболее частой. Клиника в виде приступов, сопровождающихся рвотой, отказом от пищи, мышечной гипотонией, гепатомегалией, гипорефлексией/ арефлексией, тахипноэ, летаргией, комой. Приступ может привести к внезапной смерти. У некоторых больных отмечается течение заболевания в виде прогрессирующей кардиомиопатии, мышечной гипотонии и гепатомегалии. У всех больных выявляется лактат-ацидоз и высокая активность КФК. Разновидность болезни с поздней манифестацией и преимущественным поражением скелетных мышц проявляется на втором-третьем десятилетии жизни (но может и раньше) непереносимостью физических нагрузок, миалгией, миоглобинурией и повышением уровня КФК в ответ на физическое переутомление и голод.

**Для постановки окончательного диагноза** проводят ДНК-диагностику итандемнуюмасс-спектрометрию, для которой характерно увеличение концентрации - 3-гидроксиацилкарнитинов.

Дефицит ацил-КоАдегидрогеназы жирных кислот с очень длинной цепью(VLCAD)- наследственное заболевание из группы дефектов митохондриального β–окисления жирных кислот,  
углеродная цепь которых содержит 14 – 20 атомов, обусловленное дефицитом указанного фермента. Является аутосомно-рецессивным заболеванием, обусловленным мутацией гена *ACADVL*, который кодирует  
ацил-КоАдегидрогеназу жирных кислот с очень длинной углеродной цепью. Локализация гена *ACADVL* -17р13. Встречается с частотой 1:30000 - 1:50000 новорожденных.  
Дефицит данного фермента ведет к резкому снижению активности митохондриальногоβ–окисления жирных кислот, приводящее к накопление жирных кислот с очень длинной цепью и повышенным образованием дикарбоновых кислот. Накопление этих соединений неблагоприятно воздействует на ткани головного мозга, сердца, печени, ингибирует ряд ферментов, участвующих глюконеогенезе и в синтезе мочевины. Пусковым механизмом является метаболический стресс (голодание, прием жирной пищи, физическая/эмоциональная нагрузка. В основе лежит истощение углеводных запасов энергии, заменой становятся липиды, активация катаболизма которых ведет к образованию токсичныхметаболитов (метаболический ацидоз, гипогликемии, поражению внутренних органов).

Клиника зависит от форм болезни (печеночная, миопатическая и системная), проявляется в период новорожденности или в раннем возрасте. Около 30% случаев имеют летальный исход, часто смерть внезапная. Основные симптомы: гипогликемия, ацидоз, резкая мышечная гипотония, приступы рвоты и судорог, желудочковая тахикардия, гепатомегалия, сонливость. Преимущественно поражается сердце и печень.

Миопатическая форма выявляется у подростков или у взрослых. Проявления: непереносимость физической нагрузки, боли в мышцах, изменение цвета мочи вследствие миоглобинурии, гипогликемия (гипокетотическая гипогликемия является характерным лабораторным признаком дефицита ацил-КоАдегидрогеназы жирных кислот с очень длинной цепью), гипераммониемия, повышение уровня лактата в крови, низкий уровень свободного карнитина.

Печеночная форма отличается ранним проявлением, но имеет менее тяжелое течение с периодическими приступамигипокетотической гипогликемии.

Диагностика основана на анализе родословной, оценке данных анамнеза, клинических проявлений, результатах анализа содержания в крови тетрадеценоилкарнитина и тетрадеканоилкарнитина (С14:1 и С14), свободного карнитина. Основным методом подтверждения диагноза является биохимический метод: тандемная масс-спектрометрия. Для подтверждения диагноза и медико-генетического консультирования проводится молекулярное исследование гена ACADVL.

Кaрнитиновaясистемa митохондрий -вaжнаячaстьмитохондриального транспорта длинноцепочечных жирных кислот. В основе системы несколько ферментов: карнитинацилтрансферазы (КАТI и КАТII) и белок-переносчик — [карнитин-ацилкарнитинтранслоказа](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%B0%D1%80%D0%BD%D0%B8%D1%82%D0%B8%D0%BD-%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BB%D0%BA%D0%B0%D1%80%D0%BD%D0%B8%D1%82%D0%B8%D0%BD_%D1%82%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D0%BE%D0%BA%D0%B0%D0%B7%D0%B0) (КАКТ). При дефекте гена КАТ (чаще КАТI), расположенного на хромосоме 1 (локус 1р32), развивается дефицит карнитин-пальмитоилтрансферазыI, ведущее к нарушению бета-окисления. Это аутосомно-рецессивное наследственное заболевание. Встречается с частотой 1:350000 новорожденных.

Основной патогенетический механизм, приводящий к смерти в неонатальный период обусловлен недостаточностью карнитина, накоплением длинноцепочечныхацил-КоА, что ведет к снижению продукции АТФ и гипогликемии.

Выделяют генерализованную младенческую и мышечную формы заболевания. Прогноз для мышечной формы при своевременном диагностирование благоприятный, при генерализованной неблагоприятный.

Генерализованная младенческая форма - в неонатальный период или на первом году жизни. У больных с летальной неонатальной формой наблюдается кардиомегалия, гепатомегалия, печеночная недостаточность, характерны пороки развития головного мозга. Смертельный исход от аритмии и органной недостаточности на первых неделях жизни. Заболевание сопровождается приступами мышечных болей, мышечной слабости и миоглобинурией, в ответ на физическую нагрузку. У 25% больных развивается почечная недостаточность как результат миоглобинурии.

**Диагностика**: в биоптате печени выявляют жировую инфильтрацию гепатоцитов. Основными методами подтверждения диагноза является анализ ацилкарнитинов и свободного карнитина методом тандемной масс- спектрометрии и молекулярно-генетические методы.

Литература

1. Семенов В.А., Николаева Е.А., Казанцева А.З., Ченцова Т.В., Улас В.Ю., Семячкина С.В., Лисицина С.В. Клинические проявления, диагностика и лечение недостаточности ацил-коа-дегидрогеназы жирных кислот со средней длиной цепи / Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2001. -N 6. -С.40-43
2. Белоусова Е. Д., Никанорова М. Ю., Николаева Е. А. Наследственные болезни обмена веществ, проявляющиеся в периоде новорожденности / Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2000, N6, с.12-19
3. Вельтищев Ю.Е., Казанцева Л.З., Семячкина А.Н. Наследственные болезни обмена. Наследственная патология человека. Под общей редакцией Ю.Е. Вельтищева, Н.П. Бочкова. М.- 1992; 41- 101.

**МИТОХОНРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ**

*Вахитова Р.Н., Злобина Е.Г.*

*Научный руководитель: к.м.н., доцент Афонина С.Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Митохондрии - клеточные органеллы, обладающие как и ядро клетки, собственным геномом. В митохондриальной ДНК (мтДНК) большинства млекопитающих находятся гены, необходимые для функционирования дыхательной цепи: ND 1,2,3,4L, 5 и 6комплекса I; цитохром b комплекса III; СОI, CO II и СОIII комплекса IV; АТР6 и АТР8 комплекса V. Кроме этого в мтДНК находятся гены для 22 видов тРНК, двух рибосомальных РНК, а также некодирующий участок, участвующий в регуляции процессов репликации м ДНК и ее транскрипции.

Митохондриальные гены абсолютно необходимы для синтеза АТФ при дыхании, и поэтому можно было бы ожидать, что митохондриальный геном не должен быть подвержен частым мутациям. Однако нормальная скорость мутагенеза мтДНК весьма высока по сравнению с геномной ядерной ДНК (яДНК). Вероятно, это объясняется близостью мтДНК к месту генерации активных форм кислорода (АФК), а также простой, по сравнению с ядерной, системой репарации ДНК. В человеческой популяции присутствуют различные варианты мтДНК, отличающиеся заменами в некодирующих и кодирующих участках. Часто такие замены приводят к изменению аминокислотной последовательности ферментов дыхательной цепи.

В каждой клетке организма содержащей ядро с двумя копиями ядерных генов, находится от нескольких сотен до тысяч молекул мтДНК. При этом в одной и той же клетке может находиться несколько вариантов мтДНК. Это явление называется гетероплазмия. Ранее гетероплазмия считалась относительно редким событием, однако использование технологий «глубокого» секвенирования подтвердило наличие гетероплазмии практически для всех людей.

В популяциях человека и животных находится большое количество особей, идентичных по мтДНК и различающихся только по ядерному геному. Изучение таких явлений привело к пониманию, что определенные варианты мтДНК ассоциированы с процессами развития болезней и старения. Накопление неблагоприятных мутаций в мтДНК в итоге приводит к развитию митохондриальных болезней. Наиболее патогенные варианты мтДНК уничтожаются в процессе оогенеза, что обеспечивает выживание видов, иначе неизбежное накопление мутаций привело бы к их вымиранию.

В 1998 г было впервые показано, что генотип мтДНК является одним из генетических факторов, определяющих продолжительность жизни человека. В результате исследования было установлено, что определенные нуклеотидные последовательности в генах комплекса I увеличивают продолжительность жизни, в то время как одновременное присутствие замен в комплексах I и III, или в комплексах I и V, наоборот, снижают продолжительность жизни. Работами В.П. Скулачева и М.В.Скулачева было показано, что митохондриально- адресованный антиоксидант SkQ 1 продлевает медианную (но не максимальную) продолжительность жизни мышей, причем этот эффект проявляется в большей степени, чем в случае замены митохондрий.

SkQ 1 замедляет развитие таких признаков старения как горбатость, поседение, облысение, возрастное увеличение веса тела за счет жировых отложений. Важно отметить, что как SkQ 1, так и замена мтДНК снижают уровень митохондриальных АФК в зрелом возрасте, что, очевидно, и обеспечивает увеличение продолжительности жизни животных.

Литература

1. Wallacce, D.C., Lott, M.T., and Pracaccio, V.(2013) Mitochondrial medicine: the mitochondrial biology and genetics of metabolic and degenerative diseases cancer and aging, Emeru and Rimon, s Essential Medical Genetics, Churchill Livingstone, Philadelphia.
2. Brown, W.M.; George, M.Jr.,and Willson,A.C. (1979) Rapid Evolution of animal mitochondrial DNA, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76,1967-1971
3. Sculachev, M.V., Antonenko, Y.N and all. Mitochondrial targeted plastoguinone derivates Effect on senescense and acute age- related pathologies. Curr Drug Targets, 12. 800-826

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. ПУТИ КОРРЕКЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ**

**Полиморфизм генов как ведущий этиологический фактор ишемических инсультов у детей раннего возраста**

*Гусарова Е. Э.,*

*Научный руководитель: доцент к.м.н. Рябченко А.Ю.,*

*доцент к.м.н. Белянин В.В.*

## *Кафедра неврологии, медицинской генетики*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

На сегодняшний день ишемический инсульт у детей раннего возраста является одной из важных проблем клинической неврологии. Важно то, что при развитии нарушения мозгового кровообращения у данной группы лицв основе этиологии лежат относительно редкие причины, в том числе генетически обусловленные изменения в системе гемостаза (мутации в генах факторов свертывания крови – фактора V, протромбина, протеинов С и S, антитромбина III, тромбомодулина, плазминогена и др.)[2,3].

Цель работы: анализ установления наследственной предрасположенности к гиперкоагуляционному состоянию на основании оценки семейного и перинатального анамнеза, инструментальных и лабораторных данных.

Основными методами исследования являютсяопрос родителей с использованием протокола Всероссийского регистра «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническоефенотипирование и тромбопрофилактика тромбоэмболических осложнений в онтогенезе» [5], магнитно-резонансная томография (МРТ), компьютерная томография (КТ) головного мозга, анализ цереброспинальной жидкости,генотипирование с определением полиморфизма генов тромбофилии (8 точек): F2: G20210А, F5: G1691A, F7: G10976A, F13:G>T (Val34Leu), PAI-1: –675 5G/4G, FGB: G-455A, ITGA2: С807Т, ITGB3: Т1565C, фолатного цикла (4 точки): MTHFR С677Т, MTHFR А1298С, МТRR А66G, MTR А2756G методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в препаратах ДНК, полученных из цельной периферической крови с детекцией результатов в формате «реального времени» и анализом продуктов амплификации[6, 7]. При фенотипированиитромбофилии проводилась оценка показателей гемостазиограммы, тромбоэластометрии и агрегатограммы.

В результате проведенного анализа отечественной и иностранной литературы установлено, что полиморфизм генов системы гемостаза является важным фактором, влияющим на возникновение и течение ишемического инсульта у детей раннего возраста.

Установлено, что наиболее часто регистрируются прокоагулянтные и протромботические мутации - патологические аллелитромбофилии и полиморфизмы генов фолатного цикла [4]. Согласно исследованиям, у большинства пациентов встречаются комбинации минимум по двум звеньям гемокоагуляционного каскада, а также совокупность полиморфизмов генов плазменного гемостаза, рецепторов мембраны тромбоцитов и системы фибринолиза. Все они повышают риск возникновения ишемического инсульта у детей раннего возраста в 4,55 раза [1].

Выводы: Генетические полиморфизмы, варианты их комбинаций с мутациями других систем, контролирующих состояние сосудистой стенки и ее атромбогенность играют ведущую роль в развитии ишемического инсульта у детей раннего возраста. В комплекс обследования детей, имеющих в анамнезе факторы риска развития ишемического инсульта, а также во время критических этапов роста и развития (неонатальном, вакцинации, ростовых скачков, пубертатном периоде и т.д.) необходимо внедритьобнаружение генетически обусловленных изменений в системе гемостаза с целью предупреждения развития ишемического инсульта.

Литература:

1. Жданова Л.В., Щербакова М.Ю., Решетняк Г.М. и др. Причины ишемических инсультов у детей и подростков. Педиатрия, 2011: с. 88— 90
2. Зыков В.П., Комарова И.Б., Чучин М.Ю. и др. Ишемический инсульт у детей. Учебное пособие, 2011: с. 72
3. Кривопустов С.П., Волосовец А.П. Инсульт головного мозга и инфаркт миокарда у детей: современный взгляд на проблему. Здоровье ребёнка, 2016: с. 63-69
4. Львова О.А., Ковтун О.П., Кузнецов Н.Н. и др. Значимость аллельных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла у детей с дебютом поражения ЦНС в грудном возрасте. Пермский медицинский журнал, 2012: 51—62
5. Момот А.П., Ройтман Е.В., Елыкомов В.А., Свирин П.В. и др. Протокол ведения Всероссийского регистра «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клинические фенотипирование и тромбопрофилактика тромбоэмболических осложнений в онтогенезе». Тромбоз, гемостаз, реология, 2010: с. 30—78
6. Girelli D., Russo C., Ferraresi P., Olivieri O. Polymorphisms in the factor gene and the risk of myocardial infarction in the patients with coronary artery disease. N Engl J Med, 2000: p. 774—780
7. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemicheart disease and stroke: a meta-analysis. JAMA, 2002: p. 2015-2022

**Подходы к коррекции наследственных заболеваний**

*Нигметзянова К. М.*

*Научный руководитель: доцент Муслимова С.Ю.*

*Башкирский Государственный Медицинский университет*

Как вы считаете, когда человек начинает задумываться о своём здоровье? Может тогда, когда он молод и активен? Или же, когда его начинает что-то беспокоить, болеть в конце концов? А когда же нужно задумываться о наследственных патологиях? Вы скажете, что это уже не наша забота и всё скинете на своё предшествующее поколение. Но ведь каждый человек мечтает иметь здоровое потомство и ни в коем случае не родить больного ребенка. Как ни говорите каждый больной ребенок это не только горе в семье, но и большой ущерб государству, которое должно обеспечить его надлежащей медицинской помощью. Больные дети увеличивают смертность и инвалидизация населения.

Какие же подходы к коррекции наследственных заболеваний существуют на данный момент? В этой статье я рассмотрю пути улучшения среды обитания человека как первичную профилактику наследственных патологий. Ведь одной из особенностью наследственных заболеваний является устойчивость к терапии, т.к. исправить первичные звенья не всегда удается, поэтому болезнь легче предупредить, чем лечить.

Наследственные заболевания определяются взаимодействием наследственных и средовых факторов, они же обеспечивают и рецидив. Болезни с наследственной предрасположенностью возникают у лиц с определенным генотипом, т.е. при сочетании предрасполагающих аллелей и провоцирующим действием факторов среды. Кроме того, один и тот же ген может в одних условиях вызывать повышенную, а в других – пониженную способность к воспроизведению признаков. Так как же остановить их проявление, если генетические факторы мы скорректировать никак не можем? Остается только действовать через средовые, которые намного легче поддаются коррекции. Но не будем забывать о существованиии мультифакториальных болезней, которые предполагают, что значительная изменчивость остается и при одинаковых условиях внешней среды. Этот вывод сделали на основании анализа сходства между кровными родственниками.

К первичной профилактике относят планирование деторождения и улучшение среды обитания человека. Профилактике поддаются все моногенные формы наследственной предрасположенности. Корригирование окружения достигается путем жесткого контроля содержания мутагенов и тератогенов вокруг. Это особенно важно для профилактики всех групп соматических генетических болезней.

Так как же можно воздействовать на окружающую среду? Исключение фармакологических средств у носителей недостаточности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, аномальной псевдохолинэстеразы, мутантной ацетилтрансферазы и других является прямым путем к улучшению фенотипа. Также необходим жесткий отбор для работы в производственных условиях, провоцирующих болезненные состояния у лиц с мутантными аллелями. Улучшение питания, избежание стрессов, охлаждений, инфекций и микробных факторов как никогда благоприятно влияет на здоровье в целом. Любому из нас, даже тем, у кого вроде бы не оттягощен наследственный анамнез нужно всегда избегать радиционного, химического, физического и биологических факторов, ведь главным образом они являются источником индуцированного мутагенеза.

Таким образом, перед врачами-генетиками стоит не только задача определить гетерогенность заболевания, выяснить унаследованная или вновь возникшая мутация, средовая или генетическая обусловленность здесь играет роль, а главным образом предстоит профилактическая работа, важнейшим из которых является улучшение среды обитания человека. Другими словами, профилактика наследственных заболеваний должна проводиться на популяционном уровне.

Литературы:

1. Клиническая генетика: Учебник. – 3-е изд., испр. и доп. – М.:ГЭОТАР-МЕД, 2004.-480с.: ил. – Бочков Н.П.
2. Медицинская генетика: учеб.пособие / Акуленко Л.В. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 192с.: ил.
3. Основы медицинской и клинической генетики / А.Ю.Савченко. – Ростов н/Д: Феникс; Омск: ОмГМА, 2008. – 412с.: ил. – (Медицина).

**Роль генетического полиморфизма *TLR2* (Arg753Gln) у больных пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы**

*Номоконова В. Б.*

*Научный руководитель: м.н.с. Марковский А.В.*

*Читинская государственная медицинская академия*

*НИИ молекулярной медицины, лаборатория молекулярной генетики*

В настоящее время получены убедительные доказательства, что при многих опухолях существуют изменения в генах, контролирующих Toll-like receptors (TLR), что может рассматриваться как фактор риска развития опухоли. Генетические изменения TLRs в области TIR-домена(Toll/IL-1 receptor domain), как в случае полиморфного варианта Arg753Gln гена *TLR2*, могут служить причиной развития иммуносупрессии и хронического воспаления, являющегося одной из главных причин возникновения и прогрессии опухолевых заболеваний [, с. 436]. Сложный механизм этой взаимосвязи изучен недостаточно полно, а роль TLR в онкогенезе неоднозначна – с одной стороны они участвуют в противоопухолевом иммунитете, с другой – способствуют уклонению опухолевых клеток от иммунного ответа**,** что представляет особый интерес в изучении ранних молекулярных предикторов злокачественной трансформации клеток.

**Цель работы**. Сравнить частоту аллелей и генотипов генетического полиморфизма *TLR*2 (Arg753Gln) среди относительно здоровых женщин и больных пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы (РМЖ) в Забайкальском крае.

**Материалы и методы.** Обследовано 150женщин,из них 32 больных пролиферативными заболеваниями молочной железы (ПЗМЖ) - фиброаденомой, фиброзно-кистозной мастопатией и 118 с РМЖ в возрасте 53±13,3 лет, находившихся на стационарном лечении в краевом онкологическом диспансере. Диагноз, подтвержден гистологическим методом исследования. Контрольную группу составили относительно здоровые и не имеющие на момент исследования онкологической патологии 176 женщин Забайкальского края в возрасте 40,1±10,0 лет.

Определение полиморфизма проводилось методом ПЦР с детекцией продукта амплификации в агарозном геле (PCR-Ef) (амплификатор «Бис-М111», ООО «Бис-Н», Новосибирск) на геномной ДНК лейкоцитов периферической крови, выделенной с помощью набора реагентов "ДНК-экспресс кровь", (ООО НПФ "Литех", Москва) и использованием отдельных SNP-наборов (ООО НПФ "Литех", Москва). Для оценки соответствия распределений наблюдаемых генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в двух субпопуляциях использовали критерий χ2. Значения уровня p<0,05 рассматривались как статистически значимые. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы MicrosoftExcel 2010 и on-line калькулятора.

**Результаты**. При сравнении частот генотипов в клинической и контрольной группе выявлено преобладание носителей аллеля *TLR2*-753Gln - 9,7% (χ2=4,03; p=0,04, d.f.=1) среди больных РМЖ, против 5,4% с увеличением риска развития заболевания в 1,9 раза (CI 95%:1,01 – 3,56) (табл.1).

Таблица 1

Частота полиморфизма гена *TLR2*(Arg753Gln) в группах сравнения\*

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Генотипы  Аллели | Группы | | | χ2  (р)1 | χ2  (р)2 | χ2  (р)3 |
| контрольная  (n=176) | больные с  ПЗМЖ1 (n=32) | больные с  РМЖ2(n=118) |
| Arg/Arg | 157(89,2) | 29(90,6%) | 97(82,2%) | 0,06  (0,97) | 4,92  (0,09) | 1,53  (0,46) |
| Arg/Gln | 19(10,8%) | 3(9,4%) | 19(16,1%) |
| Gln/Gln | 0(0%) | 0(0%) | 2(1,7%) |
| Arg | 333(0,946) | 61 (0,953) | 213(0,903) | 0,05  (0,82) | 4,03  (0,04) | 1,63  (0,2) |
| Gln | 19(0,054) | 3 (0,047) | 23(0,097) |

\*Примечание: 1,2,3 (χ2 тест) – сравнение распределений частот генотипов и аллелей групп больных ПЗМЖ и РМЖ, с соответствующим показателем в группе контроля и между собой (df = 1,2).

Это дает основание предполагать, что мутантная аллель Gln маркирует повышенный риск развития РМЖ, хоть эта мутация и встречается достаточно редко, согласно данным E. Lorenz и др. [, с. 6398].Кроме того, в контрольной группе и среди больных ПЗМЖ не выявлено ни одного носителя мутантной аллели в гомозиготном состоянии *TLR2-*753Gln/Gln, котороеобуславливает нарушение функции проведения сигнала от лигандов TLR2 и активации механизмов врожденного иммунитета, т.е. одного функционально нормального аллеля *TLR2*-753Arg, достаточно для полного обеспечения воспалительного ответа[, с. 1829].

Ген *ТLR2* (толл-подобный рецептор 2), локализованный на длинном плече хромосомы 4q32, кодирует белок в 784 аминокислоты. Толл-рецептор 2 расположен в клеточной мембране и после взаимодействия с лигандом запускает каскад реакций, в результате которых активируется транскрипция провоспалительных цитокинов, миграция клеток иммунной системы к месту воспаления в результате повышения выработки хемокинов и повышение продукции антиапоптотических факторов. Взаимосвязь TLR2 с опухолевой прогрессией показали исследования B. Huang [17] с соавт., где в одном случае, TLR2-зависимая активация в клетках рака яичника приводила к повышению их устойчивости к действию химиотерапевтических препаратов, и в другом, где определена ключевая роль этого рецептора в метастазировании рака легкого. Однако, исследование H. Davoodi и F. Seow показывает отсутствие связи изучаемого полиморфизма с риском колоректального рака [1, с. 91].

Таким образом, можно предположить, что носительство мутантного аллеля влияет на развитие хронического воспалительного процесса патологической направленности и обладает предикторными свойствами в развитии РМЖ. При этом, важно отметить, что воспаление может быть вызвано как инфекцией, так и патологическими внутриклеточными событиями, не связанными с прямым инфицированием, а пациенты с иммунодефицитом имеют повышенный риск. Однако, противоречивые сведения в литературе о двойственном эффекте TLR на рост опухоли, указывают на более сложную их функциональную значимость, где активируют и другие биологические процессы (пролиферацию, ангиогенез, инвазию), лежащие в основе опухолевой трансформации, что требует дальнейшего изучения данного вопроса.

**Вывод.** При изучении частот генетического полиморфизма *TLR2*(Arg753Gln), выявлено увеличение частоты носительства аллеля *TLR2*-753Gln у больных РМЖ с ростом риска развития заболевания в 1,9 раза, что дает основание рассматривать ее в качестве предикторного фактора.

Литература:

1. Davoodi H., Seow H.F. Variant Toll-like receptor4 (Asp299Gly and Thr399Ile alleles) and Toll-like receptor2 (Arg753Gln and Arg677Trp alleles) in colorectal cancer // Iran J. Allergy Asthma Immunol. –2011. – V. 10, №2. – P. 91–99.
2. Huang B., Zhao J., Shen S., et al. Listeria monocytogenes promotes tumor growth via tumor cell toll-like receptor 2 signaling // Cancer. Res. – 2007. – V. 67, №9. – P. 4346–4352.
3. Karin M., Yamamoto Y., Wang Q.M. The IKK NF-kappa B system: a treasure trove for drug development // Nat. Rev. Drug. – 2004. – V. 3, №1. –P. 17–26.
4. Lorenz E., Mira J., Cornish L., et al. A novel polymorphism in the toll like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection // Infect. Immun. – 2000. – Vol. 68. – P. 6398–6401.
5. Mantovani A., Allavena P., Sica A., Balkwill F. Cancer-related inflammation // Nature. – 2008. – V. 454, №7203. – P. 436–444.
6. von Aulock S., Schroder N., Traub S. et al. Heterozygous toll like receptor 2 polymorphism does not affect lipoteichoic acid induced chemokine and inflammatory responses // Infect. and Immun. – 2004. – Vol. 72. – P. 1828–1831.

**Лекарственная регуляция активности генов**

*Фаткуллина А. Р.*

*Научный руководитель: доцент к.б.н. Лебедева Е.Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

После открытия структуры ДНК долгое время считалось что, исключительно генетический код организма определяет закономерности функционирования составляющих ее генов и в широком смысле фенотип со всеми его признаками и проявлениями. Однако после успешного завершения международного научно-исследовательского проекта «Геном человека» представления о функционировании генома претерпели значительные изменения. Оказалось, что вся информация о строении и функционировании человеческого организма заключена в 20-25 тыс. генов, а не 100-150 тыс., как предполагалась ранее согласно общепринятой концепции «один ген – один белок»[1].

По мере прогресса фундаментальной науки стало понятно, что при безусловной главенствующей роли ДНК геном – это отнюдь не статичная, а чрезвычайно пластичная структура, в которой уровень генной экспрессии постоянно меняется. Такая регуляция активности генов реализуется посредством эпигенетических модификаций, суть которых заключается в энзиматическом ковалентном присоединении/диссоциации функциональных химических групп к определенным нуклеотидам ДНК, а также к аминокислотным остаткам белков-гистонов. В результате подавляется или, наоборот, активируется экспрессия функционально важных генов и, соответственно, уменьшается или увеличивается выработка ими белков.

Самыми известными и наиболее изученными эпигенетическими модификациями является метилирование ДНК и диацетилирование гистонов, которые приводят к ингибированию генной экспрессии.

ДНК-метилирование происходит по цитозиновому остатку под действием фермента ДНК-метилтрансферазы. Диацетилирование гистонов катализируется гистондеацетилазой. Еще один базовый механизм эпигенетической реализации реализуется посредством микроРНК – особого класса коротких некодирующих одноцепочечных молекул РНК. При этом выключение гена происходит путем предотвращения трансляции и синтеза соответствующих белков.

Следует отметить, что эпимутации в отличие от генетических мутаций не затрагивают структуру ДНК, то есть они обратимы. Отсюда можно сделать вывод о том, что они могут регулироваться факторами внутренней и внешней среды, такими как стресс, особенности питания, лекарственная терапия и т.п.

На сегодняшний день для млекопитающих и человека известно около 10 способов посттрансляционной модификации различных аминокислотных остатков в составе гистона хроматина и несколько тысяч молекул различных микроРНК. Доказано, что нарушения этих механизмов приводит к преждевременному старению и различным патологическим процессам: диабет, астма, псориаз, тяжелые психологические расстройства (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, аутизм), сердечнососудистые, инфекционные заболевания.

Учеными особенно активно изучается роль эпимутаций в инициации и прогрессии злокачественных опухолей [2]. Уже на ранних этапах канцерогенеза возникают характерные эпигенетические нарушения, которые приводят к резкому подавлению экспрессии или к полному выключению генов, обеспечивающих онкопротекторные свойства. При этом выявленные эпигенетические маркеры служат молекулярными мишенями для противоопухолевых препаратов и являются основой для создания новых методов онкодиагностики, прогнозирования и мониторинга.

Хотя эпигенетика формировалась и развивалась как самостоятельная научная дисциплина в основном благодаря усилиям и достижениям западных исследователей, у ее истоков стояло открытие, сделанное российским ученым, членом-корреспондентом РАН, профессором Борисом Федоровичем Ванюшиным. Еще в 1970 г. им и его сотрудниками было обнаружено явление тканевой разнокачественности метилирования ДНК, а также впервые сформулировано представление о том, что ДНК-метилирование - это механизм регуляции экспрессии генов и клеточной дифференцировки. В 1960-1970-х гг. Б.Ф. Ванюшин и его коллеги первыми показали, что уровень метилирования ДНК у позвоночных изменяется с возрастом [3], а также то, что нарушение метилирования ДНК - это путь к раку [4].

Обратимость аномальных эпимутаций делает ферменты, отвечающие за эту обратимость, привлекательными лекарственными мишенями при разработке эпигенетических препаратов.

В 2000 году были официально зарегистрированы и разрешены к использованию два эпигенетических препарата, являющиеся ингибиторами ДНК-метилирования и предназначенные для лечения миелодиспластического синдрома. Это 5-азацитидин (Вайдаза) и 5-аза-2-дезоксицитидин (Дакоген). Однако наряду с терапевтической активностью данные препараты обладали высокой токсичностью, которая была причиной возникающих осложнений и побочных эффектов.

В последнее время внимание ученых все больше привлекают вещества природного происхождения, обладающие опухолеспецифической эпигенетической активностью. Среди таких веществ к перспективным относятся флавоноид эпигалло-катехин-3-галлат, а также индолы – индол-3-карбинол и его метаболит – 3,3-дииндолилметан.

Данные соединения, известны как вещества с доказанной противооопухолевой активностью, являются абсолютно безопасными и обладают выраженной способностью ингибировать ферменты ДНК-метилтрансферазу и гистондеацетилазу, а также подавлять экспрессию проканцерогенных микроРНК [5].

С учетом вышесказанного авторами были разработаны препараты Индинол Форто (активное вещество - индол-3-карбинол), Эпигаллат (активное вещество - эпигалло-катехин-3-галлат) и Цезарокс (активное вещество -3,3-дииндолилметан). В результате клинических исследований, была доказана высокая эффективность указанных препаратов как средств терапии при лечении различных доброкачественных и предопухолевых заболеваний женской репродуктивной системы.

Также было показано, что данные препараты являются мощными эпигенетическими средствами. Так, у 102 больных репродуктивного возраста с доброкачественными и предраковыми заболеваниями шейки матки после шестимесячного курса терапии препаратами Индинол Форто и Эпигаллат, проводившейся в составе комплексного лечения, наблюдалась нормализация клинической картины на фоне практически 100%-ного значимого деметилирования маркерных генов-супрессоров опухолевого роста. При этом исходно уровень метилирования генов был высоким.

Важно отметить, что спустя год после комплексного лечения, включавшего прием препаратов Индинол Форто и Эпигаллат, ни в одном случае не наблюдалось рецидива патологического процесса шейки матки.

Идентичные результаты были получены при изучении ДНК-демитилирующей активности препаратов Индинол Форто и Эпигаллат при лечении больных с патологическими процессами эндометрия.

В исследовании участвовали 194 пациентки, которые были разделены на 5 групп в соответствии с их диагнозами. Во всех пяти группах шестимесячный прием указанных препаратов составе комплексной терапии, приводил к полной реверсии ДНК-метилирования маркерных опухоль-супрессорных генов.

Таким образом, можно предположить, что предлагаемые эпигенетические препараты в составе комбинированной терапии окажутся новым мощным инструментом лечения и профилактики распространения гинекологических заболеваний, в том числе сопровождающихся бесплодием и будут способствовать качественному улучшению репродуктивного здоровья нации.

Литература

1. Чёрч Д. Гений в ваших генах: эпигенетическая медицина и новая биология намерения. СПб: Изд. группа «Весь»2010.
2. Esteller M. Epigenetics in cancer // N. Engl. J. Med. 2008.V. 358. № 11. P. 1148-1159.
3. Бердышев Г.Д., Коротаев Г.К., Боярских Г.В., Ванюшин Б.Ф. Нуклеотидный состав ДНК и РНК соматических тканей горбуши и его изменение в течение нереста// Биохимия. 1967. Т. 32. С. 988-993.
4. Ванюшин Б.Ф. Эпигенетика сегодня и завтра // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17. JV» 4/2.С. 805-832.
5. Pandey М, Shukla S., Gupta S. Promoter demethylation andchromatin remodeling by green tea polyphenols leads to reexpression of GSTP1 in human prostate cancer cells // Int. J.Cancer. 2010. V 126. № 11. P. 2520-2533.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ ПСОРИАЗА**

*Бондаренко А.И.*

*Научный руководитель – ст. преподаватель ,к.б.н., Л.В. Гирина*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Применение достижений генетической терапии представляет особый интерес в современных научных исследованиях по разработке методик внедрения наиболее эффективных способов лечения. Данные способы могли бы стать направленным воздействием на этиологический фактор и сущность возникновения взаимодействия между агентом внешней среды и организмом.

Достижения генетической терапии могут базироваться на специальных современных разработках в области нанотехнологии. Во-первых, наночастицы – объекты микромира – обладают большой площадью соприкосновения наночастицы и объекта направленного воздействия [3, c. 10]. Во-вторых, наноструктуры позволяют моделировать строение внутренних, основополагающих процессов живой природы, внося по возможности некоторые коррективы в механизмы жизнедеятельности[2].

Рассмотрим некоторые аспекты реализации воздействия на геном с целью модификации жизнедеятельности в форме возврата к оптимальному состоянию организма.

Диагностика заболеваний на генетическом уровне, связанная с анализом экспрессии генов и формирования различных белковможет стать заметным подспорьем для генетической терапии.Отметим некоторые аспекты основ диагностики заболеваний человека на молекулярном уровне.

«Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – это метод, который позволяет найти в исследуемом клиническом материале небольшой участок генетической информации любого организма, специфичный только для данного вида организмов, среди огромного количества других участков и многократно размножить его» [5, c. 90].В условиях отсутствия ПЦР-подобной реакции для увеличения количества молекул низкокопийного белка и невозможности получить большой объембиоматериала от пациента одним из способов выделения и концентрирования белковиз сложных смесей является селективный захват иконцентрированиебелков на поверхности нанобиочипов. В таких процессах осуществляются биоспецифическиемежмолекулярные взаимодействия, так называемый «биоспецифическийфишинг» [1, с. 7].

Такой подход позволяет выделять белки с низким содержаниемиз биологической жидкости и одновременно концентрировать их, а затем идентифицировать с помощью атомно-силовогомикроскопа (АСМ). Метод обладает достаточно высокой точностью, позволяет реализовать возможность достижения оптимального результата нанопроцесса организма при анализе закономерностей и исходов экспрессии генов.

Тем не менее, процессы диагностики не соответствуют требованиям организма о реализации терапии, осуществляемой посредствомвоздействия на генетическом уровне. Лечение псориаза может послужить значимым и весьма интересным примером терапии заболевания, для которого разработаны эффективные передовые методы и которое может быть целенаправленно реализовано в определённых условиях с использованием особых средств.

Лечение псориаза (форма неинфекционного дерматоза) может стать примером возможности применения достижений генетической терапии и фармакогеномики, изучающей восприимчивость пациента к тем или иным вариантам лечения в зависимости от его генетических особенностей. Результаты генетических исследований вполне можно преобразовать в помощь людям, страдающим от псориаза: создать лекарства, направленные на подверженные мутациям белки или гены, и разобраться, почему возникают те или иные побочные эффекты в организме в ответ на лечение.

Фармакогеномика псориаза не располагает высокой степенью развития. Однако заявка на движение в сторону введения персонализированной медицины в клинической практике уже была сделана.

Одно из крупнейших и наиболее полных фармакогенетических исследований в области псориаза посвящено изучению эффективности лечения метотрексатом (methotrexate). Эффект данного препарата реализуется в цитостатическом, иммуносупрессивном действии на организм. С ответом на метотрексат оказались связаны три SNP в гене ABCC1 и два в гене ABCG2. При этом исследования влияния данного препарата на организм требуют обстоятельной завершённости, поскольку на данный момент не было выявлено строгой взаимосвязи между клиническим исходом лечения и полиморфизмами четырёх других генов, которые кодируют ферменты внутриклеточного метаболизма этого препарата. Недостатком данного препарата является тот факт, что были определены несколько генов, чьи аллели могут быть ассоциированы с токсичностью препарата или плохим клиническим ответом на него.

Другой препарат, привлекший внимание современных генетиков, — ацитретин (acitretin), синтетический ретиноид. У него множество побочных эффектов, в том числе гиперлипидемия и тератогенность, что ярко отражает недостаток его применения, так что он используется как препарат второй линии лечения тяжёлых форм псориаза. Предсказать ответ пациентов на этот препарат, как оказалось, можно с помощью анализа полиморфизмов генов аполипопротеина Е (APOE) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Следует проводить обстоятельную оценку свойств данного препарата.

Еще один интересный препарат – устекинумаб (ustekinumab), моноклональное антитело, нацеленное на общую субъединицу интерлейкинов IL-12 и IL-23 – p40. Установили, что синтез субъединицы р40 увеличивается при развитии псориаза. Препарат ингибирует воспалительные сигнальные пути с участием IL-12/23, которые играют немаловажную роль в патогенезе хронического воспаления эпителия. Роль IL-12 трудно переоценить, ведь с помощью его секреции дендритные клетки могут «направить» наивные Т-клетки на путь Th1. IL-23 в предполагаемых схемах патогенеза псориаза долгое время не фигурировал. До тех пор, пока не обнаружилось, что этот цитокин связан с новым типом Т-клеток – Th17. Сейчас уже ясно, что иммуногенетическая связь IL-23 и развития псориаза довольно сильна, и идентифицированы полиморфизмы, ответственные за это.

Было проведено несколько исследований того, как меняется экспрессия генов после одной инъекции ингибитора IL-12/23, устекинумаба. По экспрессии, как считают учёные, можно предсказать, пройдёт ли лечение данного пациента успешно или он не ответит на препарат[4].

Данные препараты связаны современными разработками учёными специализированных наноструктур, обладающих особым интересом в механизме достижения положительного для человека исхода заболевания.

В заключение следует отметить необходимость разработки современных препаратов и наноструктур для достижения максимально высокой эффективности терапии. Вследствие своего размера и функциональных возможностей нанопрепараты способны воздействовать на организм на генетическом уровне и обеспечивать лечение заболевания, направляя его на внутренний источник закономерностей развития. И хотя взаимодействие организма с подобными структурами ещё должно быть изучено, должны быть определены побочные эффекты такого воздействия, но оно способно стать одним из наиболее важных открытий современной молекулярной медицины.

Литература

1. Арчаков А.И. Нанобиотехнологии в медицине: нанодиагностика и нанолекарства: актовая речь. М., 2009. 27 с.

2. Бирам Д.А., Смагулова Д.К., Кенич Б. Фармацевтическая нанотехнология как ключевой фактор экономического развития // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. № 3 (12). С. 98-101.

3. Гусев А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2005. 416 с.

4. Петренко А. Генетика псориаза: иммунитет, барьерная функция кожи и GWAS. URL: http://biomolecula.ru/content/2085 (дата обращения: 08.02.2017)

5. Урванцева Г.А., Грачёва Е.Л. Методы анализа живых систем: учебное пособие. Ярославль: ЯрГУ, 2013. 104 с.

**ПРИНЦИПЫ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ ПРИ СЕМЕЙНЫХ ГИПЕРЛИПОПРОТЕИНЕМИЯХ**

*Ершова В. Г. 2 курс*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Е.Н. Лебедева*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В настоящее время было завершено картирование генома человека, были открыты сотни маркеров, имеющие отношение к гиперлипидемиям. В современной медицине сформировались условия использования генетических подходов в медицинской практике. В современных семьях растет потребность в информации об исследованиях указанных заболеваний.

Конкретный генетический дефект, приводящий к дислипидемиям, это не главное звено. Основной фактор это «мультифакториальность», то есть взаимодействие многих генетических факторов под воздействием среды. В совокупности они формируют патологический фенотип значительной силы.

Гиперлипидемия и дислипидемия являются предметом медико-генетического консультирования. Пациенты или родственники, имеющие риск наследственного заболевания, получают консультацию относительно динамики и вероятности развития его среди родственников, профилактики и снижения риска заболевания.

Общий алгоритм медико-генетического консультирования состоит из:

* первичного обследования/собеседования;
* уточнения диагноза с использованием специальных генетических методов: генеалогическое обследование, биохимико-генетические методы;
* генетических консультаций с учетом полученных знаний;

Задачи первичного обследования:

* определение соответствия обращения консультирования (по нозологии);
* оценка обоснованности обращения за консультацией;
* выяснение причины обращения за консультацией;
* выяснения, как пациент понимает необходимость проведения медико-генетических консультаций и какие у него опасения или ожидания относительности причины обращения;
* изучение медицинской истории пациента;
* составление родословной (3-4 поколения);
* изучение доступных медицинских документов родственников и регистрация их в родословной;

Затем с пациентом проводят генетические обследования и составление родословной. Важно ознакомить пациента с генетическими понятиями, с предполагаемым характером наследственности, информировать пациента о генетических рисках и возможности модификации риска заболеваний. Важно правильно проинформировать пациента.

Составление родословной начинается с пробанда (носителя изучаемого признака). Обычно родословная составляется по нескольким признакам. Составление родословной сопровождается краткой характеристикой признака, отношение родственника к пробанду. Изучение родословной необходимо, так как одинаковая мутация в каждой семье проявляется в разной генотипической среде. Степень кровного родства должна быть установлена точно, так как при мультифакториальном характере болезни это важно для оценки риска. Фиксируются все заболевания среди родственников, имеющие отношение к данной болезни.

Генетическое тестирование так же проводят у пробанда, а затем у родственников. Тест необходим для подтверждения генетического дефекта, а так же риска у родственников.

После получения всех необходимых данных проводят анализ родословной, оценивают характер (семейная, спорадическая) и структуру (доминантная, рецессивная) наследственности. После получения результатов клинического, лабораторного и генетического исследования проводят дифференцировку диагноза, количественную и индивидуальную оценку риска, осложнения и т.д.

При проведении медико-генетического консультирования следует получить информационное согласие. Необходимо соблюдать конфиденциальность.

Пациенту сообщают информацию о заболевании или признаке, но перед этим четко формулируют план работы и программу консультирования. Важно учитывать степень понимания и реакцию пациента. Пациенту должны быть предоставлены: диагноз, этиология, история состояния, изменчивость экспрессии, пенетрантность, прогноз, методы лечения и профилактики.

Прежде всего пациенту разъясняют методы профилактики гиполипидемической и ХС-снижающей терапии:

1. Профилактика атеросклероза, если лечение проводится в детском возрасте при наличии семейных форм заболевания;
2. Задержка дальнейшего развития атеросклероза, если лечение началось во взрослом состоянии;
3. Удаление ХС из бляшек, что делает их боле безопасными в смысле образования на их поверхности тромбов;
4. Частичной или значительной регрессии атеросклеротических поражений;

В самой клинической практике и непосредственно лечении используют 2 группы препаратов по рекомендации Европейского атеросклеротического общества:

1. Препараты с преобладающим влиянием на общий ХС плазмы и ХС ЛПНП;
2. Препараты с преобладающим влиянием на уровень общих плазменных ТГ и ТГ ЛПОНП;

Опыт применения различных гиполипидемических препаратов показал, что во многих случаях благоприятный эффект лечения пациентов наблюдается уже в первые недели, когда еще не может быть и речи о регрессии атеросклеротических поражениях.

Применение любого вида ХС-снижающей терапии там, где оно показано и где оно может дать лечебный эффект, не должно встречать возражений. Коррекция нарушения липидов должна проводиться в несколько этапов. Для начала назначается соответствующая диета, затем специфическая лекарственная терапия. Но прием фармакологических препаратов требует тщательного и постоянного мониторирования.

Литература

1. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения: руководство для врачей / Климов А. Н., Никульчева Н. Г. – СПб: Питер Ком, 1999. – 512 с. – (Серия «Практическая медицина»).
2. Практическая липидология с методами медицинской генетики: руководство / .В. А. Кошечкин, П, П. Малышев, Т. А. Рожкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 112 с.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ**

*Журавлева О. С.,Сафонова А. А.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н., Фабарисова Л.Г.*

*Кафедра биологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Каждый биологический вид имеет определенный хромосомный набор – кариотип***,*** характеризующийся их количеством и морфологией.Раздел генетики, изучающий хромосомы называется цитогенетика***.*** В развитии цитогенетики можно выделить три вехи, которые коренным образом изменили ее возможности.

1. Разработка методики кариотипирования (первая «революция»).
2. Разработка методики дифференциального окрашивания хромосом (вторая «революция» цитогенетики).
3. Разработка молекулярно–цитогенетических методов FISH и CGH (третья «революция»).

Кариотипирование - это цитогенетический метод, дающий возможность проанализировать хромосомы, их число и структуру. С помощью кариотипирования были открыты и описаны многие хромосомные синдромы: Дауна, Патау, Эдвардса, Клайнфельтера, Шерешевского–Тернера, Кошачьего крика и др. Кариотипирование по сей день широко используется для диагностики анеуплоидий и крупных хромосомных аберраций. Однако этот метод имеет ряд недостатков и ограничений.

1. Для анализа необходимо получение препарата делящихся клеток, что требует времени для культивирования клеток. В связи с этим кариотипирование не подходит для предимплантационной диагностики при ЭКО.

2. Стандартное кариотипирование не может выявить хромосомные перестройки размером менее 5-10 Mb.

Субмикроскопические делеции и дупликации возможно диагностировать методом флюоресцентной гибридизации in situ (FISH- fluorescence in situ hybridization), который имеет на порядок более высокое разрешение.

Классический метод FISH-анализа основан на гибридизации известного по нуклеотидному составу ДНК-зонда с участком тестируемой хромосомы пациента и последующим выявлением результата гибридизации по метке – флуоресцентному сигналу в ожидаемом участке.

FISH анализ осуществляется в несколько этапов. В начале проводится денатурация ДНК пациента и денатурация ДНК-зондов. Затем проводится процедура гибридизации: ДНК пациента и ДНК-зонд соединяются друг с другом по принципу комплементарности. Под микроскопом в местах такого соединения наблюдается свечение флюоресцентной метки.

По своей диагностической характеристике ДНК-пробы (зонды) подразделяются на несколько групп:

•**CEP** – **Chromosome Enumerator Probe** - центромерные зонды – позволяют выявить количественные нарушения в кариотипе человека как в метафазе, так и в интерфазе.

**•WCP** – **Whole-Chromosome-Painting** - цельнохромосомные зонды - позволяют выявить сбалансированные и не сбалансированные транслокации.

**•LSI** – **Locus Specific Identificator** - локус специфические зонды – применяются, когда уже имеется подозрение на нарушение в определенной хромосоме.

**•SKY** - **spectral karyotype** - спектральный кариотип. Для скрининга перестроек в кариотипе применяют набор полнохромосомных комбинированных зондов для всех хромосом (24-х цветный FISH).

Благодаря FISH был открыт ряд хромосомных синдромов, описаны различные варианты инверсий, делеций и транслокаций. Метод FISH-анализа из исследовательского постепенно стал превращаться в необходимую аналитическую процедуру и востребован сегодня в пре- и постнатальной диагностике, в мониторинге зигот (бластомеров) при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО).

Метод FISH имеет свои достоинства и недостатки. К достоинствам можно отнести:

1. Метод допускает не инвазивный забор материала. Это существенно при анализе кариотипа плода: возможен забор лишь одной клетки бластомера перед имплантацией, или анализ редких фетальных клеток, циркулирующих в крови матери.

2. Анализ занимает непродолжительное время – обычно 1–3 суток.

3. Не требуется большое количество исследуемого материала. Возможен анализ кариотипа единственной клетки.

Недостатки методики FISH анализа:

1. FISH может обеспечить получение информации только в отношении одного или нескольких специфических регионов, которые были предварительно отобраны для исследования, и не позволяет проведение диагностики на уровне всего генома.

2. Невозможность идентифицировать мелкие интрахромосомные делеции или дупликации, а также перицентрические или парацентрические инверсии.

«Третьей революцией» в цитогенетике стал метод, получивший название Сравнительная геномная гибридизация Comparative Genomic Hybridization, сокращенно CGH**.** Данный метод позволяет провести одновременный анализ всего генома человека на наличие избытка или недостатка генетического материала.

CGH основана на сравнении тестируемой и контрольной ДНК, меченных разными флуорохромами, которые смешиваются в соотношении 1:1 и гибридизуются на метафазных хромосомах кариотипически здорового человека. С помощью специального сканера анализируется интенсивность флуоресцентного сигнала.

В настоящее время используют усовершенствованный метод CGH на микрочипах - array CGH**.** Этот метод отличается тем, что меченая ДНК наносится не на метафазные хромосомы, а на специализированную матрицу, которая содержит образцы фрагментированной ДНК генома человека.

По сравнению с другими методами диагностики геномного дисбаланса CGH имеет ряд очевидных преимуществ.

1. Метод позволяет провести скрининг всего генома на хромосомный дисбаланс в одной реакции гибридизации. Один анализ array CGH эквивалентен 1000 FISH-анализам!

2. Возможно выполнить анализ при очень малом количестве материала.

3. Не требуется приготовления хромосомного препарата пациента, что позволяет избежать появления артефактов, связанных с процессом культивирования клеток.

Однако при всех своих достоинствах, метод имеет ряд ограничений. Технология позволяет только выявлять только геномный дисбаланс. Все структурные перестройки, не изменяющие количество хромосомного материала в геноме, останутся не диагностируемыми, поэтому метод не пригоден для выявления сбалансированных транслокаций, инверсий. Еще одним недостатком метода является отсутствие возможности выявления полиплоидии.

Литература

1. Никоненко Т.А. Методы молекулярногенетической диагностики сегодня/ http://www.ramld.ru/articles/files/nikonenkoLM9.pdf
2. http://www.genomed.ru/genomed/files/cma-3-primenenie-hma-v-prenatalnoj-diagnostike-rekomendacii-acog.pdf
3. http://www.shafa.az/page.html?id\_node=299&id\_file=556#.WJvDAvihpBc

**ПРЕИМУЩЕСТВА РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ЛЕЧЕНИИ ГЕМОФИЛИИ**

*Краснова Т. А.*

*Научные руководители: доцент, к.м.н. В.В. Белянин,*

*доцент к.м.н. Н.В. Лазарева*

*Кафедра фармакологии*

*Кафедры пропедевтики внутренних болезней*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

УДК: 616.151.514-085-02:615.273.5

**Резюме.**

Лечение гемофилии препаратами, изготовленными из донорской плазмы, имеет существенные недостатки. Генно-инженерная технология создания рекомбинантных препаратов призвана усовершенствовать лечение и улучшить качество жизни больных гемофилией.

**Ключевые слова:** гемофилия, фармакотерапия гемофилии, рекомбинантные препараты, генно-инженерные препараты, факторы свертывания крови.

**Summary.**

Treatment of hemophilia by preparations made from donated plasma has significant drawbacks. Genetic engineering technology of creation of recombinant preparations is intended toenhance treatment and improve quality of life of patients with hemophilia.

**Key words:** hemophilia, pharmacotherapy of hemophilia, recombinant preparations, genetic engineering preparations, blood clotting factors.

Гемофилия – тяжелый врожденныйгеморрагический диатез, причиной которого является дефицит факторов свертывания. 80% случаев заболевания приходится на дефицит VIII(гемофилия А), около 20% - IX (гемофилия В) факторов[7]. В начале XX века продолжительность жизни больных гемофилией не превышала 15 лет. Сегодня, благодаря соответствующему лечению, качество и продолжительность их жизни в развитых странах практически ничем не отличается от жизни здорового человека[2].

До настоящего времени основным методом профилактики и лечения кровотечений различной локализации у больных гемофилией является заместительная терапия препаратами фактора VIII, позволяющая восполнить его дефицит в плазме до необходимого уровня [7]. Раньше антигемофильные факторы применялись в случае возникновения кровотечения, но это не предотвращало повторных эпизодов кровоточивости и приводило к болезненным осложнениям и зависимости от анальгетиков. Современный подход к лечению предусматривает применение препаратов с профилактической целью, что позволяет уменьшить общую дозу применяемых препаратов, предотвратить возникновение кровотечений и серьезных осложнений и, тем самым, обеспечить полноценно активную жизнь больных гемофилией [2].

В то же время метод имеет существенные недостатки. До 90-х гг. XX века все применяемые для лечения препараты изготавливались из донорской плазмы, что не позволяло исключить присутствия в ней известных или неизвестных вирусов, тем более использование методов инактивации не гарантирует стопроцентной защиты. В этом случае гемофилия приобретает огромное психологическое и социальное значение, поскольку имеется риск инфицирования вирусными гепатитами В, С (ВГВ, ВГС) и ВИЧ, а также чрезвычайно сложно удаляемыми неинкапсулированными вирусами (ВГА, парвовирус В19) [3;7]. По данным Всемирной федерации гемофилии, в Австрии носителями ВИЧ-инфекции являются 31% пациентов с гемофилией, в Японии – 15,5%, в США – 7%. Носителями ВГС в Германии являются 75% больных гемофилией, в Великобритании – 41,9%, в Японии – 22,7%[1].

Опасным осложнением терапии также является развитие ингибиторной формы гемофилии, в основе которой лежит образование антител к вводимому антигемофильному фактору. По некоторым данным, ингибитор при гемофилии А встречается у 20-30% пациентов при профилактическом лечении [7], при гемофилии В данный показатель значительно ниже (1,5%) [1]. Это сподвигло ученых на разработку новой технологии изготовления препаратов, исключающих такой риск. Задача была успешно разрешена с помощью генно-инженерной технологии получения белковых препаратов человека. Препараты, полученные таким способом, называют рекомбинантными. В данном обзоре приведены основные сведения о данной группе препаратов.

Для приготовления рекомбинантных препаратов (РП) необходимы клетки животного, которые бы воспринимали и встраивали в свой генетический аппарат ген клеток человека, кодирующий биосинтез необходимого фактора свертывания крови (ФСК). Пригодными для этой цели оказались клетки почек хомячков. ДНК, содержащую гены ФСК, связывают с вектором – другим участком ДНК, который облегчает их работу. Затем рекомбинантный вектор вводят в клетки животного, помещенные в питательную среду и после достаточной выработки им ФСК, последующей экстракции, очистки и стабилизации получают рекомбинантные факторы(Рисунок [1]).

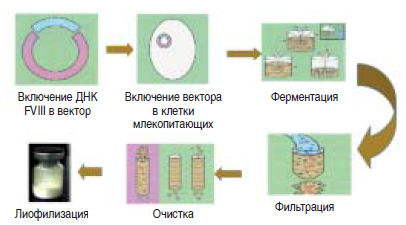


Рисунок. Технология получения рекомбинантных препаратов [1].

К настоящему времени РПФСК прошли в своем развитии 3 этапа. В препаратах 1-го поколения в процессе производства используются белки бычьей плазмы (добавляются в культуру клеток), а в качестве стабилизатора применяется пастеризованный раствор человеческого альбумина. При производстве препаратов 2-го поколения в культуру клеток добавляется раствор человеческого альбумина, но они стабилизированы сахарозой. В производстве РП ФСК 3-го поколения белки плазмы человеческого или животного происхождения не используются вообще [1].

В России зарегистрированы следующие РП ФСК: «Рекомбинат», «Когенэйт ФС», «НовоСэвен», «Коагил-VII», «РеФакто», которые включены в федеральную программу дорогостоящего лечения [1]. Суммарные затраты на ведение одного пациента с использованием «Когенэйта ФС» составляют 1 582 951 руб. в год, а при использовании препарата с удаленным В-доменом («РеФакто») – 2 116 838 руб., что признано экономически целесообразным и должно позволить достичь наиболее оптимального расходования бюджетных средств. В Канаде, Исландии, Ирландии в лечении больных гемофилией используются только рекомбинантные ФСК, в Австралии и Швеции доля рекомбинантных препаратов FVIII составляет 87%, в США – 81%. В России доля рекомбинантных препаратов FVIII составляет только 12,8% [5].

Лекарственные формы рекомбинантного фактора VIII1-го поколения («Когенэйт», «Рекомбинат») были зарегистрированы в России в 2004 году. В то же время в мире начала расти настороженность относительно использования человеческого альбумина и, учтя пожелания Всемирной федерации гемофилии, компания «Байер» (США) разработала препарат, в процессе производства которого используются белки человеческой плазмы, но конечный продукт стабилизирован сахарозой («Когенэйт ФС»).До настоящего времени случаев переноса гемотрансмиссивных инфекций при его использовании зарегистрировано не было, а частота побочных эффектов, непосредственно связанных с введением препарата, составила 0,5 %, среди которых – головокружение, необычный вкус во рту, повышение АД, зуд, тошнота [7].

Еще одна задача, которую ставят перед собой производители – увеличение периода полужизни препарата с целью сокращения количества инфузий при профилактическом лечении. Одним из наиболее перспективных в этом отношении разработок является восстановленный пегилированными липосомами рекомбинантный фактор VIII (ПЕГЛипрФVIII-ФС) [6].Липосомы являются высокоэффективным переносчиком лекарственных средств размером от 20 нанометров,а поверхностная модификация пегилированием (ковалентное связвание полиэтиленгликолем) может удлинять время их циркуляции. Усовершенствованный таким образом «Когенэйт ФС» связан с липосомами нековалентной связью, но отличается высокой афинностью к внешней поверхности. Согласно проведенным исследованиям, средний период без кровотечений составил 7,2±1,7 дня после инфузии без липосом и 13,3±4,8 дня после введения ПЕГ Липр ФVIII-ФС в дозе 35 МЕ/кг. Полученные данные позволили предположить, что данный препарат можно применять для профилактического лечения 1 раз в неделю, против привычных 3-4 раз[6].

Для разрешения проблемы лечения ингибиторной формы гемофилии был разработан РП VII ФСК – «НовоСэвен». Ингибиторы при данной форме заболевания нейтрализуют активность факторов VIII или IX, соответственно снижается образование достаточного количества тромбина, способствующего превращению фибриногена в фибрин. Рекомбинантный фактор VII a увеличивает генерацию тромбина на тромбоцитах вне зависимости от наличия факторов VIII или IX, чем обусловлена его высокая эффективность при гемофилии, в том числе и ее ингибиторной форме. При этом отмечается, что риск развития тромботических осложнений при введении данного препарата чрезвычайно низкий благодаря действию только в месте повреждения сосудистой стенки и отсутствию системной активации процессов свертывания крови. Это открывает перспективы его применения как универсального гемостатического средства при кровотечениях любой этиологии и их предупреждения при проведении хирургических и инвазивных процедур. В 2009 г. зарегистрирован биоаналог препарата «НовоСэвен» – препарат «Коагил-VII», механизм действия и показания к применению которого совпадают с оригинальным препаратом [4].

В 1986 г. впервые было отмечено, что В-домен молекулы FVIII не играет существенной роли в процессе свертывания крови. Это открытие привело к разработке РП FVIII с удаленным В-доменом – препарата «РеФакто».Считается, что отсутствие в конечном продукте человеческих белков, немого В-домена, а также высокая степень очистки обусловливают меньшую вероятность возникновения ингибитора. Однако в литературе были описаны 2 случая выявления ингибитора после перевода пациентов на РП FVIII с удаленным В-доменом [1].

Производителями препарата «Адвейт»(США) были внесены некоторые изменения в процесс изготовления РП: белки человека и животных перестали использовать на всех трех этапах производства. Клетки яичников китайского хомяка, использующиеся при изготовлении препарата «Рекомбинат», были адаптированы к среде, не содержащей белков. На конечном этапе изготовления к препарату добавляются вспомогательные вещества, не содержащие белков: соли (хлорид натрия и кальция), стабилизатор – дисахарид (трегалоза), наполнитель (маннит), буфер (трис, гистидин) и восстановитель (глутатион) [1]. Данные изменения процесса производства и состава концентрата «Рекомбината» позволили исключить риск передачи возбудителей, которые могут содержаться в белках человека или животного.

Препарат «Бенефикс» применяется в США с 1997 г. и используется для лечения гемофилии В, поскольку по своим структурно-функциональным характеристикам соответствует ФСК IX. Его синтез происходит в среде, также не содержащей животных и человеческих белков. Примечательно то, что при применении препарата «Бенефикс» появление ингибитора до настоящего времени не отмечено. Однако доказано, что препарат обладает более низкой эффективностью, чем плазматические препараты ФСК IX, поэтому обычная терапевтическая доза ФСК IX увеличивается на 20–30%.[1]

Генно-инженерные рекомбинатные ФСК являются эффективными и безопасными прокоагулянтными средствами. Основными их преимуществами являются высокая степень очистки, абсолютная вирусная безопасность, а также большая доступность вследствие независимости от возможной нехватки донорской крови. В настоящее время одним из наиболее изученных препаратов (из зарегистрированных в РФ рекомбинантных ФСК) для профилактического лечения, особенно у детей, является «Когенэйт ФС». Однако в плане выработки ингибитора рекомбинантные продукты аналогичны плазматическим концентратам ФСК, поэтому данная проблема остается открытой.

Литература

1. Андреева, Т.А. Рекомбинантные препараты и их роль в современном лечении гемофилии / Т.А. Андреева, Е.А. Селиванов // Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2010. – Т. 9, №1. – С. 32-41.

2. Бут, Г. Гемофилия – Жизнь за высоким забором». Или? // Новости медицины и фармации. – 2007. - №20(228).

3. Вдовин, В.В. Вирусная безопасность концентратов факторов свертывания крови для лечения гемофилии на современном этапе / В.В. Вдовин // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. – 2009. - №3. – С. 16-19.

4.Войцеховский,В.В., Ю.С. Ландышев, С.С. Целуйко, Т.В. Заболотских. Геморрагический синдром в клинической практике / В.В. Войцеховский и др. – 2014, Благовещенск. – С. 230-235.

5.Мелик-Гусейнов, Д.В. Оценка влияния на бюджет применения рекомбинантных факторов свертывания крови VIII у пациентов с гемофилией А/ Д.В. Мелик-Гусейнов // Фармакоэкономика: теория и практика. – 2015. - Т. 3, №3. – С. 118-122.

6. Плющ, О.П. Удлинение периода без кровотечений после профилактического введения рекомбинантного фактора VIII (Когенэйт ФС), восстановленного пегилированнымилипосомами / О.П. Плющ, Т.А. Андреева, Ю.Н. Андреев, Д. Спира // Клиническая геронтология. – 2007. – Т.13., №4. – С. 63-71.

7.Шимановский Н.Л., Епинетов М.А., Мельников М.Я. Молекулярная и нанофармакология. – М.: ФИЗМАЛИТ, 2010. – С. 479-491.

**НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ**

*Дорофеева Н. В.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Фабарисова Л.Г.*

*Кафедра биологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Наследственные болезни – это болезни, вызванные нарушением наследственного аппарата (мутациями).

По уровню повреждения наследственного аппарата различают генные (в основе изменение структуры гена, следовательно, нарушение синтеза белка), хромосомные (изменение структуры хромосом) и геномные мутации (изменение числа хромосом).

В свою очередь наследственные болезни подразделяются на:

1. Моногенные (изменение последовательности нуклеотидов ДНК гена);
2. Митохондриальные (мутации генов митохондрий);
3. Хромосомные (изменение структуры и числа хромосом);
4. Мультифакториальные (определенный мутантный генотип+определенные факторы среды);
5. Эпигенетические (нарушение регуляции работы генов, без изменения структуры ДНК).

*Сравнительная характеристика наследственной патологии*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Моногенные | Митоходриальные | Хромосомные | МФБ |
| Тип наследования | По закону Менделя | По материнской линии | Не наследуются | Полигенное, реже моногенное |
| Время манифестации | В детском возрасте | Чаще во взрослой жизни | С момента рождения, ВПР (кроме половых хромосом) | Во взрослой жизни |
| Характер течения | Прогредиентный (прогрессирующий)  Характерно: задержка физического и психического развития, неврологические симптомы (судороги, рвота, изменение тонуса мышц), необычный запах | Прогредиентный (прогрессирующий)  Происходит поражение нервной и мышечной систем.  Характерно:  миопатии, атаксия, неврологические симптомы (судороги), снижение работоспособности, памяти, слуха, потеря зрения | Конститутивный (не изменяется)  Характерно:  множественные пороки развития, умственная отсталость | Прогредиентный (прогрессирующий) |

Генные (точковые) мутации – это изменения числа и/или последовательности нуклеотидов в структуре ДНК (вставки, выпадения, перемещения, замещения нуклеотидов) в пределах отдельных генов, приводящие к изменению количества или качества соответствующих белковых продуктов.

Замены оснований приводят к появлению трех типов мутантных кодонов: с измененным смыслом (миссенс-мутации), с неизмененным смыслом (нейтральные мутации) и бессмысленных, или терминирующих кодонов (нонсенс-мутации).

В результате миссенс-мутации в кодируемом данным геном полипептиде одна аминокислота замещается на другую, поэтому фенотипическое проявление мутации зависит от функциональной значимости затронутого домена. Не всякая замена аминокислоты отразится на функциональной активности белка, вследствие чего происшедшая мутация может остаться не выявленной. Кроме того, в силу вырожденности генетического кода, не всякая замена основания приведет к миссенс-мутации, возможно, она окажется нейтральной.

В результате нонсенс-мутации кодон, определяющий какую-либо аминокислоту, превращается в один из стоп-кодонов, не транслирующихся на рибосомах (UAA UAG, UGA). Появление приводит к преждевременной терминации трансляции и обрыву полипептидной цепи. Нонсенс-мутации обладают наибольшим повреждающим действием, так как образующиеся при преждевременной терминации трансляции белки не способны к модификации, часто не защищены от действия протеолитических ферментов и быстро деградируют.

*Болезни, причиной которых могут быть нонсенс-мутации***:**

* Кистозный фиброз (вызывается мутациями в гене регуляторного трансмембранного белка);
* Миодистрофия Дюшенна (мутация в гене, который кодирует белок дистрофин);
* Бета-талассемия (β-глобин);
* Синдром Гурлера

Вставки, перемещения или выпадения отдельных оснований, или их коротких последовательностей в пределах гена вызывают сдвиг рамки считывания. При возникновении мутаций со сдвигом рамки считывания повышается вероятность возникновения стоп-кодонов и, соответственно, терминации трансляции.

Генная конверсия: это прямой перенос фрагмента одного аллеля в другой аллель или фрагмента псевдогена в ген.  В результате неправильного спаривания гомологичных хромосом и неравного кроссинговера происходит либо удвоение, либо исчезновение участка хромосомы, содержащего ген РМР22, что является причиной развития болезни Шарко—Мари— Туса или наследственной нейропатии со склонностью к параличам от сдавления. Большинство мутаций при адреногенитальном синдроме (врожденной гиперплазии коры надпочечников) — это последовательности псевдогена в гене 21-гидроксилазы.

Мутации сайтов сплайсинга: нарушают вырезание интронов из первичного транскрипта мРНК, так что вырезается либо часть следующего экзона вплоть до той последовательности в экзоне, которая похожа на обычный сайт сплайсинга (криптический сайт сплайсинга), либо весь следующий экзон. В то же время в зрелую мРНК может включаться часть или даже весь интрон. Пример: муковисцидоз.

Экспансия нуклеотидных повторов: увеличение числа повторов (чаще всего тринуклеотидных), но описаны также случаи увеличения числа повторов, состоящих из 5 и даже 12 нуклеотидов, расположенных как в экзонах генов, так и интронах или даже нетранслируемых областях генов. Эти мутации называются динамическими, или нестабильными. Примеры: хорея Гентингтона, спинальная и бульбарная мышечная атрофия, миотоническая дистрофия, атаксия Фридрейха, синдром ломкой хромосомы X.

Следующий вид мутаций – геномные. К этому классу мутаций относятся изменения кариотипа, выражающиеся в уменьшении/увеличении числа хромосомных наборов либо числа отдельных хромосом. Существует несколько типов геномных мутаций.

1.Гаплодия – уменьшение числа хромосом в кариотипе вдвое. У человека гаплоидный набор хромосом содержится в норме только в гаметах.

2.Полиплоидия - кратное увеличение числа хромосомных наборов в клетке. Полиплоидия может возникнуть в результате:

1) нарушения расхождения хромосом в митозе;

2) слияния клеток соматических тканей либо их ядер;

3) нарушений мейоза, приводящих к образованию гамете нередуцированным числом хромосом.

Среди индивидов, имеющих триплоидный набор хромосом, есть девочки с кариотипом 69,ХХХ и мальчики - 69,XXY. Продолжительность жизни детей с триплоидным набором хромосом крайне мала. Практически все они погибают в первые часы или дни после рождения. Причиной этого являются серьезные пороки центральной нервной системы (гидроцефалия, спинномозговые/черепно-мозговые грыжи), а также пороки сердечно-сосудистой системы. Возникновение триплоидии может быть связано:

1) с нерасхождением хромосом в первом делении мейоза у одного из родителей;

2) с нарушением второго деления мейоза;

3) с теоретически возможным оплодотворением одной яйцеклетки двумя спермиями.

3.Анеуплоидия (анеусомия) - не кратное гаплоидному набору изменение числа хромосом в клетках организма за счет потери или добавления отдельных хромосом.

Различают:

* трисомии (2n+1) — при наличии трех гомологичные хромосомы в кариотипе (например, синдром Дауна – 47, 21+);
* моносомии (2n-1) — в кариотипе отсутствует одна из пары гомологичных хромосом (например, при синдроме Шерешевского-Тернера – 45,ХО);
* нулисомии (2n-2) — в кариотипе отсутствует пара гомологичных хромосом – летальны.

Приводят к резким отклонениям в фенотипе, возникновению хромосомных болезней

Для мутаций, называемых еще хромосомными аберрациями или хромосомными перестройками, характерно изменение структуры хромосом. Существует несколько типов хромосомных аберраций.

1.Делеции - утрата участка хромосомы с образованием центрического и ацентрического фрагментов.

В зависимости от локализации утерянного участка хромосомы делеции делят на:

1) интерстициальные - отсутствует внутренний участок, не затрагивающий теломеру;

2) концевые (дефишенси, или нехватки) — отсутствует теломерный район и прилежащий к нему участок.

Примеры: с-м Вольфа-Хиршхорна, с-м “кошачьего крика”, с-м Вильямса и др.

2. Дупликации — локальное удвоение определенного участка хромосомы. Дуплицированный участок может быть расположен в исходной хромосоме: либо непосредственно примыкая к исходному участку (тандемная дупликация), либо в том же плече, но на некотором расстоянии от исходного участка, либо в другом плече исходной хромосомы.

Одной из причин дупликаций является неравный кроссинговер.

К наиболее хорошо изученным у человека дупликациям относятся синдромы частичных трисомий по хромосомам 4, 7,9, 12 и 14.

3.Инверсии –поворот участка хромосомы на 180°.

Инверсии могут быть:

1) парацентрическими (не включают центромеру в инвертированный участок, так как происходят в одном плече хромосомы);

*2)* перицентрическими (захватывают центромеру).

4.Транслокации — перемещения участков хромосомы в новое положение в ее пределах или обмен участками между разными хромосомами.

Есть два основных типа транслокаций: реципрокные и робертсоновские.

1)Реципрокные — соединение центрического фрагмента одной хромосомы с ацентрическим фрагментом другой, т.е. взаимный обмен участками между двумя негомологичными хромосомами.

Реципрокные транслокации являются сбалансированной хромосомной перестройкой, при их формировании не происходит потери генетического материала. Они являются одной из самых распространенных хромосомных аномалий в человеческой популяции, частота носительства варьирует от 1/1300 до 1/700. Носители реципрокных транслокаций, как правило, фенотипически нормальны, при этом имеют повышенную вероятность бесплодия, сниженной фертильности, спонтанных выкидышей и рождения детей с врождёнными наследственными заболеваниями, так как половина гамет у них генетически несбалансирована из-за неравновесного расхождения перестроенных хромосом в мейозе.

Врождённые сбалансированные транслокации могут давать аномальный фенотип в случае, если точка разрыва находится внутри гена или внутри его регуляторных последовательностей, а также если перестройка приводит к изменению экспрессии гена за счёт так называемого эффекта положения.

3) робертсоновские - слияние негомологичных акроцентрических хромосом в области их центромер с образованием одной метацентрической хромосомы. Транслокации этого типа названы по имени В. Робертсона, предложившего гипотезу о слиянии хромосом для объяснения уменьшения их числа в хромосомном наборе. Робертсоновские транслокации являются одним из наиболее распространенных типов врождённых хромосомных аномалий у человека. По некоторым данным, их частота составляет 1:1000 новорожденных. Их носители фенотипически нормальны, однако у них существует риск самопроизвольных выкидышей и рождения детей с несбалансированным кариотипом. Робертсоновская транслокация с участием хромосомы 21 приводит к так называемому «семейному» (наследуемому) синдрому Дауна.

Литература

1. Бочков, Н.П. Клиническая генетика: Учебник / Н.П. Бочков. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. - 448 с.
2. Гинтер, Е.К. Медицинская генетика: Учебник / Е.К. Гинтер – М.:Медицина, 2003. – 448с.
3. Иванов, В.И. Генетика. Учебник для вузов/ Под ред. академика РАМН В. И. Иванова. - М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. - 638 с.
4. Биология и медицина [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://medbiol.ru/> (дата обращения: 23.01.2017).
5. Молекулярная биология и генетика. Толковый словарь [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://dic.academic.ru/> (дата обращения: 23.01.2017).

**ЭКСПАНСИЯ ТРИНУКЛЕОТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ**

*Кузьменко А. А.*

*Научный руководитель: ассистент Мачнева И.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В 1991 году благодаря усилиям ученых у человека был обнаружен новый тип мутаций – «динамические мутации» и связанные с ними наследственные заболевания – болезни экспансии. Суть этих мутаций заключается в нарастании числа триплетных повторов, расположенных в регуляторной или кодирующей (транскрибируемой) части генов. Впервые такой тип мутации был обнаружен при молекулярном анализе фрагильной (ломкой) Х-хромосомы, наследственная передача которой не подчиняется обычным менделевским законам. Позже аналогичные «динамические» мутации были описаны и при семи других наследственных заболеваниях, контролируемых генами, расположенными в разных хромосомах. Все синдромы с данной мутацией имеют ряд общих признаков, позволяющих объединить их в одну группу. [3]

Экспансия нуклеотидных фрагментов – патологическое состояние: вариант генетической мутации, характеризующийся появлением в ДНК «бессмысленных» повторов тринуклеотидов, которые могут приводить к дезорганизации функционирования ДНК или синтезу патологического белка, накапливающегося в клетках, что приводит к гибели клетки. Лежит в основе ряда заболеваний (болезни Гентингтона, болезни Кеннеди, спиноцеребеллярных дегенерации и т.д.), тяжесть которых зависит от числа повторов тринуклеотидов. Общая особенность этой группы заболеваний – более раннее начало и нарастание тяжести их клинических проявлений из поколения в поколение, что обычно отражает увеличение числа тринуклеотидных повторов (феномен антиципации).

Развитие заболевания может быть обусловлено:

- Потерей или снижением количества белкового продукта

- Синтезом аномального белкового продукта

- Нарушением функций РНК

- Активацией транскрипций «молчащих» локусов генома

Такой тип мутаций обнаружен пока только в генах человека и не встретился ни у одного из видов млекопитающих или других хорошо изученных живых организмов. Показано, что для некоторых генов в норме характерно наличие определенного числа тринуклеотидных повторов, причем, для каждого из них существуетопределенный количественный интервал популяционной изменчивости, при этом число повторов в нормальных аллелях может варьировать от нескольких десятков до нескольких сотен. Появление клинических признаков наблюдается лишь тогда, когда количество повторов превысит критический для данного гена уровень.[1]

Болезни экспансии тринуклеотидных повторов имеют не только общие черты, но и некоторые различия, обусловленные типом и локализацией тринуклеотидных повторов в структуре генов. На основании этиопатогенетических различий можно выделить две группы заболеваний.

Первую группу составляют болезни, при которых возникает экспансия CAG-повторов (анализ на CAG-повторы позволяет определить наличие полиморфизма андрогенового рецептора, который может привести к бесплодию), кодирующих глутамин в транслируемой части гена, что приводит к включению в структуру экспрессируемого им белка полиглутаминового тракта. Экспансия тринуклеотидных повторов при этой группе заболеваний относительно невелика и их количество у больных колеблется в интервале от 40 до 80. При этом транскрипция и трансляция мутантных генов не нарушена, а патология возникает, по-видимому, в результате неправильного функционирования увеличенного в размере белка. Продукты экспрессии этих генов обнаруживаются в различных тканях и органах, что позволяет предполагать их значительную роль в ядерно-белковых и белок-белковых взаимодействиях. Все описанные в настоящее время заболевания этой группы представляют собой наследственные нейродегенерации, характеризующиеся поздним началом и неуклонным прогрессированием. К таким заболеваниям можно отнести хорею Гентингтона (одно из самых тяжелых прогрессирующих нейродегенеративных наследственных заболеваний головного мозга, форма гиперкинеза) и различные варианты спиноцеребеллярных атаксий (нарушений координации движений). [2]

Вторую группу составляют заболевания, при которых экспансия тринуклеотидных повторов возникает в нетранслируемой части гена. В этом случае для появления клинических симптомов необходима большая экспансия повторов (от нескольких сотен до нескольких тысяч), а характер клинических проявлений и темп прогрессирования болезни зависит от функции мутантного белка. Столь резкое увеличение количества тринуклеотидных повторов делает ген нестабильным, как в соматических, так и в половых клетках, что приводит к возникновению феномена антиципации в родословных больных. К заболеваниям этой группы можно отнести миотоническую дистрофию, синдром Мартина-Белл и атаксию Фридрейха.

Данные мутации происходят в два этапа.

На первом этапе происходит увеличение количества повторов выше характерного для популяции уровня при прохождении клетки через мейоз. Для одних заболеваний характерно увеличение количества повторов в мейозе женских половых клеток, для других – в мужских, для третьих – такой зависимости не выявлено. Таким образом, на первом этапе возникает аллель гена, содержащий увеличенное по сравнению с нормой количество тринуклеотидных повторов, но не достаточное для развития заболевания. Это состояние принято называть премутацией. Содержащий такую «премутацию» аллель становится нестабильным, что в ряде случаев приводит к возникновению полной мутации – увеличению количества повторов до критического уровня, необходимого для развития заболевания. Механизмы возникновения этого типа мутаций до конца не изучены. Предполагается, что они могут быть результатом нарушения функции ДНК-полимеразы во время репликации ДНК в митозе или мейозе.

Из всего вышесказанного можем сделать вывод, что болезни, связанные с экспансией тринуклеотидных фрагментов, представляют особый интерес для врачей-генетиков и биохимиков в связи с происходящими морфологическими и молекулярными изменениями в организме.Эффективное лечение болезней экспансии на данный момент не разработано, но, несмотря на это, уже существуют идеи по борьбе с этими болезнями. Создание лекарств оказалось достаточно трудоемким, поэтому ученые обратили свое внимание на генную терапию.

Литература

1. Грищенко И. Экспансия повторов: Новый тип мутаций – причина давно известных заболеваний [Электронный ресурс]// <http://biomolecula.ru/content/2050>
2. Груздев С. Много букв про много букв: болезни экспансии тринуклеотидных повторов [Электронный ресурс]// <http://medach.pro/life-sciences/genetika/trinucleotide-repeat-disorder/>
3. Синдром Энгельмана. Болезнь экспансии тринуклеотидных повторов [Электронный ресурс] // <http://medicalplanet.su/genetica/197.html>
4. Минков А. Болезни экспансии, вызываемые «динамическими» мутациями [Электронный ресурс]// <https://murzim.ru/nauka/genetika/24174-bolezni-ekspansii-vyzyvaemye-dinamicheskimi-mutaciyami.html>

**ИНСУЛИН-ЗАВИСИМЫЙ САХАРНЫЙ ДИАБЕТ И ВОЗМОЖНОСТИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ**

*Мамедова Э. И.*

*Научные руководители: профессор, д.м.н. Кузьмин О., доцент, к.м.н. Ландарь Л.Н.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Сахарный диабет (СД) является одной из наиболее острых проблем здравоохранения России. По данным Международной ассоциации диабета в нашей стране проживает наибольшее в Европейском регионе количество больных: 10,9 млн в возрасте от 20 до 79 лет. Ввиду хронического прогрессирующего характера течения заболевания, у большинства больных СД возникают те или иные осложнения, которые становятся причиной инвалидности и снижения качества жизни [1].

Инсулин-зависимый сахарный диабет (ИЗСД) — заболевание, для которого до сих пор нет иного способа лечения, кроме инсулинотерапии. Однако лечение экзогенным инсулином не является безупречным, при нем часто отсутствует гликемический контроль в физиологических пределах, как это обеспечивается естественным путем В-клетками поджелудочной железы [1]. Подобрать адекватную дозу, соответствующую степени дефицита эндогенного гормона у больного не всегда удается. В основном доза экзогенного инсулина определяется показаниями гликемии и длительностью заболевания. Другие факторы, влияющие на индивидуальный уровень гормона, учесть проблематично из-за их постоянных колебаний. В результате часто возникают тяжелые осложнения и декомпенсации (гипогликемия, ацидокетоз, нефропатии и другие)[3].

Известны попытки введения инсулина альтернативными методами — трансплантацией поджелудочной железы либо выделенных из нее островков. Тем не менее, надежды на восстановление секреции инсулина таким путем не оправдались из-за иммунного отторжения, ограничения донорского материала и непродолжительного периода их действия. Принципиально новую технологию лечения ИЗСД предполагает генная инженерия и, в частности, *генная терапия*. Стратегия генной терапии развивается параллельно в двух направлениях. Первое — предполагает замену разрушенных В-клеток больного другими инсулинпродуцирующими клетками, полученными в результате трансформации генома инсулина вне организма (ex vivo) . Второе — перенос инсулинового гена непосредственно в организм больного (in vivo) [4]. Важным моментом в осуществлении генной терапии является целенаправленная доставка генетических конструкций с геном инсулина в культивируемые клетки или ткани организма с обеспечением экспрессии трансгена. Первыми кандидатами на роль таких векторов стали ретровирусы, используемые до сих пор для переноса трансгена и ex vivo, и in vivo, В ретровирусных векторах последовательность, кодирующая структурные вирусные белки, замещается на вводимую ДНК-последовательность. Переносимый структурный ген фланкируется содействующими последовательностями, существенными для его транскрипции и интеграции в геномную ДНК больного. Такая ретровирусная векторная система может переносить 7—8 тыс п. н. экзогенного материала. Дефектные ретровирусные векторы способны обеспечить стабильную экпрессию и последовательность транскрипции в направлении трансгена. Недостатком ретровирусных векторных систем, особенно в случае in vivo у является необходимость наличия пролиферирующих клеток-мишеней и непредсказуемое сайт-встраивание их в геноме клетки.

Трансфицированный геном инсулина клетки может стать альтернативой В-клеткам, если будет обладать рядом необходимых свойств: способностью к процессингу проинсулина в инсулин и глюкозо-стимулированной секреции инсулина, стабильностью генома и иммунологической толерантностью [2]. Прежде всего, предлагали использовать аутологичные клетки, чтобы избежать их иммунологической деструкции. Полученные от больного клетки (печени, кожи, мышц) после трансформации их in vitro должны возвращаться к нему обратно. К сожалению, технически трансформировать первичную культуру, в отличие от клеточных линий, довольно трудно. Она более требовательна и при культивировании часто теряет свою специфику. Для этого были испытаны многие типы клеточных культур. В первую очередь, нейроэндокринные клетки, которым характерны секреторная функция и наличие протеаз, осуществляющих процессинг синтезируемых пробелков. Испытание созданных трансформированных геном ins нейроэндокринных клеточных линий выявило, что большинство из них синтезировали и выделяли инсулин, но стимуляция его секреции осуществлялась не глюкозой, а другими секретогенами и опосредовалась Са+2-деполяризацией клеточной мембраны. Поэтому такие нейроэндокринные клетки не могли обеспечить физиологически необходимый организму уровень инсулина. К тому же наряду с инсулином в них часто происходила косекреция собственных клеточных гормонов, являющихся антагонистами действия инсулина.

ИЗСД — сложное, полигенное, многоуровневое заболевание и, по-видимому, поиск одного пути лечения, направленного на восполнение недостающего в организме инсулина, будет недостаточным. Диабет I типа — аутоиммунное заболевание, поэтому разрабатываются, с одной стороны, возможные кандидаты на аутоантигены и, с другой, — лечение диабета генно-инженерным способом, основанное на прерывании процесса иммунного разрушения В-клеток поджелудочной железы.

Несмотря на очевидные достижения в исследованиях генотерапии ИЗСД, реальных успехов пока не достигнуто. Наиболее сложными моментами остаются создание эффективных и надежных систем доставки ms-гена, достижение регулируемой экспрессии и синхронности секреции продукта гена согласно физиологическим требованиям организма. Возможно, что генно-иммунологический подход, если при этом действительно будут устраняться аутоантигены, т. е. причина развития болезни, в дальнейшем и будет наиболее перспективным методом.

Литература

1. Зеленин А. В., Кайгородов В. А., Прасолов В. С. Генная терапия сегодня и завтра // Молекуляр. биология.— 1998.—32, № 2.—С. 219—228.
2. Гребенщиков Ю. Б., Мошковский Ю. Ш. Физико-химические свойства, структура и функциональная активность инсулина.—М.: ВИНИТИ, 1986.—С. 186. (Итоги науки и техники. Сер. Биоорг. химия; Т. 7).
3. Левин О.С. Полиневропатия: клиническая лекция для врачей. – М.: РМАПО, 2001. – 26 с.
4. Palazzuoli A. The role of erythropoietin stimulating agents in anemic patients with heart failure: solved and unresolved questions / A. Palazzuoli, [et al.] // Ther. Clin. Risk Manag. – 2014. – Vol. 10. – P. 641-50.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В СТОМАТОЛОГИИ**

*Вопиловская К. В., Пацевич Е. С*.

*Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В., доцент, к.м.н Бучнева Н.В.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

УДК 616.314.17-008.1:575.22

**Резюме.** В обзорной статье представлен современный метод молекулярной диагностики в стоматологии пародонтопатогенных бактерий при помощи генетических маркеров – методика проведения диагностики с применением полимеразно й цепной реакции (ПЦР). Детально рассмотрены достоинства и значение данного метода в постановке правильного диагноза и адекватного лечения.

**Ключевые слова:** молекулярно-генетические маркеры, пародонтит, челюстно-лицевая область, стоматология, полимеразно цепная реакция.

**Summary.** In a review article we present a modern method for molecular diagnosis in dentistry using genetic markers parodontopathogenic bacteria – the methodology of diagnostics using the polymerase chain reaction (PCR). A detailed analysis of the dignity and importance in the correct diagnosis and appropriate treatment.

**Key words:** molecular-genetic markers, periodontal disease, maxillofacial area, dental, polymerase chain reaction.

Воспалительные заболевания челюстно-лицевой области (ЧЛО), в частности периодонта, занимают важное место среди проблем современной хирургической стоматологии. Актуальность вопросов комплексной диагностики и лечения данной патологии определяют широкая распространенность среди населения, высокий процент потери зубов у пациентов, недостаточная эффективность традиционной терапии, частое развитие осложнений [2, 5, 8]. За последние годы увеличилось число больных с воспалительными заболеваниями ЧЛО, а также возросло количество вялотекущих форм заболевания, сопровождающихся частыми рецидивами [1]. Проявление и прогрессирование признаков пародонтита зависит от ряда факторов, включая индивидуальные социальные и поведенческие особенности, генетическую предрасположенность, изменения на уровне зубов, микробный состав оральной флоры [4, 8]. Но ведущую роль в этиологии и патогенезе пародонтита большинство авторов отводят пародонтопатогенной микрофлоре [2, 5, 6, 8]. К ней относятся Haemophilus actinomycetemcomitans, Treponema denticola, Porphyromonas gingivalis, Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Streptococcus sanguis, Streptococcus oralis и другие [6, 8]. Данные микроорганизмы считаются «маркерными», так как они идентифицируются в полости рта при периодонтите (таблица). Было доказано, что активность и патогенность данных микроорганизмов напрямую влияют на интенсивность воспалительного процесса в пародонте [5]. Все это определяет основной подход к терапии заболеваний пародонта – уничтожение патогенных возбудителей и устранение последствий их воздействия на ткани. При этом, чем более целенаправленным будет воздействие на определенные микроорганизмы, тем эффективнее будет данная терапия.

*Таблица. Частота встречаемости пародонтопатогенных микроорганизмов у больных хроническим пародонтитом* *[5].*

|  |  |
| --- | --- |
| S.mutans | 80,0% |
| S.sangulis | 50% |
| S.oralis | 51,7% |
| P.gingivalis | 35,0% |
| T.denticola | 25,0% |
| S.sobrinus | 21,7% |
| S.salivarius | 15,0% |
| S.macacae |

Сложность выполнения традиционных культуральных методов и низкая информативность серодиагностики существенно ограничивают диагностику и разработку методов лечения пародонтита. На данный момент особый интерес представляют молекулярно-генетические методы диагностики воспалительных заболеваний полости рта [2, 5, 6]. В последние годы в стоматологию внедряется ряд высокоспецифичных и высокочувствительных методов диагностики, основанных на применении ДНК-зондов и полимеразной цепной реакции (ПЦР) [2, 5, 6].

ПЦР представляет собой процесс многократного копирования (амплификации) специфической последовательности ДНК, осуществляемый in vitro. Данный метод обладает наиболее высокой чувствительностью из всех микробиологических методов исследований и используется для обнаружения «маркерных» микроорганизмов [2, 5, 6, 8]. Высокая точность этого метода позволяет избежать диагностических ошибок. Среди достоинств метода ПЦР следует выделить высокую специфичность, быстроту и простоту применения, необязательное присутствие живых микроорганизмов [2].

Для проведения ПЦР необходимо наличие ряда основных компонентов реакции [9]:

1. Праймеры – искусственно синтезированные олигонуклеотиды, идентичные соответствующим участкам ДНК-мишени. Правильно подобранные праймеры обеспечивают специфичность и чувствительность тест-системы.

2. Taq-полимераза – фермент, обеспечивающий достраивание 3'-конца второй цепи ДНК по принципу комплементарности.

3. Смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов – структурные компоненты, используемые для синтеза второй цепи ДНК.

4. Буфер – смесь катионов и анионов, обеспечивающая оптимальное и стабильное значение рН реакционной смеси.

5. Анализируемый образец – подготовленный к внесению в реакционную смесь препарат, содержащий искомую ДНК, служащую мишенью для многократного копирования.

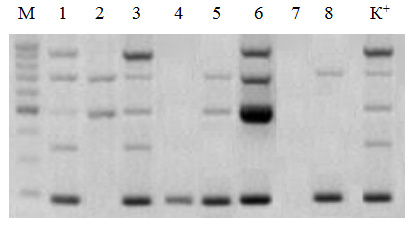
Забор исследуемого материала проводится следующим образом: исследуемую зубо-десневую борозду или периодонтальный карман изолируют от слюны, забор материала осуществляют в наиболее глубоком участке стерильным эндодонтическим штифтом. Далее штифт помещают в пробирку или стерильный контейнер для транспортировки в лабораторию и проведения ПЦР [5].

Для определения ДНК пародонтопатогенных микроорганизмов существует множество реагентов. Так например в одном из исследований выделение ДНК производили с использованием наборов «ДНК-экспресс» (НПФ «Литех», Россия) [5]. В другом исследовании с аналогичным использованием метода ПЦР для выделения ДНК использовали реагент «Челикс» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Амплификацию ДНК пародонтогенных микробов (P.gingivalis, T.denticola, S.oralis, S.sangulis, S.mutans, S.salivarius, S.sobrinus, S.macacae) проводилась в термоциклере Терцик МС-2 (НПФ «ДНК-Технология», Россия) [6]. Также в дигностических целях применяются такие наборы реагентов, как ГенЛаб (Россия) [7] и «Мультидент-5» [8].

После проведения самой ПЦР следует этап детекции результатов. В современной литературе описаны три основных метода [9]:

1. Электрофоретический.
2. Гибридизационно-ферментный.
3. Гибридизационно-флуоресцентный.

Широкое распространение получил метод электрофореза, основанный на разделении молекул ДНК по размеру (рисунок). В этом случае визуализация результатов проводится в пластине агарозного геля, который представляет собой застывшую после расплавления в электрофорезном буфере агарозу в концентрации 1,6% с добавлением специального красителя ДНК (К+ – положительный контроль, М – маркеры молекулярного веса ДНК, пробы 1-6, 8 – положительные, проба 7 – отрицательная) [8].



*Рисунок. Электрофореграмма продуктов ПЦР в 1,6% агарозном геле [8].*

Другой способ детекции продуктов амплификации основан на гибридизации олигонуклеотидных зондов с продуктами амплификации. Зонды представляют собой искусственно синтезированные участки ДНК, содержащие метку, определяемую специальными приборами. Для проведения данного метода необходимо специальное оборудование – детектор флуоресценции. В процессе своей работы прибор регистрирует флуоресцентное излучение, возникающее в реакционной смеси при освещении образца источником возбуждающего света. Флуорофоры для каждой из мишеней имеют свою длину волны, что позволяет регистрировать одновременно несколько сигналов по соответствующим каналам. Это повышает производительность метода и позволяет свести к минимуму риск контаминации продуктами амплификации [9].

Применение современных методов молекулярно-генетических исследований в практике врача-пародонтолога позволяет оценить риск развития заболеваний пародонта, обосновать его этиологию, назначить адекватную индивидуально подобранную для пациента терапию. Метод ПЦР в диагностике пародонтита уже доказал свою информативность и значимость. Полученные в ходе исследований данные являются прямым подтверждением того, что данный метод является информативным и высокочувствительным, его использование смело может быть рекомендовано для диагностики и подбора лечения болезней пародонта.

Литература

1. Викторов, С.В. Генетическая маркеры острых воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области у детей / С.В. Викторов, С.В. Чуйкина, Э.К. Хуснутдтнова // Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI Веке». – 2010. – №8(Т.12). – С.390-391.
2. Люговская, А.В. Применение молекулярно-генетического метода в диагностике болезней периодонта / А.В. Люговская, Н.А. Юдина, С.А.Костюк // Медицинский журнал. – 2008. – № 4. – С. 38-41.
3. Олейник, Е.А. Использование молекулярно-генетических систем для диагностики воспалительных заболеваний пародонта / Е.А. Олейник, Б.В. Трифонов, Е.Г. Денисова // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2013. – №11(154). – Выпуск 22/1. – С.57-59.
4. Островская, Л.Ю. Использование молекулярных маркеров в обследовании пациентов с патологией пародонта / Л.Ю. Островская, А.П. Могила, А.И. Ханина, Г.Д. Бейбулатова, Л.С. Катханова, А.В. Резанов // Вестник СГТУ. – 2013. – №2(70). – Выпуск 1. – С. 80-86.
5. Тамарова, Э.Р. Особенности микрофлоры полости рта у больных пародонтитом / Э.Р. Тамарова, А.Р. Мавзютов // Электронный журнал «Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН». – 2013. – №3.
6. Тамарова, Э.Р. Молекулярно-генетическая характеристика микрофлоры полости рта при пародонтите / Э.Р. Тамарова, Н.Р. Масагутова // Вестник Челябинского государственного университета. Биология. – 2013. – №7(298). – Выпуск 2. – С. 70-71.
7. Царев, В.Н. Первый опыт детекции молекулярных маркеров пародонтопатогенных видов 1-го и 2-го порядка при одонтогенных гнойно-воспалительных процессах челюстно-лицевой области с применением разных диагностических систем / В.Н. Царев, Е.В. Ипполитов, В.В. Шулаков, И.В. Никитин // Российская стоматология. – 2014. – №2. – С.43-46.
8. Николаева, Е.Н. Молекулярно-генетические маркеры риска генерализованного пародонтита и их применение в диагностике: Автореф. дис. док. мед. наук. – Москва. – 2007 – 50 с.
9. Щелкунов, С.Н. Генетическая инженерия // Новосибирск: Сиб. унив. изд-во. – 2004. – 496 с. – илл.

**ПРИМЕНЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

*Богданова И. И., Бадрутдинова Д. В.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н. Белянин В.В.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

**Резюме.** В научном обзоре описаны строение моноклональных антител и их классификация. Раскрыт механизм действия моноклональных антител на опухолевые клетки.

**Ключевые слова:** моноклональные антитела, антитела, онкологические заболевания, терапия онкологических заболеваний.

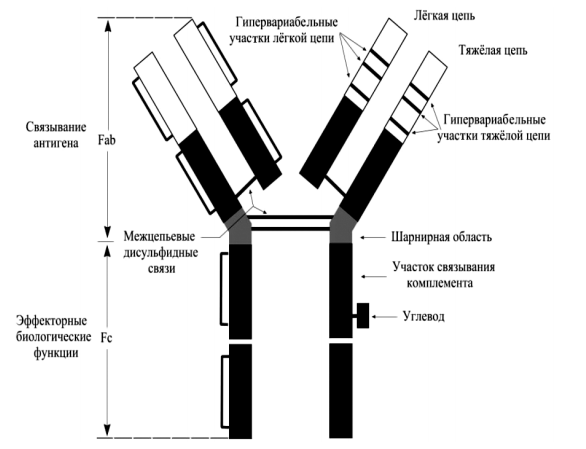
**Summary.** The structure of monoclonal antibodies and their classification are given in the scientific review. The mechanism of action of monoclonal antibodies on tumor cells is opened.

**Key words:** monoclonal antibodies, antibodies, oncological diseases, therapy of oncological diseases.

Злокачественные новообразования занимают одно из ведущих мест в структуре смертности населения во всем мире. По данным министерства здравоохранения Российской Федерации ежегодно диагностируется более 3 миллионов новых случаев заболевания, а количество смертей, вызванных раком, составляет 1700000 человек [5].

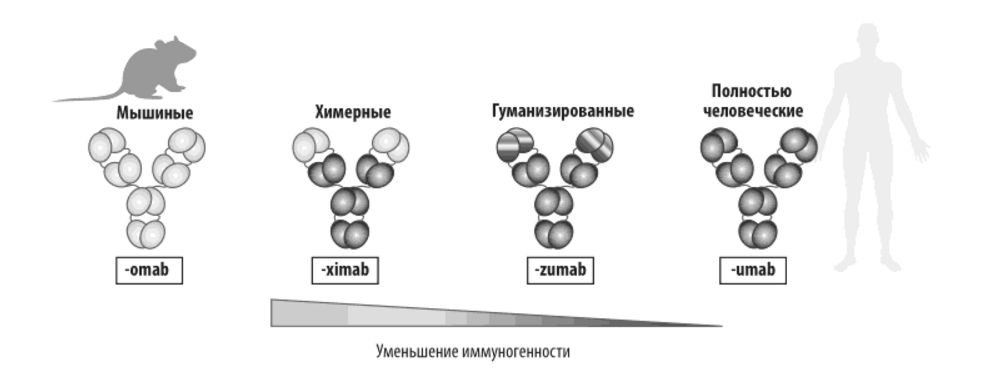
Одни методики лечения онкологических заболеваний применяются при любом виде опухоли. Они являются частью стандартной схемы лечения пациента: хирургические операции, химиотерапия, лучевая терапия. Активное развитие молекулярной биологии и биотехнологии привело к открытию новых возможностей для развития иных подходов к лечению онкобольных. Достижения в области генной инженерии позволили создать новые гуманизированные антитела, применяющиеся в онкологической практике. Лечение с помощью моноклональных антител с противоопухолевой активностью является одним из самых безопасных методов [1]. В статье пойдет речь о применении моноклональных антител.

Моноклональные антитела вырабатываются иммунными клетками одного клеточного клона, т.е. произошедшими из одной плазматической клетки-предшественницы. Это иммуноглобулины, которые состоят из четырёх цепей – двух тяжелых и двух легких, имеют два домена – постоянный (или Fc-фрагмент) и гипервариабельный (или Fab-фрагмент). Постоянным доменом антитело фиксируется к рецепторам лимфоцита, а гипервариабельным – к антигену (рисунок 1) [3].



*Рисунок 1 – Строение моноклонального антитела [3]*

Названия всех моноклональных антител заканчивается на «-mab» (от monoclonal antibody). В названии «мышиных» антител присутствует окончание «-omab», химерных - «-ximab», гуманизированных - «-zumab», человеческих – «-umab». Иммуногенность разных видов антител отличается по степени выраженности (рисунок 2) [2].



*Рисунок 2 – Номенклатура моноклональных антител [2]*

Выделяют три класса моноклональных антител [3]:

1. Неконъюгированные антитела:

- связывающиеся с рецептором;

- связывающиеся с лигандом;

1. Конъюгированные антитела:

- с изотопом;

- с растительными или бактериальными токсинами или цитостатиками;

1. Анти-идиотипические средства (вакцины).

Моноклональные антитела реализуют свое действие двумя путями: связываются с антигенами, которые запускают механизмы иммунного ответа, либо с антигенами, обеспечивающими пролиферацию и рост опухолевых клеток, не взаимодействуя с иммунной системой. Основными механизмами действия АТ являются индукция апоптоза, антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность, блокада рецепторов и прерывание внутриклеточных сигнальных цепей, блокада биоактивных молекул, участвующих в реализации онкологического фенотипа, индукция идиотип-антиидиотипического ответа [6]. Самым значимым механизмом является клеточно-опосредованная цитотоксичность. Моноклональное антитело связывает антиген, который находится на поверхности опухолевой клетки, после чего активируется многоэтапная система комплемента. На последнем этапе формирования системы образуется белок C9, основной функцией которого является формирование отверстий в клеточной стенке опухолевой клетки, что, в результате, приводит к её гибели [3].

Подробнее механизм действия можно рассмотреть на примере алемтузумаба (Кэмпаса) – препарата для терапии хронического лимфолейкоза. Гипервариабельный домен алемтузумаба соединяется с антигеном CD52 на поверхности лимфоцитов, а постоянный домен — с Fc-рецепторами на поверхности цитотоксических клеток, которые уничтожают мишень (ADCC — антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность). Помимо этого, активируется система комплемента, что приводит к образованию комплекса, разрушающего мембрану опухолевой клетки (CDC — комплемент-зависимая цитотоксичность) [4].

В настоящее время, несмотря на преимущества моноклональных антител над другими способами терапии опухолевых заболеваний, ученые сталкиваются с проблемами биохимической нестабильности моноклональных антител (требующей особых условий хранения), иммуногенности мышиных моноклональных антител, сложность фармакокинетики (плохая экстравазальная диффузия), быстрое изменение иммунных комплексов на поверхности клетки [3].

Моноклональные антитела все активнее применяются для лечения онкологических заболеваний. Они являются наиболее безопасным методом терапии онкологии по сравнению с лучевой терапией и химиотерапией: моноклональные антитела имеют низкую токсичность и способность активировать иммунную систему. С каждым годом увеличивается количество выпускаемых препаратов. В настоящее время целый ряд фармацевтических компаний работает над созданием моноклональных антител нового поколения.

Литература

1. Барышников, А.Ю. Новые противоопухолевые препараты на основе моноклональных антител / А.Ю. Барышников, М.Р. Личиницер, Е.В. Степанова // Материалы VI Российской онкологической конференции. (Москва, 26-28 ноября, 2002 г.) – Москва, 2002.
2. Будчанов, Ю. И. Моноклональные антитела. Использование в диагностике заболеваний и лечебные моноклональные антитела. Методические рекомендации для студентов лечебного, педиатрического, стоматологического и фармацевтического факультетов // - Тверь. - 2012г.- 22 с.
3. Моисеенко, В.М. Возможности моноклональных антител в лечении злокачественных опухолей / В.М. Моисеенко // Практическая онкология. –2002. - №3-4. – С.253-261.
4. Никитин, Е.А. «Волшебные пули»: моноклональные антитела в онкологии / Е.А. Никитин, О.И. Глазкова // Лечащий врач. – 2007. - №6. – С.8-11.
5. Сайт Министерства Здравоохранения Российской Федерации [Электронный ресурс]: https://www.rosminzdrav.ru
6. Шимановский, Н.Л. Молекулярная и нанофармакология /Н.Л. Шимановский, М.А. Епинетов, М.Я. Мельников // – М.:ФИЗМАТЛИТ, 2010. – 624 с. – ISBN 978-5-9221-1208-6.

**ПРОТЕОМИКА В ДИАГНОСТИКЕ АКУШЕРСКОЙ ПАТОЛОГИИ**

*Буркутбаева М. М.*

*Научные руководители: д.м.н., проф.Константинова О.Д.,*

*к. б.н. Лебедева Е.Н.*

*Кафедра акушерства и гинекологии*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Протеомика — это новое направление научных исследований, которое изучает качественный и количественный состав, модификации и структурно-функциональные свойства белков и их комплексов. Развитие протеомики стало возможным после расшифровки структуры геномов и создания геномных карт живых объектов, включая человека. Оказалось, что число кодируемых в геноме человека белков в несколько раз больше, чем генов. Многообразие белков обусловлено наличием сложно регулируемых процессов (процессинг мРНК и белка), посттрансляционными модификациями белка (фосфорилирование, метилирование, ацетилирование, убиквитинирование, гликозилирование, окисление, нитрозилирование). В настоящее время методы протеомного анализа биологических объектов опираются на современные высокотехнологичные подходы молекулярной биологии в медицине.

Первый этап исследования связан с высокочувствительным двухмерным электрофорезом в полиакриламидном геле, который позволяет разделять белки по молекулярной массе и изоэлектрической точке.

Второй этап связан с анализом электрофореграммных пятен, ассоциируемых с белковыми фракциями.

Третий этап — с идентификацией индивидуальных пептидов с помощью масс-спектрометрии.

Современные технологии протеомного анализа позволяют проанализировать несколько тысяч белков в одном образце и выявить изменения их концентраций. Протеомика, будучи фундаментальной наукой, незаменима при решении ряда медицинских и прикладных научных задач. В последние годы протеомика активно развивается во всем мире и достигла впечатляющих успехов в области протеомной диагностики ряда заболеваний, включая наиболее распространенные формы рака: рак яичника, желудка, простаты, заболевания сердечно-сосудистой системы.

В последнее время протеомный анализ стал использоваться в акушерстве в качестве важного инструмента для выявления возможных биомаркеров осложнений беременности на ранних этапах, для оценки эффективности лечения и для понимания патофизиологии заболеваний. Белки, которые реализуют информационную программу в женском организме, играют ключевую роль во всех процессах, происходящих в системе мать—плацента—плод. При нарушении процессов гомеостаза и развитии акушерской патологии в протеоме (в системе всех белков) наступают изменения, которые выражаются в появлении или исчезновении отдельных белковых фракций. Новые исследования позволили выявить изменения в составе белковых комплексов при преждевременных родах, гестозе, внутриутробной задержке роста плода. Описаны различия в протеоме изученных биологических образцов, включая кровь, амниотическую жидкость, секрет из шейки матки, содержимое влагалища, мочу, трофобласт плаценты при физиологической и осложненной беременности. Идентифицированы белки и их совокупности, характерные для беременности, осложненной преэклампсией, для спонтанных преждевременных родов и задержки внутриутробного развития плода.

Важной биологической средой организма, быстро реагирующей изменением своего состава на патологические процессы, происходящие в организмах матери и плода, являются околоплодные воды, белки которых имеют как материнское, так и фетоплацентарное происхождение. Протеомный анализ околоплодных вод может представлять весьма ценную информацию о течении беременности, состоянии плода и, как следствие, дает возможность прогнозировать состояние новорожденного.

В последние годы в литературе начали появляться работы по изучению протеомного состава амниотической жидкости. Однако в этих исследованиях отсутствуют сведения о динамике протеомного спектра при задержке роста плода (ЗРП), а данные при гестозе весьма малочисленны и относятся только к состоянию преэклампсии. В то же время указанные осложнения беременности до настоящего времени остаются ведущими акушерскими причинами, приводящими к пренатальной патологии.

В исследовании, проведенном на базе Ростовского НИИ акушерства гинекологии проводилось  изучение протеомного состава амниотической жидкости при физиологической беременности, ЗРП и гестозе для выявления белков-маркеров акушерской патологии.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что протеомный профиль околоплодных вод при физиологической беременности характеризуется значительной гетерогенностью.

Сопоставление белкового состава амниотической жидкости в процессе развития неосложненной беременности позволило выявить 3 белка отличия, которые отсутствуют во II триместре и появляются в III триместре беременности: транстиретин, кальгранулин А (белок S100-A8) и кальгранулин B (белок S100-A9). Экспрессия транстиретина в период завершения беременности, очевидно, связана с процессами подготовки щитовидной железы плода к постнатальному функционированию, а появление кальгранулинов в этот период определяется их участием в процессах регуляции сократительной активности миометрия посредством Ca2+-зависимых реакций.

В околоплодных водах женщин с ЗРП во II триместре беременности отсутствуют 7 белков, характерных для аналогичного периода нормальной беременности, в числе которых идентифицированы 3: связывающий жирные кислоты эпидермальный белок, участвующий в регуляции трансмембранных процессов и клеточной дифференцировки, неферментативный антиоксидант гаптоглобин и антиоксидантный фермент пероксиредоксин-2. Можно полагать, что нарушение синтеза этих антиоксидантов способствует усилению окислительных процессов и развитию оксидантного стресса, имеющегося при ЗРП на фоне плацентарной недостаточности. Остальные 4 белка не удалось идентифицировать в связи с их недостаточным количеством для достижения чувствительности используемого масс-спектрометра.

Наряду с отсутствием в околоплодных водах во II триместре при ЗРП вышеуказанных белков выявлено появление 10 белков, отсутствующих при физиологической беременности, из которых идентифицированы 3: гиппокальцин-подобный белок-1 (нейрокальцин дельта), CDC37-подобный белок, NKG2D лиганд-2. Появление этих регуляторных белков в околоплодных водах у женщин 2-й группы, по-видимому, имеет большое значение в механизмах развития данной патологии. Так, экспрессия NKG2D лиганда-2, усиливающего секрецию эмбриотоксических цитокинов, в частности фактора некроза опухолей, способна привести к активации апоптоза. В то же время появление нейрокальцина дельта, участвующего в ингибировании нейронального апоптоза, можно рассматривать как компенсаторный процесс, предотвращающий переход апоптоза в апонекроз в структурах мозга плода. Аналогичную роль, по-видимому, играет появление CDC37-подобного белка, который контролирует смену фаз клеточного цикла и поддерживает пролиферацию.

В околоплодных водах, взятых при ЗРП во время родов, количество дополнительных белков по сравнению с таковым во II триместре беременности снижается в 2 раза. Из 5 появившихся белков идентифицированы 2 - NKG2D лиганд-2 и CDC37-подобный белок, которые обнаруживаются при ЗРП и во II триместре. Что касается нейрокальцина дельта, то этот регуляторный белок в отличие от II триместра отсутствует в конце беременности в околоплодных водах женщин 2-й группы. Количество отсутствующих белков к моменту родов, напротив, превышает их число в предыдущем триместре. Кроме вышеуказанных белков отличия II триместра, к их числу относятся транстиретин, кальгранулины А и B, которые и в конце гестации при ЗРП не секретируются в околоплодные воды, хотя в нормальном спектре они в этот период обнаруживаются.

Протеомный анализ околоплодных вод при беременности, осложнившейся гестозом, выявил отсутствие 10 белков, из которых идентифицированы 5: НАДФН-зависимая карбонилредуктаза-3, эпидермальный белок, связывающий жирные кислоты, гаптоглобин, кальгранулины А и B. Среди них следует особо выделить НАДФН-зависимую карбонилредуктазу, принимающую участие в регуляции окислительно-восстановительных реакций и энергетического обмена. Модификация экспрессии этого фермента может нарушить указанные процессы, играющие важную роль в обеспечении нормального течения беременности и развития плода. Амниотическая жидкость при гестозе по сравнению с таковой при физиологической беременности содержит 7 дополнительных белков, в том числе С-участок каппа-цепи иммуноглобулина, супрессор-1 метастазирования рака молочной железы и белок-1, содержащий AIG2-подобный домен. Дополнительные белки в амниотической жидкости у женщин 3-й группы, появляющиеся при гестозе, очевидно, также имеют патогенетическое значение в развитии этого осложнения беременности. Так, супрессор-1 метастазирования рака молочной железы репрессирует ген ядерного фактора NF-kB, ответственного за экспрессию антиапоптотических факторов, цитокинов и их рецепторов, ангиогенных факторов роста, ряда ферментов, в том числе NO-синтазы и циклооксигеназы. Угнетение продукции этих биорегуляторов может способствовать запуску программы апоптоза в плаценте, накоплению реактивных форм кислорода, приводящему к развитию сидантного стресса. Появление в амниотической жидкости при гестозе мембраносвязанного белка, содержащего AIG2-подобный домен, свидетельствует о повреждении клеточных мембран в фетоплацентарном комплексе.

При анализе результатов исследования околоплодных вод, взятых во время родов, у женщин 2-й и 3-й групп обнаруживаются как общие изменения протеомного спектра по сравнению с таковым при физиологической беременности (отсутствие эпидермального белка, связывающего жирные кислоты, гаптоглобина, кальгранулинов А и B), так и отличия: появление при ЗРП ряда белков, отсутствующих при гестозе, в их числе НАДФН-зависимая карбонилредуктаза-3, CDC37-подобный белок, NKG2D лиганд-2. При беременности, осложнившейся гестозом, появляются белки, не выявленные при ЗРП: пероксиредоксин-2, транстиретин, С-участок каппа-цепи иммуноглобулина, белок-1, содержащий AIG2-подобный домен, супрессор-1 метастазирования рака молочной железы.

Резюмируя полученные данные, можно заключить, что развитие осложненной беременности происходит на фоне изменения продукции белков, участвующих в регуляции апоптоза, клеточной дифференцировки и пролиферации, мембранного транспорта, поддержания про- и антиоксидантного баланса и других важных биологических процессов. Эти изменения, по-видимому, имеют патогенетическое значение в формировании осложнений беременности. Различие в протеомных спектрах, очевидно, определяет специфику развития акушерской патологии.

Таким образом, проведенные нами исследования расширяют представления о молекулярных механизмах развития ЗРП и гестоза, занимающих лидирующее место в структуре материнской и перинатальной заболеваемости. Выявленные белки отличия околоплодных вод могут быть использованы в качестве информативных маркеров акушерской патологии.

Литература

1. Прокопенко В.М. / Применение протеомного анализа в акушерстве (первые результаты исследований) // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – №1. – С.28-32
2. Стародубцева Н.Л., Бугрова А.Е., Кононихин А.С. и др. / Возможность прогнозирования и ранней диагностики преэклампсии по пептидному профилю мочи // Акушерство и гинекология. – 2016. – №6. – С.46-52
3. Стародубцева Н.Л., Попов И.А., Николаев Е.Н. и др. / Поиск воспроизводимых биомаркеров для диагностики преэклампсии // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 2. – С.7-10.
4. Орлов В.И., Погорелова Т.Н., Гунько В.О. / Протеомный спектр амниотической жидкости при физиологической и осложненной беременности // Российский вестник аушера-гинеколога. – 2010. – №6. – С.4-8.

**ВОПРОСЫ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ**

**Особенности использования E. Coli как биосубстрата в синтезе инсулина и соматотропина**

*Гулина Е. И., Маркова Т. Г.*

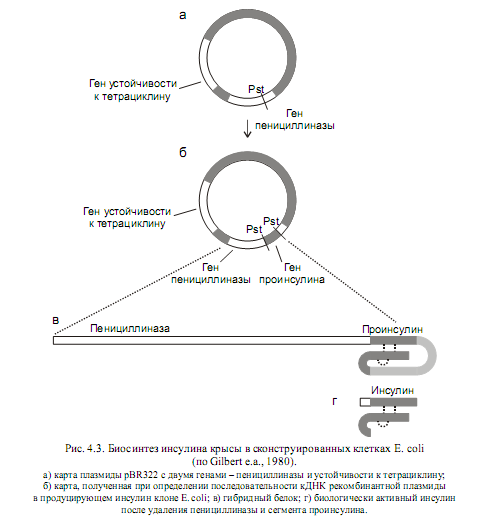
*Научный руководитель: к.б.н., доцент Лебедева Е. Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

В настоящее время синтез таких гормонов как инсулин и соматотропин стал возможен на биосубстрате, представленным кишечной палочкой (E.Coli). До этого инсулин получали из клеток поджелудочной железы животных. Для получения 100 г кристаллического инсулина требуется 800-1000 кг поджелудочной железы, а одна железа коровы весит 200 - 250 грамм. Такой способ получения был высокозатратным, и не все больные сахарным диабетом могли обеспечить себя препаратами.

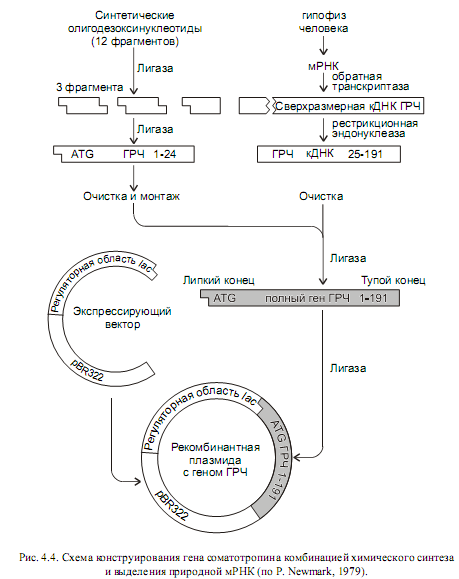
Однако в 1978 году исследовательская компания "Genentec" впервые получила инсулин в специально сконструированном штамме кишечной палочки. Молекула инсулина состоит из двух полипептидных цепей А и В длиной 20 и 30 аминокислот. При соединении их посредством дисульфидных связей образуется нативныйдвухцепочечный инсулин. Было доказано, что он не содержит белков E. coli, эндотоксинов и других примесей, не дает побочных эффектов, как инсулин животных, а по биологической активности от него не отличается. Впоследствии в клетках E. coli был осуществлен синтез проинсулина, для чего на матрице РНК с помощью обратной транскриптазы синтезировали ее ДНК-копию. Схема синтеза на рисунке 1. После очистки полученного проинсулина его расщепили и получили нативный инсулин, при этом этапы экстракции и выделения гормона были сведены к минимуму.



Из 1000 литров культуральной жидкости можно получать до 200 граммов гормона, что эквивалентно количеству инсулина, выделяемого из 1600 кг поджелудочной железы свиньи или коровы, что является более экономическивыгодым способом.

Соматотропин - гормон роста человека, который секретируется гипофизом. Недостаток этого гормона приводит к гипофизарной карликовости. Ранее его получали из трупного материала, так как гормон обладает видовой специфичностью, т. е. в отличие от инсулина гормоны роста животных не имеют активности в организме человека. Из одного трупа: 4 - 6 мг соматотропина в пересчете на конечный фармацевтический препарат. Таким образом, доступные количества гормона были ограничены, кроме того, гормон, получаемый этим способом, был неоднороден и мог содержать медленно развивающиеся вирусы.

Компания "Genentec" в 1980 году разработала технологию производства соматотропина с помощью бактерий, который был лишен перечисленных недостатков. Биосинтез соматотропина (состоящего из 191-го аминокислотного остатка) специально сконструированными бактериями на основе кишечной палочки. Поскольку при синтезе ДНК на и-РНК получается ген, кодирующий предшественник соматотропина, не расщепляющийся в бактериальных клетках с образованием активного гормона, то поступили следующим образом: на 1 этапе клонировали двунитевую ДНК-копию и-РНК и расщеплением рестрикционнымиэндонуклеазами получили последовательность, которая кодирует всю аминокислотную последовательность гормона, кроме 23-х первых аминокислот. Затем клонировали синтетическийполинуклеотид, соответствующий аминокислотам от 1-й до 23-й. Далее два фрагмента объединили вместе и «подстроили» в плазмиду E. coli, после чего клетки бактерии начали синтезировать этот гормон. Механизм синтеза предствлен на рисунке:



В 1982 году гормон роста человека был получен в культуре E. coli и животных клеток в институте Пастера во Франции, а с 1984 года начато промышленное производство инсулина и в СССР.

Таким образом, метод синтеза гормонов на биосубстрате Е. Coliявляется с одной стороны более экономически выгодным, за счет снижения цены лекарственные препараты на основе данных гормонов доступны для более широкого круга пациентов. С другой стороны, продукты генно-инженерного синтеза являются более биологически чистыми, что сводит проявление нежелательных лекарственных явлений к минимуму. Данные преимущества делают препараты привлекательнее для лечения заболеваний, связанных с недостатком и этих гормонов в организме как взрослых так и детей.

Литература

1. Эндокринология и метаболизм, пер. с англ., т. 1-2, М., 1985;
2. Биологическая химия с упражнениями и задачами [текст]: учебник / под ред. С.Е. Северина. – М.:Гэотар – медиа, 2011.-622 с.
3. Клиническая фармакология: учебник/ Михайлов И. Б. — Спб.: Фолиант, 1998. — с. 151—154.
4. Электронный ресурс удаленного доступа (интернет):Биосинтез соматотропина и других гормонов человека. Получение интерферонов– режим доступа: http://medbe.ru/materials/mikrobiologiya-i-biotekhnologii/biosintez-somatotropina-i-drugikh-gormonov-cheloveka-poluchenie-interferonov/; дата обращения 25.01.16г.

**НАНОПРЕПАРАТЫ В ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**

*Овчинникова Т.А., Пархета К.А.*

*Научные руководители: д.м.н., профессор О.Б. Кузьмин,*

*к.м.н., доцент Л.Н. Ландарь*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

**Актульность.** Проблема заболеваемости и [смертности](http://www.sci.aha.ru/ATL/ra73c.htm)от злокачественных новообразований - одна из наиболее актуальных в современной медицине. Она затрагивает интересы всего человечества. По данным Всемирной Организации Здравоохранения, ежегодно в мире умирает от рака более 4 млн человек. Рак входит в число трех основных причин смерти во всех возрастных группах населения после 5 лет как в экономически развитых, так и в развивающихся странах. По уровню заболеваемости злокачественными новообразованиями среди других стран мира Россия занимает 16 место у мужчин и 28 - у женщин. [1, с.6]

Несмотря на значительный [ассортимент](http://www.znaytovar.ru/new369.html) лекарственных средств, предназначенных для лечения этой патологии, высокоэффективных препаратов пока не существует. Также необходимо отметить и определенную, часто достаточно сильную, токсичность этих препаратов для самого организма человека, для его нормальных клеток (подавление иммунитета, язвы, диарея, выпадение волос, уратная нефропатия, импотенция, стерильность, канцерогенность, т. е. появление вторичных раковых заболеваний). Кроме того, они тяжело переносятся больными вследствие тошноты, рвоты. Работа медперсонала с лекарственными средствами, особенно цитостатическими, требует большой предосторожности и, как правило, специального обучения медсестер.  
Минувшее десятилетие ознаменовалось созданием противоопухолевых лекарственных средств нового поколения – нанопрепаратов или высокоизбирательных терапевтических агентов направленного действия.

**Цель нашей работы:** рассмотреть значение нанопрепаратов в лечении злокачественных новообразований, проследить перспективы развития нанотехнологий в данной области.

Предпосылки для создания нанопрепаратов:

* Необходимость доставки лекарственного средства точно в клетку-мишень;
* Распознавание и взаимодействие лекарственного средства только с опухолевыми клетками;
* Уменьшение системного токсического действия.

Лекарственные формы можно размещать на поверхности наночастиц:

* магнитные наночастицы, управляемые внешним магнитным полем;
* золотые наночастицы (самостоятельно или в комплексе);
* биологические объекты (клетки крови, ДНК, бактерии и прочие).
* Либо заключать лекарственную форму внутрь частицы.

**Строение наночастицы.**

Терапевтические наночастицы представляют собой микросферы, названные нанолипогелями (NLG), которые хорошо проходят через высоко проницаемые стенки капилляров опухоли. Внутри этих частиц находятся два известных лекарственных препарата – ингибитор ключевого для опухоли трансформирующего фактора роста бета (ТФР-β) и интерлейкин-2, стимулирующий локальную иммунную атаку на опухолевые клетки. [2, с.96]

**Задача наночастиц**, несущих на своей поверхности лекарство, не «попасться в руки иммунной системы человека». Для этого были применены большие нетоксичные для организма молекулы полиэтиленгликоля (ПЭГ). Такие частицы могут беспрепятственно переносить молекулы лекарственного вещества, не вызывая подозрений у иммунной системы.

Командой «сбросить свой груз» в месте назначения могут быть различные факторы. Например, если наночастица столкнется с определенными внутриклеточными образованиями с кислой внутренней средой.

Наноконтейнеры - это средства «перевозки» медикаментов и генов в клетки. Они без препятствий проникают через клеточную мембрану: иммунная система человека их не атакует, потому что не воспринимает как опасные чужеродные элементы.

Для создания наноконтейнеров доставки лекарств используются самые разнообразные системы:

* липосомальные структуры;
* наносомы, состоящие из липидов;
* наноконтейнеры на основе ДНК;
* белково-липидные нанотрубки;
* природные белковые нанокапсулы;
* нанокапсулы с биосовместимыми полимерными оболочками.

Липосомальные наноконтейнеры.

Включение противоопухолевых препаратов в липосомы увеличивает их накопление в тканях с повышенной проницаемостью сосудов, в том числе и во внутритканевом пространстве опухолей.

Накопившиеся липосомы непрерывно высвобождают препарат.

Для придания липосомам сродства к определенным органам, тканям и клеткам макроорганизма на их поверхности иммобилизуют антитела против их антигенов и различные соединения, препятствующие поглощению липидных везикул макрофагами, клетками печени и других паренхиматозных органов.

Биоконъюгаты.

*Первая липосома* — пустая и покрыта полиэтиленгликолем. Так как опухолевые заболевания сопровождаются хроническим воспалением, то бислойные липидные везикулы, покрытые ПЭГ, усиленно эндоцируются макрофагами и накапливаются в опухолевых областях.

*Вторая липосома* покрыта сиаловыми кислотами, которые предотвращают захват макрофагами и клетками печени липосом. Наноконтейнер, содержащий лекарственное средство. Две липосомы соединены друг с другом.

Современное лечение

Для лечение злокачественных новообразований используется такое активное действующее вещество, как Доксорубицин. Это противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда. Оказывает антимитотическое и антипролиферативное действие.

Механизм действия заключается во взаимодействии с ДНК, образовании свободных радикалов и прямом воздействии на мембраны клеток с подавлением синтеза нуклеиновых кислот. Клетки чувствительны к препарату в S- и G2-фазах. [3, с.132]

Доксорубицин содержится в современных лекарственных препаратах Келикс и Доксолип.

Келикс

Противоопухолевый антибиотик.

Производитель : Бен Венью Лабораториз Инк., США, Носфилд Роуд, 300, Бедфорд, Огайо 44146.

Келикс представляет собой липосомальную форму доксорубицина, длительно циркулирующую в крови и обеспечивающую более высокую концентрацию доксорубицина в опухолевой ткани, чем в нормальных тканях.

Доксолип

Отечественный противоопухолевый препарат.

Основными преимуществами «Доксолипа» по сравнению с аналогами являются: повышенное ингибирование роста опухоли в экспериментах на мышах, накопление в опухоли в 5 раз выше; при этом проявление побочных действий (кардиотоксичность и общая токсичность) ниже.

По сравнению с препаратом «Келикс» «Доксолип» обладает преимуществом более низкой стоимости (приблизительно в 10 раз), сравнимой терапевтической эффективностью и отсутствием риска побочного действия, вызываемого ПЭГ.

Преимущества использования нанопрепаратов:

-Использование наночастиц для переноски больших токсичных доз химиопрепарата помогает избежать системного действия на весь организм;

-Лекарство самостоятельно доставляется непосредственно в опухолевые клетки на поверхности наночастиц и связывается только с этими клетками;

-Включение лекарства в наночастицу защищает субстанцию от деградации в кровотоке, снижает клиренс лекарства, позволяет сохранять терапевтически эффективную его концентрацию в крови.

**Заключение**. Биологическое применение нанопрепаратов – быстроразвивающаяся область нанотехнологии, открывающая новые возможности в лечении злокачественных новообразований человека. Ожидается, что в ближайшем будущем внедрение нанотехнологий приведет к революционным изменениям не только в онкологии, но и в медицине в целом.

Литература

1. Бармина Н. М., Трапезникова Н. Н. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и некоторых других стран СНГ в 2009 г. // Заболеваемость злокачественными новообразованиями и смертность от них населения стран СНГ в 2009 г. М.: ОНЦ РАМН. С. 5 - 7.
2. Баллюзек Ф.В., Куркаев A.C., Сквирский В.Я. «Лечебное серебро и медицинские нанотехнологии. (Treatment by silver as a nanotechnology in medicine)». Изд. «Эко-Атом», СПб, 2006, 96 стр. (Изд. «Диля», СПб, 2007);
3. F.V. Ballyuzek, A.S. Kurkayev, L. Szente. “Nanotechnology to medicine”. Budapest, 2007, 132 c.

**Генная терапия как перспектИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

*Сидоренко А.А.*

*Научный руководитель: к.б.н. Л.В. Гирина*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Терапия любого наследственного и ненаследственного заболевания направлена на устранение или блокирование причины болезни (этиологическая терапия), механизма болезни (патогенетическая терапия) и симптомов болезни (симптоматическая терапия).

Реализация любого из этих трех принципов является достаточно сложным делом: врачу необходимо учитывать множество индивидуальных особенностей организма больного (включая этнические), а также психологические, экономические и этические последствия для самого больного и его ближайших родственников.

В последние годы в развитых странах мира были разработаны подходы к радикальной терапии ряда моногенных и мультифакториальных заболеваний человека. Одной из таких радикальных методик является генетическая терапия.

Генотерапия основана на исправлении (коррекции) генетических дефектов путем введения в «больную» клетку молекул специфического лекарства, придающего ей ранее несвойственные нормальные функции. В роли лекарства выступает клонированный ген или искусственно синтезированная молекула мРНК.

Генотерапия, и клеточная терапия обеспечивали полную компенсацию нарушенных функций (клеток и тканей соответственно) с помощью:

•  либо замены неполноценного (функционально неактивного) гена или аллеля его полноценным аналогом;

•  либо включения в функционирование в организме стволовых клеток параллельно с поврежденными клетками

В развитых странах мира разрабатываются три подхода к генотерапии.

Первый подход - компенсация работы в клетке функционально неактивных аллелей гена экспрессией аллелей его дополнительных копий путем замены патологических структур их нормальными копиями (этот путь применяется редко), а также введение нормальных генетических структур при сохранении патологических копий (применяется часто). Оба пути этого подхода используются для исправления дефектов в соматических и половых клетках.

Второй подход - подавление экспрессии продуктов дефектного гена путем:

•  введения генов-убийц («суицидные гены«), продукты экспрессии которых вызывают гибель избыточно пролиферирующих клеток, не повреждая нормальные клетки;

•  блокирования экспрессии онкогенов с помощью антисмысловых нуклеотидных последовательностей, а также генов, продуцирующих антитела против опухолевых клеток и вирусов;

•  введения в опухолевые клетки нормальных копий геновсупрессоров опухолевого роста.

Третий подход - повышение иммунореактивности клеток-мишеней или активация иммунной системы организма.

Все три подхода особенно перспективны для лечения онкологических и вирусных заболеваний.

Многочисленные генетические исследования выявили, что возникновение раковых клеток — это результат генетических изменений. Ошибки в репликации (копировании) и репарации (исправлении ошибок) ДНК приводят к изменению генов, в том числе и контролирующих деление клетки.Очевидно, что развитие определенных видов рака включают в себя изменение большинства или даже всех этих генов и может проходить различными путями. Из этого следует, что каждую опухоль следует рассматривать как биологически уникальный объект. На сегодняшний день существуют специальные генетические информационные базы по раку, содержащих данные о 1,2 млн. мутаций из 8207 образцов тканей, относящихся к 20 видам опухолей: атлас Ракового Генома ([Cancer Genome Atlas](http://cancergenome.nih.gov/)) и каталог соматических мутаций при раке ([Catalogue of  Somatic Mutationsin  Cancer](http://cancer.sanger.ac.uk/cancergenome/projects/cosmic/) (COSMIC)) [[7](http://biomolecula.ru/content/1483#l2)].

Результатом сбоя работы генов становится неконтролируемое деление клеток, а на последующих стадиях — метастазирование в различные органы и части тела по кровеносным и лимфатическим сосудам. Это достаточно сложный и активный процесс, который состоит из нескольких этапов. Отдельные раковые клетки отделяются от первичного очага и разносятся с кровью по организму. Затем с помощью специальных рецепторов они прикрепляются к эндотелиальным клеткам и экспрессируютпротеиназы, которые расщепляют белки матрикса и образуют поры в базальной мембране. Разрушив внеклеточный матрикс, раковые клетки мигрируют вглубь здоровой ткани. За счет аутокринной стимуляции они делятся, образуя узел (1–2 мм в диаметре). При недостатке питания часть клеток в узле погибает, и такие «дремлющие» микрометастазы могут достаточно долго оставаться в тканях органа в латентном состоянии. В благоприятных условиях узел разрастается, в клетках активируются ген фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактора роста фибробластов (FGFb), а также инициируются ангиогенез (формирование кровеносных сосудов).

Если системы защиты организма не справились, и опухоль все-таки начала развиваться, спасти может только вмешательство медиков.По данным PubMed, интерес к генной терапии (ГТ) раковых заболеваний стремительно растет, и на сегодняшний день ГТ объединяет ряд методик, которые оперируют с раковыми клетками и в организме (in vivo) и вне его (ех vivo) [1].

Генная терапии іn vivo подразумевает перенос генов — введение генетических конструкций в раковые клетки или в ткани, которые окружают опухоль. Генная терапия ех vivo состоит из выделения раковых клеток из пациента, встраивания терапевтического «здорового» гена в раковый геном и введения трансдуцированных клеток обратно в организм пациента. Для таких целей используются специальные векторы, созданные методами генной инженерии. Как правило, это вирусы, которые выявляют и уничтожают раковые клетки, при этом оставаясь безвредными для здоровых тканей организма, или невирусные векторы.

В качестве вирусных векторов используют ретровирусы, аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, лентивирусы, вирусы герпеса и другие. Эти вирусы отличаются по эффективности трансдукции, по взаимодействию с клетками (распознавание и заражение) и ДНК. Главным критерием является безопасность и отсутствие риска неконтролируемого распространения вирусной ДНК: если гены вставляются в неправильном месте генома человека, они могут создать вредные мутации и инициировать развитие опухоли. Также важно учитывать уровень экспрессии перенесенных генов, чтобы предотвратить воспалительные или иммунные реакции организма при гиперсинтезе целевых белков.

Для переноса трансгенных ДНК также применяют невирусные векторы. Полимерные переносчики лекарственных средств — конструкции из наночастиц — используются для доставки препаратов с низкой молекулярной массой, например, олигонуклеотидов, пептидов, миРНК. Благодаря небольшим размерам, наночастицы поглощаются клетками и могут проникать в капилляры, что очень удобно для доставки «лечебных» молекул в самые труднодоступные места в организме. Данная техника часто используется для ингибирования ангиогенеза опухоли. Но существует риск накопления частиц в других органах, например, костном мозге, что может привести к непредсказуемым последствиям [[2](http://biomolecula.ru/content/1483#l11)]. Самыми популярными невирусными методами доставки ДНК являются липосомы и электропорация.

Синтетические **катионные липосомы** в настоящее время признаны перспективным способом доставки функциональных генов. Положительный заряд на поверхности частиц обеспечивает слияние с отрицательно заряженными клеточными мембранами. Катионные липосомы нейтрализуют отрицательный заряд цепи ДНК, делают более компактной ее пространственную структуру и способствуют эффективной конденсации. Плазмидно-липосомный комплекс имеет ряд важных достоинств: могут вмещать генетические конструкции практически неограниченных размеров, отсутствует риск репликации или рекомбинации, практически не вызывает иммунного ответа в организме хозяина. Недостаток этой системы состоит в низкой продолжительности терапевтического эффекта, а при повторном введении могут появляться побочные эффекты [[3](http://biomolecula.ru/content/1483#l12)].

**Электропорация** является популярным методом невирусной доставки ДНК, довольно простым и не вызывающим иммунного ответа. С помощью индуцированных электрических импульсов на поверхности клеток образуются поры, и плазмидные ДНК легко проникают во внутриклеточное пространство [[4](http://biomolecula.ru/content/1483#l13)]. Генная терапия іn vivo с использованием электропорации доказала свою эффективность в ряде экспериментов на мышиных опухолях. При этом можно переносить любые гены, например, гены цитокинов ([IL-12](https://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin_12)) и цитотоксические гены ([TRAIL](https://ru.wikipedia.org/wiki/TRAIL)), что способствует развитию широкого спектра терапевтических стратегий. Кроме того, этот подход может быть эффективным для лечения и метастатических, и первичных опухолей [[5](http://biomolecula.ru/content/1483#l14)].

В зависимости от типа опухоли и ее прогрессии, для пациента подбирается наиболее эффективная методика лечения. На сегодняшний день разработаны новые перспективные техники генной терапии против рака, среди которых онколитическая вирусная ГТ, пролекарственная ГТ (prodrugtherapy), иммунотерапия, ГТ с использованием стволовых клеток.

Если подвести итоги, можно с уверенностью говорить, что наступает эпоха персонализированной медицины, когда для лечения каждого онкобольного будет подбираться определенная эффективная терапия. Уже разрабатываются индивидуальные программы лечения, которые обеспечивают своевременный и правильный уход и приводят к значительному улучшению состояния пациентов. Эволюционные подходы для персонализированной онкологии, такие как геномный анализ, производство таргетных препаратов, генная терапия рака и молекулярная диагностика с использованием биомаркеров уже приносят свои плоды [[6](http://biomolecula.ru/content/1483#l17)].

Литература

1. Биомолекула: Генная терапия против рака. <http://biomolecula.ru/content/1483>
2. Schiffelers R.M., Ansari A. et al. (2004). [Cancer siRNA therapy by tumor selective delivery with ligand-targeted sterically stabilized nanoparticle](http://nar.oxfordjournals.org/content/32/19/e149.abstract?sid=ae90ef5d-29dc-47a4-a8a4-00f07a4c80a5). NucleicAcidsRes. 32, 149;
3. Kwang Y.L. (1997). [Gene therapy — perspectives and promises. Seminar papers](http://www.hkmj.org/article_pdfs/hkm9706p163.pdf). HKMJ 3, 163–172;
4. Muramatsu T., Nakamura A., Park H.M. (1998). [In vivo electroporation:a powerful and convenient means of nonviral gene transfer to tissues of living animals (Review)](http://www.spandidos-publications.com/ijmm/1/1/55). Int. J. Mol. Med. 1, 55–62;
5. Tamura T., Sakata T. (2003). [Application of in vivo electroporation to cancer gene therapy](http://www.eurekaselect.com/63654/article). Curr. GeneTher. 3, 59–64;
6. Biasco L., Baricordi C., Aiuti A. (2012). [Retroviral integrations in gene therapy trials](http://www.nature.com/mt/journal/v20/n4/full/mt2011289a.html). Mol. Ther. 20, 709–716;
7. Биомолекула: Биоинформатика: Большие БД против «большого Р». http://biomolecula.ru/content/1431

**ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ**

*Корнельзен Д. А.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н. Фабарисова Л.Г.*

*Кафедра биологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Один из лучших в России хирургов-онкологов, член многих международных сообществ доктор медицинских наук Вячеслав Егоров сказал: «Молекулярная биология объясняет, почему и как происходят те или иные процессы в организме на молекулярном уровне, то есть объясняет механизмы функционирования органов и систем человека, механизмы развития болезней. Именно это определяет современные взгляды на диагностику и лечение практически всех заболеваний, и именно это отличает новые подходы от старых, описательных».

Под генной терапией подразумевают медицинский подход, основанный на введении в клетки и организм генных конструкций с лечебной целью. Установление локализации и последовательности гена, мутации которого вызывают конкретные заболевания, а также самой мутации и современные способы ее тестирования позволяют диагностировать заболевание в нео- и даже пренатальный период развития организма.

В 1990 г. была осуществлена попытка лечения тяжелого, обычно несовместимого с жизнью наследственного иммунологического заболевания (иммунодефицита), вызванного дефектом в гене, который кодирует синтез фермента аденозиндезаминазы (ADA). У двух девочек в возрасте до четырех лет, страдавших врожденным дефектом в гене ADA, были взяты клетки костного мозга и перенесены в так называемую культуру, то есть для них были созданы условия роста вне организма. В эти клетки ввели ген ADA. Затем трансфицированные клетки были размножены в культуре, после чего введены больным, от которых они были получены. Авторы сообщили о четко выраженном лечебном эффекте [[1](http://vivovoco.astronet.ru/VV/JOURNAL/VRAN/GENETHER.HTM#1)].

Генную терапию на современном этапе можно определить как лечение наследственных, мультифакториальных и ненаследственных (инфекцион­ных) заболеваний путем введения генов в клетки пациентов с целью направленного изменения ген­ных дефектов или придания клеткам новых функ­ций.

В современной медицине врачи используют несколько подходов к внедрению генетических данных в клетку. Фетальная генотерапия – основана на внедрении посторонней ДНК в развивающийся эмбрион на ранних стадиях его формирования. При этом вносимая генетическая информация попадает во все клетки реципиента, в том числе и половые. Это обеспечивает передачу этих генов по наследству другому поколению. Соматическая генотерапия – предусматривает введение врачами измененного материала в соматические клетки организма. В результате достигается необходимый эффект, который по наследству передаваться не может.

Современные методики генной терапии могут успешно использоваться для лечения более 4500 генетических заболеваний. К наиболее распространенным патологическим состояниям такого типа относятся: муковисцидоз; болезнь Хантингтона; гемофилия; боковой амиотрофичекий склероз; дальтонизм; синдром Марфана; поликистозная болезнь почек; болезнь Лауна; недостаточность аденозиндеаминазы; болезнь Вильсона-Коновалоа и др.

Наиболее изученными на сегодняшний день является моногенные болезни, обусловленные мутацией одного гена. Для того чтобы избавиться от проявлений патологического процесса в данном случае, бывает достаточно заменить лишь один нуклеотид в цепочке ДНК. После этого нормальная работа организма восстанавливается и человек становится абсолютно здоровым. Кроме того, существуют и полигенные болезни, обусловленные мутациями одновременно в нескольких областях генома. Это такие распространенные заболевания как сахарный диабет, подагра, расщелины неба и губы. Генная терапия таких заболеваний требует более детального изучения их патогенеза.

В зависимости от конкретной клинической картины может быть выбрано два варианта внедрения нужных генетических данных в организм пациента. Терапия ex vivo – при проведении лечения в клетки, полученные от пациента, вводится необходимые гены. Затем клеточный материал возвращается в организм, после чего начинается синтез недостающих веществ измененными клетками. Для такого способа генной терапии используются только длительно живущие клеточные элементы, чаще всего стволовые клетки.

Генная терапия ex vivo включает следующие этапы:

1) получение дефектных клеток больного и их культивирование;

2) перенос нужного гена в изолированные клетки с помощью трансфекции терапевтической генной конструкции;

3) отбор и наращивание генетически исправленных клеток;

4) трансплантация или трансфузия этих клеток пациенту.

Использование собственных клеток пациента гарантирует, что после их возвращения у него не разовьется иммунный ответ. Средством переноса генов, созданного самой природой, являются вирусы. С целью получения эффективных векторов для доставки генов в основном используют две группы вирусов - аденовирусы и ретровирусы. В генной терапии применяют варианты генетически обезвреженных вирусов. [3].

В случае терапии in vivo ( прямая инъекция генетического материала ) генетический материал вводится непосредственно в организм больного.

Весьма заманчивой для ученых является методика введения необходимых генов непосредственно *в зародыш*. Это позволило бы предупредить развитие многих заболеваний еще на интранатальном этапе. Однако такой способ доступен лишь в экспериментах на лабораторных животных, так как его использование у человека неизбежно сталкивается с этическими трудностями. Поэтому на сегодняшний день, говоря о генной терапии, мы подразумеваем внедрение генов в соматические клетки организма человека.

Рассмотрим конкретные примеры.

Согласно информации ресурса ScienceDaily группе британских и американских исследователей впервые удалось добиться успехов в лечении одного из видов гемофилии методом генной терапии. Речь идет о гемофилии B, при которой нарушено производство белка, отвечающего за свертываемость крови, называемого фактор IX. Так как заболевание вызвано наследственной рецессивной мутацией в X-хромосоме, обычно гемофилией B, как и другими видами гемофилии (А и С), болеют только мужчины (примерно один на 30 тысяч человек). Такие больные в настоящее время вынуждены делать несколько раз в неделю инъекции искусственного фактора IX, производство которого обходится очень дорого.

Предыдущие попытки облегчения симптомов гемофилии В путем введения в организм откорректированной копии гена не увенчались успехом. На этот раз исследователи из Университетского колледжа Лондона (UCL) и детской больницы Св. Иуды (Мемфис, США) для доставки генетического материала, необходимого для выработки фактора IX, в ткани печени пациента использовали аденовирус 8 (AAV8). Он был выбран потому, что хоть и атакует клетки печени, обычно не вызывает заболевания и не интегрируется в ДНК.

В больнице Ройял Фри в Лондоне шести пациентам однократно ввели в вену на руке генетически модифицированный вирус. Двум больным была введена низкая, двум - средняя, а еще двум – высокая доза AAV8. После инъекции содержание фактора IX в крови пациентов составило от 2 до 12% Прежде этот показатель составлял менее 1%.

Одним из приоритетных и быстро развивающихся направлений генной терапии является предотвращение тромбообразования. Суть заключается в генетической модификации эндотелия кровеносных сосудов под действием генов, продукты которых могут предотвращать формирование тромбов (например, ген тканевого активатора плазминогена). К сосудистому эндотелию гены можно доставлять через катетер, введенный в кровеносный сосуд.

Также изучается метод восстановления сосудистой системы сердечной мышцы после инфаркта миокарда путем введения генов, продукты которых индуцируют процесс сосудообразования (гены ангиогенеза). [2].

В последние годы проводятся интенсивные эксперименты по созданию искусственной 47-й хромосомы, которая позволила бы включить большое количество генетического материала с полным набором регуляторных элементов для одного или нескольких терапевтических генов. Исследования показали, что создание такой хромосомы вполне возможно. Проблемным пока является способ введения такой макромолекулы в ядро клетки-мишени. [3].

Отрадно отметить, что в проекте “Геном человека” (стартовал в 1988 году) с 1989 года участвуют и российские медики. Учитывая перспективность методов генной инженерии, 64% всех исследовательских усилий в мире по генной терапии прикладывается к теме лечения рака. Экспериментальные формы лечения методами генотерапии связаны с введением генетического материала (ДНК или РНК) в живые клетки. Генная терапия уже находится на практическом уровне, когда проводятся клинические испытания для многих видов рака.

Но данному направлению современной медицины дают неоднозначные оценки. Так,  биолог Джеймс Козубек (James Kozubek) из Кембриджского университета в Великобритании заявил, что редактирование ДНК для лечения наследственных болезней может лишить человечество гениев. Ученый считает, что генетики должны быть более осторожны при применении таких технологий, как CRISPR (CRISPR — обнаруженная в бактериях система распознавания и разрезания чужеродной ДНК). «Модификация определенных генов может лишить мир нового Шекспира или Стивена Хокинга», - говорит Козубек.

 Данная сфера медицины требует длительной, кропотливой работы ученых и врачей. Несмотря на низкой риск развития побочных реакций, связанных с генной терапией, эффективность переноса генов и их последующей экспрессии в клетках остаётся невысокой. Это связано со сложностями чёткой идентификации генов, кодирующих синтез тех или иных белков; трудностями их выделения и подбора соответствующих векторов. Поэтому проводимые в настоящее время клинические эксперименты можно определить как начальные стадии испытаний генной терапии, вовлекающие очень ограниченное число пациентов. Но, на мой взгляд, это направление более, чем перспективное – для таких тяжелых пациентов, как больных онкологическими заболеваниями и СПИДом, это сможет стать поистине единственным и реальным методом лечения.

Литература

1. Culver K.W. Gene Therapy. A Handbook for Physicians. 2nd Edition NY: Mary Ann Liebert Inc. Publishers, 1996.
2. [А. В. Зеленин. Генная терапия на границе третьего тысячелетия. Вестник Российской академии наук, том 71, № 5, с. 387—395 (2001)](http://vivovoco.astronet.ru/VV/JOURNAL/VRAN/GENETHER.HTM).
3. Н.А. Воинов, Т.Г. Волова. Основы молекулярной терапии. Генная терапия. - Новое в медицине – электронный ресурс. – веб-сайт [http://medbe.ru ]. ( Дата обращения – 28.01.2017).

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА I ТИПА**

*Редюкова Е. А., Краснова Т. А.*

*Научные руководители: доцент, к.м.н. В.В. Белянин;*

*доцент, к.м.н. Жежа В.В.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

УДК: 616.379-008.64-08:575

**Резюме.**

Постоянно появляются сведения о новых открытиях в области терапии сахарного диабета. Значительный вклад в решение этой проблемы вносят достижения в области генетики и молекулярной биологии, цель которых – остановка прогрессирования и полная компенсация заболевания. В обзоре приведены данные о ряде методов генной терапии сахарного диабета I типа.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 1-го типа, генная терапия, инсулин, генноинженерная вакцина.

**Summary.**

The information about new discoveries in the field of therapy of the diabetes mellitus is constantly emerging. A significant contribution to the solution of this problem make advances in genetics and molecular biology, the purpose of which is stopping progression and full compensation of the disease. The review provides data on the number of methods of genic therapy of diabetes mellitus I type.

**Key words**: diabetes mellitus type 1, gene therapy, insulin, genetically engineered vaccine.

Сахарный диабет (СД) – глобальная медико-социальная проблема современности («неинфекционная эпидемия XXI века»). С каждым годом число людей, умирающих от данного заболевания, неуклонно растет [4]. По данным Всемирной организации здравоохранения сегодня насчитывается 422 млн. больных диабетом, из которых 10% приходится на СД I типа [2].

СД I типа характеризуется абсолютной инсулиновой недостаточностью, поскольку β-клетки поджелудочной железы у таких больных практически разрушены и по сути единственным средством сохранить им жизнь является заместительная терапия инсулином [1].

С 1922 г. инсулин выделяли из поджелудочной железы крупного рогатого скота или свиней, однако с развитием генной инженерии появилась возможность создания генноинженерного инсулина человека (ГИЧ), процесс производства которого основан на использовании штамма-продуцента E. coli с рекомбинантной плазмидой. Его преимуществами являются абсолютная идентичность гормону человека, отсутствие противопоказаний и аллергических реакций и большое количество получаемого препарата [1]. Однако инсулинотерапия в любом виде не ведет к излечению, а имеет временный характер.

Давно известно, что возникновение и генетическая предрасположенность СД I типа обусловлены наличием определенных генов HLA системы, расположенных на отрезке 6-й аутосомной хромосомы [6] . 95% всех пациентов с СД I типа — гетерозиготные носители аллелей HLA-DR3 или HLA-DR4 в локусе HLA класса II (Рисунок [3]). Это послужило причиной поиска новых подходов к лечению СД. Одним из них явился метод генной терапии, направленный на уничтожение генетической причины заболевания. Воздействие на гены-мишени сможет предотвратить аутоиммунное разрушение островков, индуцировать регенерацию β-клеток или восстановить секрецию инсулина путем изменения свойств и трансплантации «не β-клеток».

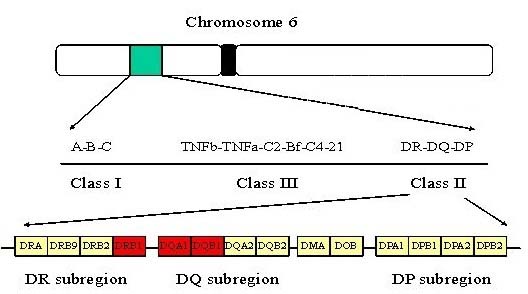


Рисунок. Генетика СД I типа [3].

Активно изучаются антиапоптозные гены, экспрессия которых способна повысить устойчивость β-клеток к токсическому действию цитокинов. Также доказана эффективность воздействия на антиоксидантную систему β-клеток: гиперэкспрессия супероксиддисмутазы (SOD) β-клеток трансгенных мышей делает её устойчивой к воздействию оксидативного стресса, а гиперэкспрессия гена Mn SOD вызывает снижение активности идуцированной ИЛ-1b NO-синтазы, что предотвращает гибель клеток под действием цитокинов.

Для восстановления секреции инсулина разработан метод, основанный на введении больному гена инсулина в составе молекулярной конструкции, обеспечивающей его реализацию в неспецифических здоровых клетках. Это система доставки плазмидного вектора, который содержит полноразмерный ген проинсулина человека, в клетки печени экспериментальных животных – мышей, крыс, свиней определенных линий и пород. В процессе эксперимента препараты ДНК инъецировали в паренхиму печени оперативным путём грызунам и под контролем УЗИ – свиньям. В результате однократной процедуры наблюдалось снижение гипергликемии у всех экспериментальных животных. При этом динамика зависела от дозы препарата. У грызунов определили оптимальное количество препарата, приводящее к полной компенсации СД, в то время как у крупных животных был установлен диапазон дозировки из-за того, что терапевтический эффект у них зависел от начального уровня гипергликемии. Максимальная продолжительность экспериментов на мышах составила 300 суток, на протяжении которых была получена регрессия экспериментального СД, что было подтверждено гистологическими исследованиями органов, а также качественным и количественным исследованием содержания гликогена в клетках печени. Анализ гено- и цитотоксичности трансфекционных препаратов ДНК подтвердил безопасность используемого метода [7].

Причины, по которым формируется абсолютная инсулиновая недостаточность, могут быть самыми разными, но одна из них – аутоиммунная атака Т-лимфоцитов на β-клетки поджелудочной железы. С одной стороны, можно воздействовать на пул Т-лимфоцитов. Эксперименты показали, что трансгенная экспрессия цитокина ИЛ-4 в β-клетках экспериментальных мышей предотвращает аутоиммунный диабет [6].

Другим направлением является восстановление инсулинопродуцирующих клеток, которые были разрушены иммунной системой организма или выращивание новых, предварительно защищенных от атак иммунной системы. По данным результатов Съезда Эндокринологического Общества (Бостон, США), данная проблема может быть разрешена с помощью вакцины против СД. Ученые из Медицинского колледжа Бэйлора (Хьюстон) убеждены, что благодаря этой вакцине возможно достичь излечения 80% людей, страдающих СД I типа. Предложенная вакцина включает в себя три гена: первые два – гены нейрогенина-3, отвечающие за создание кластеров клеток железистых островков, третий – бетацеллюлин – стимулирует их рост. С помощью данной разработки удалось вырастить островки инсулинопродуцирующих клеток в печени экспериментальных животных (мышей). Новообразованные β-клетки, продуцирующие инсулин, были дополнительно снабжены геном белка CD274 во избежание уничтожения их иммунной системой организма. Примечательно то, что CD274 подавлял активность Т-иммунных клеток только вблизи созданных островков, поэтому в целом иммунитет организма не страдал. Анализ показал, что генетическая вакцина оказалась эффективна в 17 случаях из 22. Излеченные мыши достигли 18-недельного возраста, в то время как больные СД мыши обычно жили от 6 до 8 недель. По мнению исследователей, у оставшихся 5 животных диабет развился по другому механизму, так как известно, что аутоиммунное разрушение является хотя и главной, но не единственной причиной возникновения заболевания [5].

Согласно результатам другого исследования, для блокирования иммунной атаки достаточно активации иного специфического белка в поджелудочной железе. Известно, что когда иммунная система успешно справляется с какой-либо инфекцией, регуляторные Т-клетки вырабатывают химические сигналы, подавляющие иммунную реакцию. Ученые считают, что данная способность иммунитета сможет защитить и β-клетки поджелудочной железы от иммунной атаки. Для реализации идеи в β-клетки генноинженерного штамма мышей с моделью диабета был встроен ген белка CCL22. Свойства данного белка были замечены во время изучения рака яичников: опухоли активно его продуцировали, что привлекало к ним регуляторные T-клетки. Это позволяло опухолям избежать разрушения со стороны иммунной системы. По мнению авторов, избирательное выключение иммунной системы в области β-клеток также не влияет на общий иммунитет, а следовательно, не вызывает побочных эффектов. Эти исследования могут привести к созданию препарата, который предотвратит прогрессию СД I типа, а также может быть использован при лечении других аутоиммунных заболеваний [8]. Однако прежде чем метод будет использован в клинической практике, необходимо открытие механизма, по которому данный белок привлекает регуляторные Т-клетки, подавляющие иммунный ответ, а это требует проведения дальнейших исследований.

Таким образом, на сегодняшний день существует достаточно обширный ряд методов генной терапии сахарного диабета 1 типа: введение гена проинсулина, генноинженерная вакцина против СД, активация антиапоптозных генов и специфических белков. Разработка, активное внедрение и дальнейшее совершенствование методов генной терапии этого заболевания, несомненно, подняли и будут совершенствовать в дальнейшем терапию СД I типа.

Литература

1. Баирамашвили, Д.И. Генноинженерный инсулин человека: успехи и перспективы / Д.И. Баирамашвили// Журнал Российского химического общества им. Д. И. Менделеева. – 2005. - №1. – С.34-44.

2. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]: Официальный сайт ВОЗ на русском языке: [веб-сайт]. – Электрон. дан. – 2017.– URL: <http://www.who.int/ru>

3. Генетика сахарного диабета I типа. Особенности наследования: [Электронный ресурс]. URL: <http://meduniver.com>

4. Дедов, И.И. Сахарный диабет – глобальная медико-социальная проблема современности / И.И. Дедов, М.В. Шестакова // Consilium Medicum – 2009. - Т. 1, №12. С.5-8.

5. Сайт о нанотехнологиях в России: [Электронный ресурс]. М., 2004-2014. URL: <http://www.nanonewsnet.ru/>

6. Смирнова, О. М. Перспективы лечения и профилактики сахарного диабета 1 типа/ О.М. Смирнова// Сахарный диабет. – 2000. -№2. – С.13-16.

7. Экспериментальная генная терапия сахарного диабета 1 типа / Е.К. Топорова [и др.] // Журнал АМН Украины– 2010.- №16.

8. Prevention of murine autoimmune diabetes by CCL22-mediated T-reg recruitment to the pancreatic islets. J. Montane [et al.]// J. Clin. Invest. – 2011. - №121. – P. 3024-8.

**ПРИКЛАДНЫЕ ВОПРОСЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

УДК : 615.27:57.085.23:616-006.04

**Динамика пролиферативной активности в культуре клеток нер-2 в условиях активации и блокады опиатных рецепторов**

*Стоцкая А.Д., Клименко А.Е., Вахта В.В.,*

*Политова А.Д., Сидорова А.А.*

*Научный руководитель: доцент д.м.н. Бойченко П.К.*

*Луганский государственный медицинский университет*

Среди онкологических заболеваний новообразования гортани составляют существенную часть, встречаясь среди опухолей других органов с частотой от 0,9 до 8 %. Причем преобладает рак гортани, которым страдают 60-70 % всех больных злокачественными опухолями ЛОР-органов [3]. Но, несмотря на такое распространение, точные первопричины того или иного онкологического заболевания не знают ни онкологи, ни физиологи, ни биохимики. Именно биохимический атипизм опухолевой ткани выражается рядом особенностей обмена, отличающих их от нормальных клеточных популяций. Выяснено, что спектр биохимических характеристик каждой из опухолей неповторим как и механизмы их регуляции [2, 3]. В последние годы исследователи уделяют огромное внимание опиоидной системе как одной из универсальных регуляторных систем организма, оказывающей модулирующее действие на многие процессы [2, 4, 9]. Эта система представлена опиатными рецепторами, опиоидными пептидами, которые являются агонистами этих рецепторов, ферментами, осуществляющими синтез опиоидных пептидов из высокомолекулярных предшественников и ферментами, расщепляющими эти пептиды [2]. Достаточно широко изучена ее роль в регуляции сердечно – сосудистой системы. Так, в ряде работ, показано, что стимуляция μ – и δ - опиатных рецепторов повышает резистентность сердца к аритмогенным воздействиям, не только через вегетативную нервную систему, но и активацию сигнальных систем клеток сердца [9]. Остается открытым вопрос о механизмах влияния опиоидов на опухолевую клетку, решение которого поможет расширить возможности контроля опухолевого роста.

Одной из фундаментальных проблем современной онкологии является поиск методов управления дифференцировкой и пролиферацией клеток. Стимуляция пролиферации чревата запуском анаплазии, а подавление отдельных клеточных популяций при цитостатической терапии неизбежно сказывается не только на опухолевых, но и на нормальных клетках, что приводит к тяжелым побочным эффектам. Манипуляции с геномом эукариотических клеток могут приводить к его нестабильности, что может проявиться в злокачественной трансформации [6]. Таким образом, работы по поиску и изучению веществ, избирательно тормозящих пролиферацию опухолевых клеток, ведутся уже несколько десятков лет. И достаточно перспективными в этом направлении являются опиоиды и их синтетические аналоги.

Более того, обнаружено, что опиоиды и миметики опиоидов могут преодолевать устойчивость к апоптозу клеток злокачественных опухолей, и, таким образом, их можно эффективно применять в клинике в качестве противораковых веществ. Так, наиболее неожиданно, обнаружено, что опиоиды - в частности, метадон - являлись настолько эффективными, как общепринятая химиотерапия (например, доксорубицином) и способы радиотерапии против неустойчивых (т.е. чувствительных) лейкозных клеток, и что нормальные лимфоциты выживали после этого лечения. Таким образомопиоиды также являются эффективными для уничтожения клеток опухолей, но по существу не действуют на нормальные здоровые клетки пациента [7, 8].

**Р**абота выполнялась в рамках научной программы МОЗ Украины «Механазмы апоптоза в культурах клеток и репарационные процессы в тканях» (№ регистрации 0107U001159).

**Целью исследования** являлось определить изменение пролиферативной активности в культуреклеток Нер-2 в условиях активации и блокады опиатных рецепторов.

**Материалы и методы.** Для исследования брали культуру клеток Нер–2, которую предварительно культивировали в полной питательной среде в течение 5 суток после пересева. Культивирование проводили в стандартных условиях при температуре 37° в атмосфере 5% СО2 в HF151UV СО2 – инкубаторе в условиях насыщенной влажности. Жизнеспособность клеток в культуре определяли по тесту с трипановым синим. В эксперимент было взято 6опытных групп. В первой серии эксперимента клетки культивировали с неселективным агонистом опиатных рецепторов даларгином (10-6М), с индуктором апоптозадексаметазоном (10-3мг/мл), а также с даларгином и дексаметазоном одновременно. Во второй серии эксперимента опиатные рецепторы предварительно блокировались с помощью налоксона. Клетки с препаратами культивировали 24 и 48 часов. Контролем служила интактная культура клеток с теми же сроками инкубации.

Для определения уровня клеточной пролифирации нами был использован колориметрический метод, основанный на способности митохондриальных ферментов живых клеток превращать водорастворимый МТТ – реактив в окрашенный нерастворимый в воде формазан [5]. За 100% принимали количество формазана, образовавшегося в аликвоте контрольной культуры.

Статистическую обработку результатов исследования проводили на персональном компьютере Celeron 300А с применением стандартных пакетов прикладных программ [1].

**Результаты исследования и их обсуждение.** При анализе полученных результатов мы получили интересные результаты как в первой, так и во второй серии эксперимента. Так, при неселективной стимуляции опиатных рецепторов даларгином в первые сутки эксперимента происходило значительное достоверное увеличение пролиферативной активности клеток до 175% (рис. 1), которая ко вторым суткам значительно снижалась, как в пределах опытной группы, так и относительно контроля и составила 30%.

**Рис. 1.** Количество формазана в культуре Нер – 2 при действии агонистов опиатных рецепторов (в %)

**Примечание:** \* - результат достоверен относительно контроля (р<0,05)

Эти значения были минимальны в этой серии эксперимента. В то время как введение в культуральную среду дексаметазона приводило к противоположным результатам: в первые сутки инкубации количество формазана снижалось и составляло около 35% от контрольных значений, а ко вторым суткам шло резкое нарастание пролиферативной активности и уровень превосходил контроль в 2,2 раза. В условиях добавления дексаметазона применение даларгина в первые сутки практически не вызывало изменения количества формазана, по сравнению с показателями контроля, но с течением времени культивирования в пределах опытной группы значения снижались до 65%, что было значительно ниже группы с дексаметазоном, но практически в 2 раза превышало группу с даларгином.

Анализ применения неселективного блокатора опиатных рецепторов налоксона (рис. 2) показал достоверное увеличение количества формазана во всех группах при 24-часовой инкубации (максимально - в группе с добавлением налоксона), и значительное его уменьшение при увеличение времени эксперимента до 48 часов практически до одинаковых значений во всех опытных группах (до 20-25% по отношению к контролю).

**Рис. 2.** Количество формазана в культуре Нер – 2 при действии блокатора опиатных рецепторов – налоксона (в %)

**Примечание:** \* - результат достоверен относительно контроля (р<0,05)

Таким образом, полученные нами данные показали чёткую временную зависимость влияния на пролиферативную активность клеток состояния опиатных рецепторов. Причём, эта зависимость носила противоположный характер. Так, в первые сутки и активация, и блокада рецепторов вызывали в разной степени увеличение пролиферативной активности клеток, в то время как удлинение времени культивирования приводило к резкому снижению активности, более выраженному при блокаде рецепторов. При этом налоксон полностью отменял стимулирующее действие дексаметазона.

**Выводы:**

1. Установлено усиление пролиферативной активности опухолевых клеток в первые сутки эксперимента при активации и блокаде опиатных рецепторов.
2. Выявлена чёткая зависимость уровня пролиферации от времени эксперимента: удлинение срока эксперимента вызывает торможение пролиферативной активности в условиях различного состояния опиатных рецепторов.

Литература

1. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – Киев: Морион, 2000. – 320 с.
2. Мкртчян Л.М., Шукурян С.Г. Патогенетические основы противодействия опухолевому росту. Ереван, 1993. - 271с.
3. Напалков Н.П. Рак и демографический подход // Вопросы онкологии. – 2004. – Том 50. - №2. - С.127-146.
4. Смагин В.Г.Лиганды опиатных рецепторов / В.Г.Смагин, В.В.Виноградов, С.А.Булгаков. - М.: Наука, 1983.- 270 с.
5. Шпакова А. П. МТТ-колориметрический метод определения цитотоксической активности естественных киллерных клеток / А. П. Шпакова, К. С. Павлова, Т. И. Булычева // Клин.лаб. диагн. – 2000. – № 2. – С. 20-23.
6. Chalfant C., Szulc Z., Roddy P. The structural requirements for ceramide activation of serinethreonine protein phosphatases // J. Lipid Res. – 2004/ - Vol. 45. – P. 496-506.
7. FriesenC. Cytotoxic effects of opioids on cancer cell lines / C. Friesen, S. Bacher, I. Hormann // International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics. – 2011. – No. 1/2011. – Р. 60-62
8. Maneckjee R. Opioid and nicotine receptors affect growth regulation of human lung cancer cells / R.Maneckjee, J.D.Minna //  Proc. Natl. Acad. Sci. – 1990. - №87. – Р. 3294–3298.
9. Reisine T. Molecular biology of opioid receptors / T. Reisine, G. I. Bell // Trends Neurosci. – 1993. - Vol. 16. - P. 506-510.

**Роль рецептора EGFR и мутаций гена EGFR в диагностике и терапии немелкоклеточного рака легкого**

*Цветкова Л. А, Раменская Н. П.*

*Научный руководитель: к. б. н., доцент Раменская Н.П.*

*Кафедра биологической химии*

*Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет*

Лечение онкологических заболеваний – это одна из важнейших проблем, стоящих перед мировой наукой и здравоохранением, которая требует использования молекулярно-генетических методов исследования. Наряду с классическими методами лечения рака, такими как хирургическое вмешательство, лучевая и химиотерапия, большую популярность завоевала таргетная терапия (от английского слова «target» – цель). Смысл её в том, чтобы воздействовать не на пораженный орган и даже не на саму опухоль, а именно на те белки, которые вызывают рост опухолевых клеток. Одной из таких мишеней стал EGFR(Рецептор эпидермального фактора роста), играющий ключевую роль в патогенезе рака легкого.

В Российской Федерации рак легкого стоит на первом месте по частоте заболевания у мужчин и на девятом месте у женщин [1]. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) составляет примерно 85% всех случаев рака легкого[4].От 15% до 50% случаев НМРЛ несут активирующие мутации в гене EGFR, которые наиболее часто встречаются при аденокарциноме легкого и у некурящих людей.

EGFR(c-erbB-1, HER-1) - трансмембранный рецепторный белок, который имеет внеклеточный связывающий домен и цитоплазматический тирозинкиназный домен. При связывании рецептора с трансформирующим фактором роста происходит диммеризация и аутофосфорилирование ключевых остатков тирозина цитоплазматического домена. Это активирует 2 нисходящих сигнальных пути: Ras/Raf/Mek и PI3K/Akt/mTOR, конечной целью которых является транскрипция регуляторных генов, инициация клеточного цикла и деления клеток. При НМРЛ обнаруживаются аномальные рецепторы эпидермального фактора роста,что обусловлено наличием активирующих мутаций в соответствующем гене. Такие мутации приводят к стабилизации диммерного состояния рецепторов, постоянному фосфорилирированию этого фермента и, соответственно, выделению факторов активации нижележащих сигнальных молекул независимо от сигналов, поступающих от рецептора.Это обозначает стимулирование роста опухоли, пролиферации клеток, местастазирования, ангиогенеза. [3]

Одним из классов таргетных препаратов, подавляющих активность рецептора EGFR, являются ингибиторы тирозинкиназ. Они представляют собой маленькую молекулу, которая проходит через мембрану и обратимо взаимодействует с АТФ-связывающим доменом внутриклеточной (тирозинкиназной) части EGFR, тем самым блокируя последующий каскад реакций, обусловленный активацией рецептора. В результате угнетается пролиферация клеток опухоли, ее рост и инвазия в ткани, метастазирование, ангиогенез, усиливается апоптоз и повышается чувствительность клеток опухоли к цитостатическим воздействиям. К этому классу препаратов относятся гефитиниб (Иресса, ZD1839, gefitinib) и эрлотиниб (Тарцева, OSI-774, erlotinib), одобренные для лечения диссеминированного НМРЛ.

Ответ на лечение таргетными препаратами обнаруживается у пациентов с активирующими мутациями в экзонах 18-24 гена EGFR, поскольку эти экзоны кодируют киназный домен рецептора эпидермального фактора роста.Подавляющее большинство мутаций, связанных с чувствительностью (~90%) — это делеции в 19 экзоне (Del19) или замена L858R в 21 экзоне; каждая из этих мутаций составляет ~45% случаев опухолей с мутациями.Прочие мутации, связанные с чувствительностью (G719X, L861Q, S768I и некоторые другие), составляют в сумме ~5% мутантных случаев.[5].

Тест на мутации гена EGFR рекомендуется пациентам с НМРЛ для оценки возможности химиотерапии ингибиторами ТК EGFR.По рекомендациям Европейского общества медицинских онкологов (ESMO) и Американского общества клинической онкологии (ASCO) наличие активирующих мутаций в гене EGFR, связанных с чувствительностью к ингибиторам TK EGFR, является показанием к применению этих препаратов. Этот тест позволяет избирательно применять ингибиторы TK EGFR только для лечения тех пациентов, для которых эти препараты эффективны. Для выявления мутаций применяются ПЦР тест на делеции EGFR Del19 с визуализацией результатов методом гель-элетрофореза и тесты на основе аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени для детекции мутаций Del19, L858R, L861Q, G719A/C/S, S768I, T790M.ОсобенностьПЦР в режиме реального времени- определение накопления продуктов амплификации непосредственно во время проведения реакции. Это возможно благодаря сигналу флуоресценции, который возрастает пропорционально количеству продукта амплификации.Каждый цикл амплификации состоит из трех этапов:

1. Денатурация – это переход ДНК из двухнитевой формы в однонитевую при разрыве водородных связей между комплементарными парами оснований под воздействием высоких температур.

2. Отжиг – это присоединение праймеров к одноцепочечной ДНК-мишени, которые ограничивают искомый фрагмент и комплементарны противоположным цепям ДНК.

3. Элонгация (синтез).После отжига праймеровTaq-полимераза начинает достраивание второй цепи ДНК с 3'-конца праймера.

Температурный цикл амплификации многократно повторяется (30 и более раз). На каждом цикле количество синтезированных копий фрагмента ДНК удваивается.

Материалом для выявления мутаций в гене EGFR может служить свежезамороженная ткань опухоли, парафиновый блок опухолевой ткани, фиксированной формалином или срезы опухолевой ткани в парафине.

Помимо НМРЛ подобные исследования проводятся для рака молочной железы, колоректального рака, рака желудка, меланомы и др.

Таким образом, знание молекулярных механизмов канцерогенеза позволяет внедрять в клиническую практику новые методы диагностики онкологических заболеваний, которые способствуют правильному выбору наиболее эффективных препаратов для каждого конкретного пациента.

Литература

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2007 г. // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2009. Т. 20. № 3 (прил. 1)
2. Имянитов Е.Н., ХансонК.П. Молекулярнаяонкология: клиническиеаспекты.2007
3. BillahS., Stewart J., Staerkel G., Chen S. et al. - Cancer …, 2011
4. Novello S., Le Chevalier T. Chemotherapy for non-small-cell lung cancer. Part 1: Early-stage disease // Oncology (Williston Park). 2003. Vol. 17. № 3. P. 357–364.
5. Pao W., Miller V., Politi K., Riely G., Somwar R. et al. - PLoS medicine, 2005.

**ДИНАМИКА ГОРМОНОВ ГИПОФИЗАРНО-ТИРЕОИДНОЙ СИСТЕМЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЮНЕ ПРИ ЭКЗАМЕНАЦИОННОМ СТРЕССЕ**

*Бакшеева Е. Г.*

*Научный руководитель: к.м.н., доцент Фефелова Е.В.,*

*к.б.н Максименя М.В.*

*Кафедра химии и биохимии*

*Читинская государственная медицинская академия*

Во время экзаменационной сессии на организм студентов действует большое количество синергично действующих стрессогенных факторов, приводящих в итоге к развитию выраженного стресса [1, 2, 7, 9, 11, 13].

В научной литературе встречаются исследовательские работы, посвященные изучению эффектов стресса на функцию щитовидной железы и периферический метаболизм тиреоидных гормонов [3, 4, 5, 6, 8], однако сведения об анализе параметров гипофизарно-тиреоидной системы малочисленны и результаты иногда носят противоречивый характер. Одной из клинически информативных биологических жидкостей является слюна, которая содержит множество биомаркеров, в том числе гормонов, что делает возможным проведение анализов для разработки способа тестирования различных состояний организма.

Цель исследования. Оценить изменения уровней гормонов гипофизарно-тиреоидной системы в сыворотке крови и слюне при экзаменационном стрессе в зависимости от темперамента учащихся.

Материалы и методы. Предварительно определяли темперамент условно здоровых добровольцев с помощью методики Айзенка. Затем у всех студентов осуществляли стоматологический осмотр полости рта. В результате в исследование было включено 64 студента ЧГМА. В зависимости от темперамента учащиеся были разделены на четыре подгруппы: холерики, сангвиники, флегматики, меланхолики. Обследование респондентов проводилось трижды: 1 – во время учебного процесса в семестре; 2 – за полчаса до экзамена; 3 – через 30 минут после экзамена. Проводилось измерение артериального давления по методу Н.С. Короткова, подсчёт пульса проводили пальцевым методом на лучевой артерии. Забор венозной крови производился в вакутейнеры с усилителем образования сгустка. Забор слюны осуществлялся с 8 до 11 часов. Концентрацию кортизола, общего трийодтиронина (Т3), свободного тироксина (Т4), тиреотропного гормона (ТТГ) определяли методом иммуноферментного анализа (наборы фирмы «Алкор Био»). Анализ полученных данных проводили с помощью программы Statistica 6.1 (StatSoft). Описательная статистика представлена медианой и межквартильным интервалом (25-го; 75-го перцентилей). Сравнение зависимых выборок проводили с помощью критерия Вилкоксона.

Результаты исследования. Средние значения концентрации кортизола у студентов до экзамена были более чем в 2 раза выше, по сравнению с показателями во время семестра. После экзамена концентрация гормона значимо снижалась, но не достигала значений в семестре. Показатели величины периферического пульса и артериального давления имели ту же тенденцию, но в меньшей степени выраженности. Уровень кортизола в целом перед экзаменом возрастал практически в 3 раза. В группе девушек, его концентрация была максимальной перед экзаменом, а в группе юношей – после экзамена. Более чем в 3 раза количество этого гормона в крови увеличивалось у холериков, сангвиников и меланхоликов (р<0,005 для всех), у флегматиков – лишь в 1,6 раза (р=0,005). После экзамена уровень кортизола значимо снижался практически во всех группах (за исключением юношей и меланхоликов), при этом, не достигая значений семестра. Динамика изменений концентраций кортизола в слюне имела ту же тенденцию до экзамена. У меланхоликов наблюдался резкий подъем кортизола до экзамена и резкое снижение после. Концентрация ТТГ сыворотки крови в целом в группе увеличивалась перед экзаменом на 14,6% (р=0,04), и приходила к значениям семестра сразу после экзамена, причем у юношей его величины возрастали на 33,7% (р=0,002), а у девушек лишь на 18,0% (р=0,04). Статистически значимое снижение концентрации Т4 наблюдалось только у холериков (на 25% (р=0,01)) через 30 мин после экзамена и повышение – у флегматиков. Содержание общего Т3 в целом увеличивалось перед экзаменом на 13,7% (р=0,002). При изучении динамики количества Т3 в слюне было обнаружено, что у девушек его уровень возрастает за 30 минут до экзамена на 24% (р=0,02), а у юношей он снижается на 36,8% (р=0,002) и восстанавливается до исходных значений после экзамена. Изменения количества общего Т3 в крови в зависимости от темперамента носили однонаправленный характер. Концентрация этого гормона в слюне перед экзаменом в большей мере возрастала у холериков – на 27,5% (р=0,005).

Выводы. Во время экзаменационного стресса наблюдается разнонаправленное изменение уровня гормонов гипофизарно-тиреоидной системы в сыворотке крови и слюне, зависящее как от пола, так и от темперамента учащегося. Стоит отметить, что в сыворотке крови всех испытуемых за 30 минут до экзамена увеличивалось количество ТТГ и общего трийодтиронина, на фоне отсутствия динамики со стороны концентрации свободного тироксина, что может быть обусловлено выявленной нами гиперсекрецией кортизола.

Литература

1. Бусловская Л.К. Адаптационные реакции у студентов при экзаменационном стрессе. / Л.К. Бусловская, Ю.П. Рыжкова // Научные ведомости. Серия Естественные науки. 2011. – №21 (116), выпуск 17. – С. 46-52.

2. Гапонова, С.А. Функциональные психические состояния студентов в образовательном пространстве вуза: динамика, детерминанты, оптимизация: дис. ... д-ра психол. наук. – Н. Новгород, 2005.

3. Городецкая И.В. Зависимость устойчивости организма к хроническому стрессу от тирео- идного статуса / И.В. Городецкая, Н.А. Кореневская // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2011. – Т. 97. – № 12. – С. 1346-1354.

4. Готовцева Л.П. Тиреоидные гормоны слюны в оценке функционального состояния ги- пофзарно-тиреоидной системы / Л.П. Готовцева, Г.Ф. Коротко, Ю.В. Щербатых // Кли- ническая лабораторная диагностика. – №7. – 2002. – С. 9-11.

5. Гусакова Е.А. Влияние изменения тиреоидного статуса на микроскопические изменения структуры печени крыс при стрессе / Гусакова Е.А., Городецкая И.В. // Вестник ВГМУ. – 2014. – Т. 13. – №1. – С. 38-47.

6. Лавров О. В. Адаптационные изменения показателей сердечно-сосудистой системы и сы- вороточного содержания ряда гормонов в условиях экзаменационного стресса. / О.В. Лавров, В.Ф. Пятин, И.В. Широлапов // Казанский медицинский журнал. – 2012. – № 93(3). – С. 461-464.

7. Мельников В. И. Экзаменационный стресс студентов и основные методы его оптимиза- ции. // Психология. Историко-критические обзоры и современные исследования. – 2012. – №1. – С. 45-60.

8. Надольник Л.И. Стресс и щитовидная железа / Л.И. Надольник // Биомедицинская химия. – 2010. – Т. 56, Вып. 4. – С. 443-456.

9. Украинцева Ю.В. Индивидуальные поведенческие и вегетативные проявления эмоцио- нального стресса у человека. / Ю.В. Украинцева, Д.Н. Берлов, М.Н. Русанов // Журнал высшей нервной деятельности. – №56(2). – С. 183-192.

10. Урумова Л. Т. Биомедицинские аспекты патогенеза экзаменационного стресса у студен- тов. / Л.Т. Урумова, Н.К. Ботоева, Л.Г. Хетагурова. Л.А. Акоева, Т.Н. Гонобоблева // Владикавказский медико-биологический вестник. – 2003. – №VI(XI). – С. 9-16.

11. Урумова Л. Т. Сравнительный анализ состояния психофизиологических функций в усло- виях эмоционального стресса. // Российский физиологический журнал. – 2004. – №90(8). – С. 306.

12. Щербатых Ю. В. Саморегуляция вегетативного гомеостаза при эмоциональном стрессе. // Физиология человека. – 2000. – № 26(5). – С. 93-98.

13. Щербатых Ю.В. Психология стресса / Ю. В. Щербатых – М. : Эксмо, 2008. – 304 с.

**ДЛИТЕЛЬНЫЕ КОСМИЧЕСКИЕ ПОЛЁТЫ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ**

*Ефременко В. А.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н. Фомина М.В.*

*Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Для пребывания людей в космосе в течении длительного времени должны быть созданы комфортные условия, микрофлора среды в данном аспекте имеет ведущее значение [3].

Целью данного исследования явилось изучение по данным литературы проблемы микробиологической безопасности космических полётов.

Основными задачами исследования явились:

1. выявить источники заселения пилотируемых объектов;
2. определить перечень микроорганизмов, входящих в состав микрофлоры орбитальных станций;
3. обозначить методы противомикробной защиты.

Известно, что микроорганизмы явились первыми испытателями невесомости и космического излучения. К источникам, формирующим микрофлору космического объекта, можно отнести как самого человека, так и различное оборудование, полимерные и расходные материалы.

По данным литературы на орбитальных объектах было обнаружено 243 вида микроорганизмов, из них 110 видов бактерий и 133 – грибов [1]. Наиболее многочисленными являлись представители условно-патогенной флоры - представители родов Staphylococcus, Corynebacterium, Micrococcus. Наряду с этим, широко были представлены микромицеты родов Penicillium, Aspergillus и Cladosporium. Следует отметить риск резидентного заселение микроорганизмами различных конструкционных материалов - биополимеров и биометаллов, вызывая биоповреждения и биокоррозию, что ставит под сомнение возможность длительных полётов пилотируемых космических объектов.

Исходя из этого можно сделать вывод, что существует не только медицинский риск, но и риск технологический,

В основе мероприятий по обеспечению микробиологической безопасности лежит:

* комплекс дезинфекционных мероприятий на этапе изготовления космического корабля, при монтаже оборудования, на старте;
* подготовка расходуемых материалов и оборудования для создания космических объектов;
* углубленное микробиологическое и иммунологическое обследование космонавтов, на заключительном этапе предполётной подготовки - ограничительный обсервационный режим;
* мониторинг состояния воздуха, воды, оборудования обитаемых модулей и транспортных кораблей;
* придание материалам антимикробных свойств;
* работы штатных средств очистки и кондиционированиях [2].

Таким образом, важным условием многолетней эксплуатации орбитальных станций является создание научно обоснованной системы противомикробной защиты.

Литература

1. Астероиды — источники опасности и объекты исследований, <http://press.cosmos.ru/biblioteka/asteroidy-istochniki-opasnosti-i-obekty-issledovaniy>
2. Пименов, Е.В. Система микробиологической безопасности как часть системы национальной безопасности России/Е.В. Пименов// Сб. науч. тр., посвященный 75-летию НИИ микробиологии МО РФ.2003.С.5-7.
3. Факторы космического полёта, http://www.gctc.ru/main.php?id=940

**ДЕНДРИТНЫЕ ПОЛИМЕРЫ: ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

*Васильев А. А., Немцева Е. К.*

*Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В.;*

*зав. кафедрой, д.м.н., проф. Кузьмин О.Б.*

*Кафедра фармакологии*

УДК: 615.31:[547:691.175.5/.8

**Резюме.**Нанофармакология дендритных полимеров составляет одно из приоритетных направлений современной медицины. Являясь новым поколением полимеров, эти соединения используются в качестве эффективных, универсальных и безопасных транспортёров фармакологических препаратов, применяемых, в том числе в диагностике различных заболеваний.

**Ключевые слова**: дендритные полимеры, меченыедендримеры, онкология, использование дендримеров в медицинской практике.

**Summary.**Nanopharmacology of the dendritic polymers is a priority of modern medicine. These compounds are used as effective, versatile and safe carriers of pharmacological agents as the next generation of polymers, including diagnosis of various diseases.

**Keywords**: dendritic polymers,labeled dendrimers,oncology, dendrimers in medical practice.

В середине XX века американский химик П.Д. Флори продемонстрировал возможность синтезировать сверхразветвлённые полимеры из многофункциональных мономеров по принципу конъюгирования[5]. Это дало сильный толчок развитию химии полимеров, что привело к появлению новых полиструктурных молекул с уникальной архитектурой и физико-химическими свойствами – дендримеров. В зависимости от структуры строения макромолекулы на сегодняшний день известно четыре класса синтетических полимеров; линейные (самый простой, мономеры образуют линейную цепь), кросс-линкерные (линейные цепи мономеров, сцепленные ковалентными связями), разветвлённые (от главных цепей отходят более короткие) и дендритные. Впервые синтездендримеров был проведён в 1985 году американским учёным Д. Томалиа[5]. В дальнейшем разрабатывались различные способы синтеза данных структур. Авторы присваивали полимерам разные названия – «древовидные полимеры», «взрывающиеся звезды», «каскадные полимеры»[4].

Дендримеры представляют собой вязкиежидкости или твердые аморфные вещества хорошо растворимые во всех известных растворителях. Древовидные ветвления высокой степени, радиальная симметрия молекул, гомогенная структура, строго фиксированная молекулярная масса определяют химические свойства дендримеров[3]. Эти полимеры состоят из внутренней и внешней сфер[4].Внешняя сфера имеет множество терминальных ветвей, число которых увеличивается в прямой зависимости от поколения молекулы дендримера. Благодаря такому строению внешняя сфера имеет большое количество химических комбинацийтерминальных групп.Степень ионизации этих групп в водных растворах зависит от pH среды, поэтомудендримеры могут образовывать полиэлектролитные комплексы. Наличие «пор» в макромолекулах позволяет использовать их как капсулу для различных веществ, в том числе лекарственных средств, подобно комплексным молекулам липопротеинов[2].

Внутренняя сфера до конца не исследована, но имеет широкие перспективы использования. Большой интерес для медицины представляют дендримеры, в которых ядро представлено атомом метала, открывающие возможности создания искусственных молекул гемоглобина, а так же в диагностических целях (интеграция радионуклидов)[5].

Классическим примером синтеза идеальной структуры дендримераявляется цепной ступенчатый синтез на основе простых реакций конденсации, замещения и присоединения. Путём последовательных реакций получают разветвлённый полимер, все звенья которого заканчиваются узлами ветвления, являющимися терминальными функциональными группами, определяющими свойства всего дендримера. Каждый последующий слой узлов ветвления определяет поколение дендримера(рисунок).

Дендримеры обладают высокой плотностью, что исключает слипание и взаимопроникновение молекул друг в друга. Диаметр молекулы в несколько раз меньше клубков, образованных аналогичным по составу линейным полимером. Это определяет уникальные свойства дендримеров: они не способны к волокно- и пленкообразованию, набуханию и образованию вязких растворов, что свойственно для других полимеров [6].

В последнее время большое значение придается использованию дендримеров в медицинской практике при разработке новых методов диагностики и внедрении терапевтических препаратов. Использование дендримеров позволяет изменить фармакокинетику лекарственного препарата путем его инкапсулирования, чтобы добиться повышения растворимости лекарственных соединений иулучшить всасывание в желудочно-кишечном тракте без потери свойств [7].За счет большого количества терминалей во внешней сфере в структуру дендримера помимо лекарственного препарата можно внедрятьвекторные молекулы, флюоресцентные метки, контрастные вещества, что делает дендримеры универсальными многофункциональными переносчиками.Не смотря на очевидные преимущества, не стоит забывать о биосовместимости полимеров. Главным условием применения полимеров в медицинской практике является отсутствие неспецифической токсичности, иммуногенности. Для этого при синтезе дендримеров используют природные биологические материалы (углеводы, аминокислоты, липиды, пептиды). Дендримеры являются полимерами, поэтому использование для их синтеза большого количества аминокислот, а так же пептидов, придает молекуле антигенные свойства [6]. Преимуществом дендримеров является трехмерная структура молекулы, что обеспечивает постепенное высвобождение препарата. Скорость высвобождения лекарственного средства находится в зависимости от плотности наружного слоя макромолекулы, то есть, чем старше поколение дендримера, тем больше плотность терминальных ветвей, а, следовательно, затрудняется релиз препарата.Дендритные полимеры любого поколения являются мелкодисперсными структурами и быстро выводятся почками, поэтому используется интеграция векторных молекул для их целевой адгезии на клеточной мембране.

Это свойство обеспечивает перспективы использования «меченых» дендримеров для диагностики онкологических заболеваний. Опухолевая ткань существенно отличается от нормальных тканей организма, и имеет специфические лиганды на поверхности клеток[1]. Наиболее характерное для карцином наличие большого числа рецепторов фолиевой кислоты указывает на целесообразность её применения в качестве векторной молекулы для дендримеров. С её помощью целенаправленно доставить в клетки необластомы противоопухолевые препараты, антисмысловые аминокислоты, белки и пептиды, радиоактивные агенты и контрастные вещества. Это существенно облегчает процедуру диагностики и лечения неопластических образований. Разрабатываются так же принципы использования моноклональных антител[6].

Таким образомнанофармакология дендритных полимеров является перспективным направлением. Варианты использования молекул характерного уникального строения бесконечны, и представляют большую ценность для биоорганической химии и медицины. Возможность комбинации различных физико-химических свойств в молекуле и математически точный контроль над синтезом позволяют создавать специальные молекулы для различных целей.



**Рисунок**- Макромолекула дендромера (слева), строение (справа): G-генерация(поколение), A,B,C – дендроны, Z – терминальные функциональные группы [2]

Литература

1. Захаров, И.С. Генотоксические эффекты новых гиперразветвленных полимеров/И.С. Захаров, А.И. Колпакова, О.Н. Ильинская, И.С. Низамов, В.Я. Пономарев, А.Б. Маргулис// Вестник Казанского технологического университета.- 2014, №14.
2. Клюев, С.А. Макромолекулы: Монография. ЮО ИО РАН. Геленджик. 2012. - 121 c.
3. Лефтерова, О.И. Гиперразветвленные полимеры, особенности их структуры и применения (обзор зарубежных публикаций) // Вестник Казанского технологического университета. – 2012, №16.
4. Музафаров, А. М. Дендримеры - новый способ организации полимерной материи/А. М. Музафаров, Н. Г. Василенко // Природа. -М.:Наука. - 2011,N 6.-С.3-10
5. Наночастицы: разнообразие, особенности и возможности применения. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.inbi.ras.ru/education/manuals/Nanoparticles.pdf>
6. Семчиков, Ю.Д. Дендримеры — новый класс полимеров // Соросовский образовательный журнал. – 1998, №12. - С. 45–51.
7. Яббаров, Н.Г. Мультифункциональные дендритные молекулы: перспективы применения в медицине и биологии / Н.Г. Яббаров, Г.А. Посыпанова, Е.А. Воронцов// Молекулярная медицина. – 2012,  № 6. - С. 37-45.

**ФУЛЛЕРЕНЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ ОТРАСЛЬ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ(обзорная статья)**

*Кутарева А. А.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н. Белянин В.В.;*

*зав. кафедрой, д.м.н. проф. Кузьмин О.Б.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

УДК: 615.275:546.26:[577.2:61

**Резюме.**В данной статье рассмотрены основные свойства фуллеренов как регуляторов клеточных процессов, отражающие перспективность нанотехнологического направления медицины.

**Ключевые слова**: фуллерен, молекулярная медицина, антиоксидантные, наночастицы

**Summary.**This article describes the basic properties of fullerenes as regulators of cellular processes, that reflect the prospects of nanotechnology medical specialties.

**Keywords**:fullerene, molecular medicine, antioxidant, nanoparticles

Фуллерены - группа углеродсодержащих специфических молекул, обладающих устойчивой химической формулой. Они имеют форму выпуклых многогранных структур, в которых атомы углерода соединены между собой тремя ковалентными связями, благодаря чему формируются шестиугольные и пятиугольные фигуры [6].Фуллерены были открыты в 1895 году в продуктах горения органических соединений [4]. Это привлекло внимание большого количества ученых, в том числе фармакологов, и послужило предметом множества исследований.

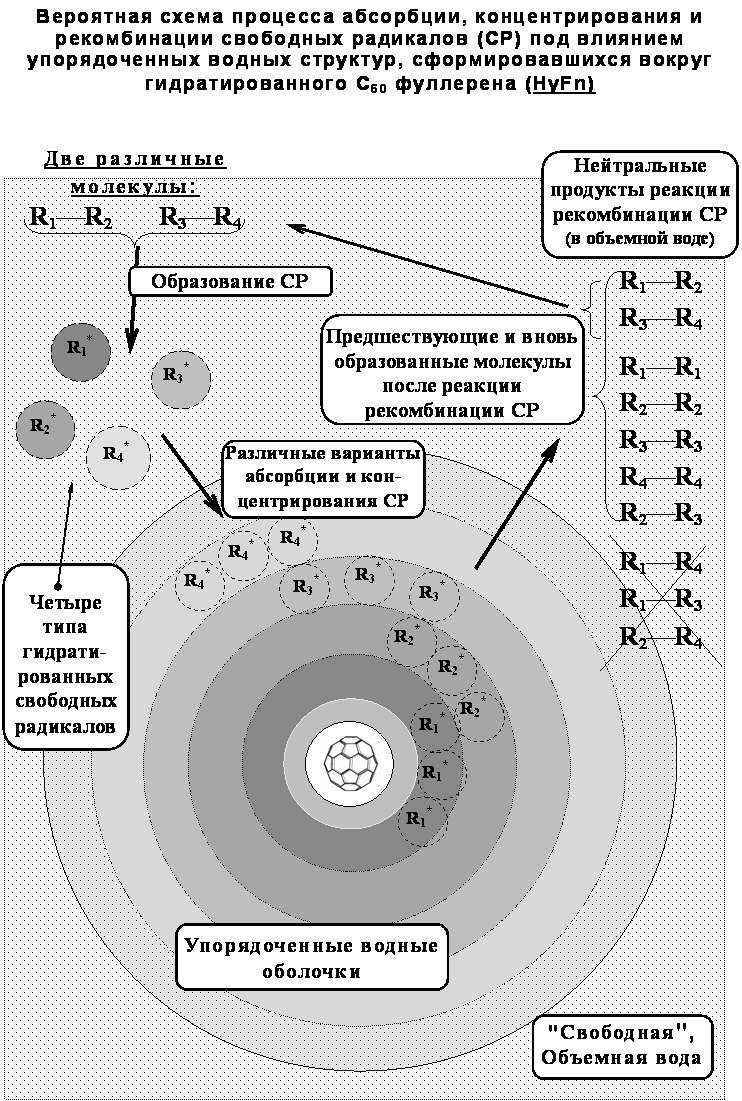
Наиболее значимыми для медико-биологического применения фуллеренов являются такие физико-химические свойства, как:высокая липофильность( Это позволяет наночастицам служитьмембранотропными агентами); способность к генерации синглетного кислорода под воздействием видимого света или УФЛ и фотопротекции в отсутствие света; уникальная антиоксидантная активность; способность воздействия на различные механизмы и этапы фагоцитоза [1,2,3,7].

Для медико-биологических исследований применяют гидратированные формы фуллеренов в виде суспензии, где наночастицынековалентно связаны с макромолекулярным носителем. Достаточно детально исследованы биологические эффекты поливинилпирролидона в соединении с водорастворимой тонкоизмельченный суспензией фуллерена С60. В результате эксперимента с клеточными линиями кератиноцитов человека было установлено, что данный комплекс не токсичен для клеток в условиях отсутствия света. Более того, при интенсивном освещении клеточных колоний УФА-светом комплекс С60/ПВП проявлял защитные свойства в отношении повреждающего действия УФА-лучей, выполняя роль так называемой «губки для радикалов»[1].

Вероятнее всего, защитный эффект связан с возможностью фуллеренов проникать через клеточные мембраны и локализоваться в митохондриях, которые, в свою очередь, являются основными источниками активных форм кислорода в условиях клеточного стресса, вызванного УФ-облучением. На этом основании сделано предположение, что фуллерены могут быть использованы в качестве фотопротекторов.

Не менее важной для развития молекулярной медицины является уникальная антиоксидантная способность гидратированных фуллеренов (НyFn). В результате большого количества экспериментально-исследовательских работ было установлено, что гидратированные фуллерены за счёт встроенный воды способны упорядочивать структуру соседствующей объемной воды вособый сферический кластер, благодаря образованию комплекса C60(H2O)n. Фуллерен здесь выступает в форме кора, окруженного сферическими слоями молекулы воды, взаимодействующих друг с другом.

Антиоксидантная активность HyFnзаключается в том, что свободные радикалы сорбируются в упорядоченных структурах гидратной оболочки. Далее происходят реакции взаимной рекомбинации, приводящие к образованию нейтральных молекул (рисунок).



***Рисунок-****Схема процесса абсорбции и рекомбинации свободных радикалов(СР) под влиянием упорядоченных водных структур,сформировавшихся вокруг фуллеренового кора[1].*

Фуллерены могут взаимодействовать только с теми тканями,которые непосредственно контактируют с их водными оболочками(кожа, слизистая дыхательного и желудочно-кишечного трактов). Свойство гидратированных фуллеренов образовывать сферические водные кластеры позволяет регулировать циркадные ритмы синтеза мелатонина ( гормона, продуцируемого эпифизом из предшественника N-ацетилсеротонина).Длительное время было принято считать, что главным стимулирующим фактором выработки мелатонина является отсутствие света, за что его назвали «гормоном ночи». Однако, в результате экспериментальных исследований данная теория была опровергнута. Ученые пришли к выводу, что стимуляция продукции эпифизарного гормона происходит за счёт колебаний электромагнитного поля Земли, имеющих четкий циркадный характер. В результате этого параметры биохимических реакций меняются на клеточном уровне, изменяя электромагнитное поле эпифизарных структур и приводя к подавлению синтетических процессов в мелатонинпродуцирующих клетках.Гидратированные фуллерены, вступая в контакт с мембраной этих клеток, упорядочивают кластерную структуру внутриклеточной воды, корригируя магнитное поле. Благодаря данным превращениям происходит стимуляция гормонпродуцирующих структур эпифиза[1].

Все эти данные говорят об актуальности перспективы применения фуллеренов в противоопухолевой терапии. Благодаря их способностиадсорбировать радикалы угнетаются реакции переокисления, снижается цитотоксическое действие противоопухолевых препаратов на здоровые клетки, минимизируются нежелательные побочные эффекты[3,7].

FC60способен отрицательно воздействовать на неспецифическое звено иммунитета, угнетая ферментативную активностьмиелопероксидазы и понижая экспрессию молекул CD54, которые отвечают за клеточную адгезию. Данное свойство фуллеренов позволяет говорить о перспективности дальнейших исследований в этом направлении с целью воздействия на различные механизмы иммунной защиты[4].

Фуллерены обладают необходимыми для молекулярной медицины физико-химическими свойствами. Благодаря этому можно предположить их использование в лечении онкологических заболеваний, ряда болезней, сопровождающихся нарушением гормонального фона, иммунитета. Знания об их антиоксидантной активности, способности минимизировать токсичность лекарственных препаратов, возможность влиять на циркадные ритмы эндокринной системы могут способствовать развитию нанофармакологического направления медицины.

Литература

1. Волкова, Т. О. Обзор данных о механизмах влияния гидратированных фуллеренов на биологические системы / Т.О. Волкова,С.В.Ширинкин, А.А. Шапошников // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. – 2011, №21. – С. 64-70.
2. Еропкин, М.Ю. Влияние агрегатного состояния и природы полимера-носителя на фототоксичность фуллерена С60invitro / М.Ю. Еропкин, Л.Б. Пиотровский, Е. М. Еропкина, М. А. Думпис, Е. В. Литасова, О. И. Киселев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011, Т. 74, №1. – С. 28-31.
3. Кайдашев, И.П.**Влияние фуллерена с60 на функциональную активность фагоцитарных клеток /** И.П. Кайдашев, Т.В. Мамонтова, Н.А. Боброва, Л.Э. Веснина, Л.В. Беркало, Л.А. Куценко, М.В. Микитюк, Н.Л. Куценко // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011, №6. – С.26-29.
4. Нуретдинов, И. А. Новые производные фуллеренов, синтез, свойства и применение / И.А. Нуретдинов,В.П.Губская, О.Г. Синяшин // Вестник Казанского технологического университета. – 2012, №23. – С. 52-54.
5. Прилуцкая, С.В. Влияние с 60-фуллерена, доксорубрицинаи их комплекса на опухолевые и нормальные клетки мышей линии balb/с / С.В. Прилуцкая, Г.В. Диденко, Ю.М. Кичмаренко // BiotechnologiaActa. – 2014, №1. – С. 60-65
6. Трефилов, В.И. Фуллерены – основа материалов будущего: монография / В. И. Трефилов, Д. В. Щур, Б. П. Тарасов – К.: AДEФ, 2001. – 408 с.
7. Щур, Д. В. Фуллерены: перспективы практического использования в медицине, биологии и экологии / Д.В. Щур, З.А. Матысина, С.Ю. Загинайченко, Н.П. Боцьва, Е.В. Елина // ВісникДніпропетровськогоуніверситету. Біологія, екологія. – 2012. №1.–С.139-145.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ РЕДАКТИРОВАНИЯ CRISPR/CAS9**

**ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ**

*Чепурин В.В.,Горина Е.А.*

*Научный руководитель – к.б.н., Гирина Л.В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

На данный момент СПИД все ещё сохраняет за собой статус неизлечимого заболевания. В 2016 более полутора миллиона человек умерло из-за инфицирования ВИЧ или осложнений, связанных с ним; при этом число зараженных людей – около 40 миллионов. Как известно, организм погибает не из-за самого вируса ВИЧ, а из-за различных бактериальных, грибковых и вирусных заболеваний, с которыми организм легко справился бы в обычных условиях. В наши дни существуют различные способы лечения болезни, но полностью излечить ВИЧ-инфицированных пока не удалось. ВИЧ-нфекция в настоящий момент остается неизлечимым заболеванием, так как терапия никак не влияет на ДНК вируса у нас в геноме. Избавиться от вирусной ДНК предлагается с помощью системы CRISPR/Cas9, если она будет узнавать участки вирусного генома и их удалять. Система редактирования генома CRISPR/Cas9 была впервые успешно использована для полного удаления вируса из зараженной культуры клеток человека [5].

Внедрение CRISPR/Cas9 потенциально способно решить эту проблему. Метод подразумевает внесение в точно определенное место генома (в данном случае — в гены ВИЧ, «сидящие» в произвольном месте ДНК человека) нескольких разрывов. Разрывы стимулируют починку (рекомбинацию) ДНК, которая в конечном итоге приводит к вырезанию вирусных генов.

Некоторое время назад группа исследователей из немецкого Института экспериментальной вирусологии и иммунологии уже пыталась использовать инструмент редактирования геномов для удаления ВИЧ из культуры HeLa [3]. Они модифицировали Cre-рекомбиназу методом направленной эволюции и один из полученных вариантов использовали для удаления вируса путем контролируемой рекомбинации [2]. Однако надо учитывать, что между Т-хелперами и опухолевой HeLa есть немало различий, к тому же, авторы не предлагают вариантов доставки или экспрессии гена Tre-рекомбиназы (усовершенствованный вариант фермента Cre).

Ученые из США и Италии проверили работоспособность недавно созданного метода очистки генома от следов ВИЧ на мышах и крысах. Система редактирования CRISPR/Cas9, которую ранее для этого использовали только на клеточных культурах, оказалась способна работать и в целом организме, однако эффективность процесса пока неизвестна[6] .

В тоже время, коллектив американских исследователей опубликовала в марте этого года статью [4], где подробно описывались метод доставки и механизм удаления вируса. Ученые ставили перед собой задачу не только полностью избавить клеточную культуру Т-хелперов от вируса, но и проверить отсутствие цитотоксического действия самой CRISPR/Cas9 системы. Единственный недостаток этого геномного инструмента в том, что из-за сравнительно небольшой длины спейсера, даже при наличии страхующего элемента PAM, в больших геномах могут быть найдены нецелевые сайты, подверженные разрезанию (off-target sites). Именно поэтому исследователи уделяли данной проблеме немало внимания.

Исследования проходили с использованием штамма ВИЧ-1 и клеточной линии Т-хелперов 2D10, зараженной вирусом в покоящейся стадии. Доставка и экспрессия sg РНК/Cas9 осуществлялась с помощью лентивирусного вектора.

Известно, что для встраивания кДНК ВИЧ в хромосомы необходимы длинные концевые повторы (Long Terminal Repeat, LTR) — краевые последовательности нуклеотидов, повторенные сотни или тысячи раз. Такие повторы присутствуют у обеих молекул РНК ВИЧ, и если «нацелить» Cas9 на них, то удастся создать разрыв и вырезать вирус. Но группа под руководством Рафаля Камински создала не просто sgРНК к LTR. Ученые учли быструю скорость мутационного процесса вирусов и поместили в sgРНК наиболее консервативную область LTR, присутствующую у всех изолятов вируса .

Для оценки того, вырезался ли вирус из двух мест встраивания (1-я и 16-я хромосомы), было проведено полногеномное секвенирование. Оно показало, что в клетках, где экспрессировались и гены Cas9, и sgРНК, провирусная ДНК отсутствует.

Был проведен анализ того, могут ли гены, куда встроился провирус (RSBN1 и MSRB1), и близлежащие гены нормально транскрибироваться после его вырезания. Ученые показали, что как RSBN1, так и MSRB1 нормально экспрессируются. Соседние гены также не претерпели изменений.

С помощью биоинформатических методов и анализа баз данных было показано, что sgРНК/Cas9 не проявляет активности по отношению к нецелевым сайтам **[**5**]**.

Будущие плюсы данной технологии очевидны: введя пациенту вектор, содержащий гены Cas9 и sgРНК, мы добьемся их экспрессии и полного удаления вируса из клеток. Современная терапия, направленная против ретровирусов, являющаяся основным средством борьбы с ВИЧ, не удаляет вирус из клеток, так как провирус остается встроенным в ДНК хозяина. В свою очередь, данный подход не оставляет вирусу шансов укрыться [1].

Литература:

1. Немудрый А. А., Валетдинова К. Р., Медведев С. П., Закиян С. М. Системы редактирования геномов TALEN и CRISPR/Cas инструменты открытий // Acta Naturae (русскоязычная версия). 2014. №3 (22) С.20-42;
2. Barrangou R., Horvath P. The CRISPR system protects microbes against phages, plasmids // Microbe. – 2009. – Т. 4. – №. 5. – С. 224-230;
3. Buchholz F., Stewart A. F. Alteration of Cre recombinase site specificity by substrate-linked protein evolution //Nature biotechnology. – 2001. – Т. 19. – №. 11. – С. 1047-1052;
4. Gardner M. R. et al. AAV-expressed eCD4-Ig provides durable protection from multiple SHIV challenges //Nature. – 2015. – Т. 519. – №. 7541. – С. 87-91;
5. Kaminski R. et al. Elimination of HIV-1 genomes from human T-lymphoid cells by CRISPR/Cas9 gene editing //Scientific reports. – 2016. – Т. 6;
6. Sarkar I. et al. HIV-1 proviral DNA excision using an evolved recombinase //Science. – 2007. – Т. 316. – №. 5833. – С. 1912-1915.

**Молекулярные основы нефротического синдрома**

*Мингалев В. А., Савельева А. В.*

*Научные руководители:*

*Профессор, д.м.н. Вялкова А.А.*

*доцент, к.б.н. Лебедева Е.Н.*

*Кафедра факультетской педиатрии, эндокринологии*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

На рубеже ХIХ-ХХ веков, Павлов определил медицину будущего, как «физиологию живой молекулы». В следующем столетии, открытие структуры молекулы ДНК Уотсоном и Криком, ознаменовало величайший прорыв человечества в познании мироздания и вход в век генетики и молекулярной биологии.

Врожденная нефропатия, зачастую связанна с наследственными мутациями в генах. В частности возникновении нефротического синдрома(НС) обуславливают мутации в генах, кодирующих структуры интегральных белков подоцитов.

Распространенность врожденного НС составляет около 1 случая из 6000 новорожденных за год. Врожденный НС клинически проявляется симптомокомплексом: протеинурия 3,5 г/1,73 м2 в сут, или более 40 мг/м2 в час,гипоальбуминемия ниже 25 г/л,гиперлипидемия и отеки[2]. Отличительная особенностью НС является резистентность к иммуносупрессивной терапии[1].

Подоциты–висцеральные эпителиальные клетки звездчатой формы, локализированы в капсуле Шумлянского-Боумена. Являются третьим слоем клубочкового капилляра.Подоцит состоит из трех основных частей: «тело» клетки, первичные отростки, вторичные и третичные отростки, или «ножки», с помощью которых они прикрепляются к базальной мембране. «Тело» подоцита формируется главным образом из промежуточных нитей, состоящих из виментина и десмина[2]. Отходящие от тела большие отростки охватывают большую часть капилляра. Малые отростки, (педикулы), отходят от больших почти перпендикулярно, они переплетаются между собой и закрывают все свободное от больших отростков пространство базальной мембраны капилляра, иблагодаря актиновым нитям, способны к сокращению[5]. Педикулы соседних клеток образуют между собой межподоцитарные щелевые диафрагмы (ЩД)[6].Подоциты имеют важные функций в почечном ультрафильтре. Благодаря развитой эндоплазматическая сети и аппарата Гольджи, происходит синтез некоторых белков базальной мембраны[1]. Так же, подоциты регулируют растяжимость клубочкового капилляра, препятствуя излишнему его расширению под действием транскапиллярного давления. Они регулируют прохождения отрицательно заряженных бел­ков, которое осуществляется анионным зарядом плазмолеммы подоцита и ЩД[5].

Нефрин – это трансмембранный белок супер семейства иммуноглобулинов с адгезивными функциями, с молекулярной массой 185-kDa, и имеющий в своем строении 1241 аминокислотных остатка[3].М. Ген, кодирующий белок, располагается на 19-ой хромосоме и состоит из 29 экзонов. Белок имеет три части: большая внеклеточная область, трансмембранная и внутриклеточная области[7]. Высокогликолизированная внеклеточная область состоит из восьми иммуноглобулиновых частей и одной фибронектиновой части, гомофильно соединяясь в середине фильтрационной щели, образуя каркас щелевой диафрагмы. Внутриклеточная область нефрина через белки подоцин и CD2AP связан с актиновымцитоскелетом клетки и принимает участие в передаче внутриклеточных сигналов[4].

Мутации в основном наблюдаются у лиц финского происхождения (1 случай на 8200), однако имеются многочисленные описания данного синдрома у представителей других национальностей (более 60 мутаций). Среди финской популяции наиболее частыми мутациями (90% встречаемости) являются две: делеция в экзоне 2 (Fin-major) и нонсенс-мутация в 26-м экзоне (Fin-minor) [4]. НС финского типа проявляется во время эмбриогенеза (на 15-ой неделе) или в течение первых трех месяцев жизни. Он представлен следующим симптомокомплексом: протеинурии, отеки вплоть до анасарки, гипопротеинемия, гиперлипидемия. Для диагностики подоцитопатии связанной с дефектом нефрина используют гистологию биоптата, исследование мочи на наличие нефрина[2].

Лечение данной подоцитопатии, путем трансплантации почки в 50% случаев приводит к рецидиву нефротического синдрома из-за циркулирующих антител к нефрину.

Подоцин – является интегральным белком из семейства стоматинов с молекулярной массой 42 кДа. Ген, кодирующий белок, локализуется в 1-ой хромосоме локусе q25-q31.Подоцин замыкает нефрин в подоцитах, входя в единую структуру ЩД. Он активирует нефрин посредством сигнала протеинкиназы, включающей, в свою очередь, р38 и c-junаминотерминальнойкиназы, участвующей в регуляции формирования белкового активатора-1.

Описано более 30 патологических мутаций, приводящих к изменениям структуры белка: миссенс-мутации, нонсенс-мутации, делеции[2].Обнаружено, что среди населения Франции и Германии наиболее часто встречается R138Q-мутация,в турецкой и итальянской популяции мутация P20L . При семейном НС, мутация гена подоцина (NPHS2) регистрируется в 45-55% случаев[6]. Для него характерны следующие симптомы – гиперлипидемия, гипоальбуминемия, вздутие живота, отеки, возможет летальный исход. В диагностике используют методы контроля электролитных нарушений, функции щитовидной железы, молекулярно- генетического исследования мутации гена NPHS2.

Для лечения больных с гетерозиготными мутациями, используют стероидные препараты и циклоспорин А. При нефротрансплантации от родителей, носителей NPHS2-мутаций, высокий риск рецидива фокально-сегментарного склероза в трансплантате[3].

Таким образом,прослеживается связь генетический мутаций с поражением гломерулярного фильтрационного барьераи дефектами нефрина и подоцина. Целесообразным является введение молекулярно-генетического исследований в повседневную клиническую практику родильных домов и перитониальных центров при всех случаях выявления врожденного нефротического синдрома, а также при отсутствии эффекта иммуносупрессивной терапии и стероидрезистентном варианте нефротического синдрома.

Литература

1. Грене Г.-Й. Нефротический синдром: гистопатологическая дифференциальная диагностика. Часть 1: определение, классификация, патофизиология, генетические формы./Грене г.-й., Кисс е.//Нефрология.-2007.-№2.-С.88-93.
2. Гудер В.Г., Нарайанан С., Виссер Г., Цавта Б.//Диагностические пробы: от пациента до лаборатории. Москва-2010, 4 издание. Лабора. пер. с англ. В.В. Меньшикова.-118 с
3. Гусякова О.А Диагностическое значение исследования специфических белков./О.А. Гусякова, Н.И. Гергель.- типографии Клиник Самарского государственного медицинского университета,2013.-32 с.
4. Случай нетяжелого течения врожденного нефротического синдрома./И.С. Костюшина [и др. // Диагностика в педиатрии.-2014.-№6.-С.62-65.
5. Петросян Э.К Врожденному нефротическому синдрому: этиология, диагностика, лечение (обзор литературы)./ Э.К Петросян// Вестник современной клинической медицины. -2013.-№6.-С.70-78.
6. Петросян Э. Подоцит: строение и роль в развитии нефротического синдрома (Обзор литературы))./ Э.К Петросян// Нефрология и диализ. -2006.-№2.-С.112-121
7. Сахаров И.ВЭкспрессиянефрина и подокаликсина в клубочках почки при нефротическом синдроме у детей и ее связь с развитием протеинурии./И.В.Сахаров// Здравоохранение.-2012.-№6.-С.4-8.

**Влияние дефицита фолиевой кислоты**

**на процессы эмбриогенеза**

*Немцева Е. К.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н. Афонина С.Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Фолиевая кислота (фолат) или птероилглутаминовая кислота широко распространена в природе. Некоторые ее производные, например ксантоптерин, являются пигментами глаз и крыльев насекомых (бабочек).

Фолиевая кислота содержитсяв растительных продуктах(бобовых растениях, салате, капусте) в виде полиглутаматов.

Основной путь применения фолиевой кислоты в организме – фолатный цикл. Фолатный цикл – это ферментативный цикл взаимопревращений производных фолиевой кислоты, который затрагивает базовые пути метаболизма клетки.

Основная функция этого цикла – синтез одноуглеродных фрагментов. Продукты фолатного цикла используются для клеточных процессов, таких как восстановление метионина, биосинтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, метилирование ДНК.

Реакции метилирования катализируются метилтрансферазами и кодируются соответствующими генами: DNMT – метилирование ДНК, GAMT – синтез креатинина, PEMT - синтез фосфатидилхолина). Метилирование специфических участков ДНК блокирует работу гена вследствие невозможности присоединения транскрипционного фактора и синтеза РНК. Этот процесс лежит в основе эпигенетической регуляции гомеостаза.

Основным донором метильных групп выступает производное метионина – SAM, который участвует более чем в 80 известных биохимических процессах в организме человека. Он служит вторым по частоте использования субстратом в ферментативных реакциях, после АТФ. После того, как SAM отдает свою метильную группу, он становится SAH (S-аденозилгомоцистеином), который далее деградирует до аденозина и гомоцистеина. Продукты фолатного цикла используются как переносчики метильной группы в восстановительном процессе, когда реметилируетсягомоцистеин с образованием метионина. Нарушение процесса реметилирования может приводить к недостатку SAM в клетке, вследствие чего возникаетнедостаточноеметилирование ДНК, что вызывает нарушение хромосомной сегрегации и аномальную генную экспрессию. Гипометилированиепромоторных регионов генов-супрессоров может вызывать селективный рост и трансформацию клеток. Данные процессы могут лежать в процессах канцерогенеза.

Одной из важных функций ферментов фолатного цикла – участие в синтезе нуклеотидов, составляющих основу ДНК.В последнее время широко обсуждается влияние полиморфизма генов фолатного цикла на стабильность ДНК через нарушение процессов метилирования и образования нуклеотидов, когда происходит ошибочное встраивание урацила, обусловленное дефицитом тимина, с образованием одно- и двуцепочечных разрывов в процессе репарации.Дефицитфолатов и нарушение работы некоторых генов фолатного цикла оказывает негативное воздействие на целостность ДНК, в связи с появлением ломких сайтов и разрывов хромосом, за счет удаления ошибочно вставленного урацила.

Во время беременности значение фолиевой кислоты резко возрастает. Ее участие в пуриновом обмене имеет определяющее значение для нормального эмбриогенеза. Достаточный уровень фолиевой кислоты необходим для формирования нервной системы плода.

Часть генетически обусловленных пороков развития нервной трубки плода связана с нарушением обмена гомоцистеина, который тесно связан с обменом фолиевой кислоты. В свою очередь,гомоцистеин оказывает токсическое воздействие на нервную ткань. Компенсация пониженной активности гомоцистеинметилтрансферазы может быть частично осуществлена путем увеличения поступления в организм фолиевой кислоты.

В то же время при беременности часто формируется отрицательный баланс фолиевой кислоты, обусловленный интенсивной ее утилизацией на нужды плода. Фолиевая кислота используется также для обеспечения роста матки, плаценты, а также непрерывно усиливающегося эритропоэза в гемопоэтических органах женщины. Поэтому при беременности наблюдается снижение уровня фолиевой кислоты.

В целом, трудно переоценить значимость фолатного цикла в жизненно важных процессах клетки. За последние годы полиморфизм генов фолатного цикла связывают с предрасположенностью к самым разнообразным состояниям, в том числе онкологическим.

Для нормального функционирования фолатного цикла необходимо, в первую очередь, пересмотреть отношение к рациону питания, обогатив диету фолатами и витаминами группы В.

Литература

1. Афонина С.Н., Лебедева Е.Н., Голинская Л.В., Никоноров А.А. Биохимия витаминов. Оренбург. – 2015.
2. Bailey L.B., Stover P.J. McNulty H., Fenech M. F., Gregory III J. F. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND) Expert Panel // The Journal of Nutrition. – 1999. Vol. 129. – Р. 779–782.
3. Brown S.B., Reeves K.W., Bertone-Johnson E.R. Maternal folate exposure in pregnancy and childhood asthmaand allergy: a systematic review// Nutrition Reviews. – 2015, Vol. 72, № 1. – Р.55–64.
4. Dary О. Nutritional interpretation of folic acid interventions// Nutrition Reviews. – 2009, Vol. 67, № 4. – Р.235–244.
5. Mills J. L., Pfeiffer Ch. M., Fazili Z., Zhang M., Ueland P. M., Molloy A.M., Caudill M.A., Shane B., Berry R. J., Bailey R. L., Hausman D.B., Raghavan R., Raiten D. Biomarkers of Nutrition for Development—Folate Review// The Journal of Nutrition.-2015, № 3. – Р. 1-45.

**Липосомы как средство доставки лекарственных препаратов – перспективноенаправление нанофармакологии**

*Сагандыкова А. К.*

*Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В. В.;*

*заведующий кафедрой, д.м.н. проф. Кузьмин О. Б.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

*УДК: 615.015.14:577.115.8*

Резюме. Липосомы используются для лечения опухолевых и наследственных заболеваний, выработки искусственного иммунитета с помощью адъювантов. Данная обзорная статья содержит сведенияоб использованиилипосом, в качестве средств биологической доставки лекарственных веществ.

Ключевые слова:липосомы, нанофармакология, биодоставка лекарственных средств, генная инженерия, противоопухолевая терапия, адъюванты комбинированных вакцин.

Summary. Liposomes are used to tread cancer, hereditary diseases and production of artificial immunity.The review article contains information about the use of liposomes as the process of drugs deliver.

Key words:liposomes, nanopharmacology, genetic engineering, antitumor therapy,drugs deliver, combined vaccine adjuvants.

Нанофармакология является разделом фармакологии, изучающим механизмы действия, биологические эффекты и фармакокинетикунаноформ лекарственных препаратов.

Создание и применение наноформ лекарственных средств позволяют: создавать лекарственные средства с адресной доставкой, улучшать фармакологические и фармакокинетические свойства препаратов, снижать действующие дозы и токсичность препаратов, проводить коррекцию генетических дефектов в геноме.

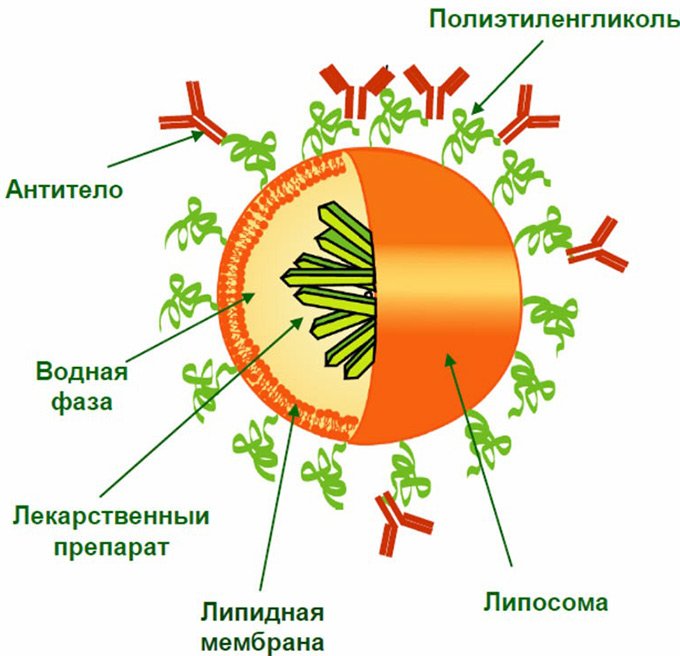
Основная задача, которая в настоящее время решается в области фармакологии с помощью нанотехнологий – векторная доставка лекарственных и диагностических средств в нужное место. Это возможно при загрузке веществ в наночастицы (липосомы, фуллерены, дендримеры,металлы). Сейчас их используют в качестве переносчиков для многих лекарств: савокзепина, доксорубицина, антиэстрогенаRU58688, иринотекана, паклитакселя, гепарина, лидокаина, эналаприлата и др.Основное внимание уделяется фосфолипидным наночастицам. Так Р. Д. Сейфулла (2012г.) доказывал, что применение липидных везикул для доставки лекарственных веществ снижает дозы применяемого препарата, замедляет его метаболическую трансформацию, позволяет суммировать эффект препарата и изменяет его фармакокинетические параметры [4].

Липосомы – искусственныефосфолипидные везикулы, образованные одной или несколькими бислойнымимембранами [1]. Наиболее ценным их качеством является возможность использования для транспорта химиопрепаратов (антибиотиков,цитостатиков, фотосенсибилизаторов), белков, пептидов, ДНК, антисмысловыхолигонуклеотидов[1].Липосомы были открыты в 60-х годахXXвека, английским ученым АлекомБэнгхемом, который заметил намикрофотографиии частицы, состоящие из нескольки слоев и похожие на мембранные структуры клеток. Было установлено, что они состоят из фосфолипидов, которые самопроизвольно образуют в растворах замкнутые мембранные структуры [7]. Липидные частицы, открытые А. Бэнгхемом, являются простым аналогом мембран клеток.

Липосомы являютсяамфифильными соединениями, состоящими из двух частей: гидрофильной и гидрофобной. Это и определяет их способность к самопроизвольному образованию липидных везикул.

Липосомы подразделяются на:

1. Малые однослойные (МОЛ);
2. Большие однослойные (БОЛ), состоящие из одного фосфолипидного бислоя;
3. Многослойные (МСЛ), с несколькими липидными бислоями[3].

Избирательное движение наноструктурк пораженным клеткам в организме больного называют «молекулярный компас» или система направленной доставки лекарств –drugdeliverysystems(DDS)[4] – рисунок.

***Рисунок*** *– Липосома, снабжённая «молекулярным компасом» (антителами, помогающими найти поражённый орган) [4].*

Большинство клеток имеют на своей поверхности специфические рецепторы, за счет которых осуществляется векторная доставка липосом[4]. Существует антигенопосредованный и рецепторопосредованный транспорт липосом. Антигенопосредованный – направленный транспорт липосом с помощью моноклональных антител или Fab’-фрагментов моноклональных антител [4].Рецепторопосредованный – транспорт липосомпри котором коньюгируютнаноструктуры с антителами к рецепторам клеток. Фрагменты аминокислот после включения в липидный бислойспособны связываться с инсулиновыми рецепторами клеток феохромацитомы (инсулинопосредованный транспорт). Липосомы, содержащие фолиевую кислотутранспортируют лекарственные средства к опухолевым клеткам, на поверхности которых имеются рецепторы к фолиевой кислоте (фолатопосредованный транспорт). Рецепторы к трансферринуимеются на большинствераковых клеток, что позволяет доставить к нимтрансферринсвязанное железо (трансферринопосредованный транспорт)[7].

Сейчас активно развивается противоопухолевая терапия, в частности введение препаратов в наносомы. Липосомы попадают в интерстиции опухолевой ткани, накапливаются, а затем непрерывно высвобождают лекарственные препараты. Это явление получило название эффекта повышенной проницаемости сосудов (EPR-effect) [7].Также липосомыиспользуются в нейтронзахватной терапии для выборочной доставки определенного количества атомов 10В в раковые клетки.

Липосомы используются в генной инженерии, при которой вводят ДНК в клетку и наблюдают засинтезом полипептидов (белков).Для этих целей используют липосомы, содержащие «лечебные» гены. Это можно использовать в лечении наследственных заболеваний, связанных с дефектами генов, кодирующихнезаменимые белки[6].

По данным А. В. Иванова (2012 г; [2]) липосомы можно использовать в качестве адъювантов (носителей антигенов). Они способны не только усиливать иммунный ответ на различные антигены, но и управлять им, воздействуя на Th1, Th2, цитотоксический Т-клеточный ответ, а также стимулируя неспецифический иммунитет. Получена комбинированная липосомальная дифтерийно-столбнячная вакцина для внутривенного введения[2]. Использованиелипосом в качестве адъювантов комбинированных вакцин является перспективным направлением.

Липосомы используются и в диагностике. Их включают в рентгенконтрастные, парамагнитные, радиоактивные препараты, а также вещества, отражающие ультразвук. Этопозволяет улучшить качество изображения, получаемого различными методами диагностики[1].

Разработка систем локальной доставки лекарственных веществ является актуальной проблемой современной медицины. Липосомыпредставляют собойуниверсальный носитель лекарственных средств. Это позволяет получить множество преимуществ перед препаратами с другими способами доставки. Не исключено, что в скором будущем нанофармакологическиелекарственные препараты вытеснят традиционные.

Литература

1. Барсуков, Л. И. Липосомы / Л.И. Барсуков// Соросовский образовательный журнал. – 1998. – №10. – C. 2-9.
2. Иванов, А. В.Липосомы как адъюванты комбинированных вакцин / А. В. Иванов,А. М.Николаева, И. В. Красильников // Биология и экспериментальная медицина. – 2012. – Т. 29, №4. – С. 110-115.
3. Меерович, И. Г. Применение липосом в фотохимиотерапии: 1. Липосомы в ФДТ/И. Г.Меерович, Н. А. Оборотова// Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – Т. 2, №4.– C.3-8.
4. Сейфулла, Р. Д. Фармакодинамика и фармакокинетикананонейрофармакологических препаратов/ Р. Д. Сейфулла// Нанофармакология. – 2012. – №1. – С. 33-42.
5. Толчева, Е. В.Липосомы как транспортное средство для доставки биологически активных молекул/ Е. В.Толчева,Н. А. Оборотова// Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5, №1. – С. 54-61.
6. Фаворова, О. О. Лечение генами – Фантастика или реальность? / О. О. Фаворова// Соросовский образовательный журнал. – 1997. – №2. – С. 21-27.
7. Шимановский, Н. Л. Молекулярная и нанофармакология/ Н. Л. Шимановский, М. А. Епинетова, М. Я. Мельников. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2010. – 624 с.

**МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНЫЕ КОНТРАСТНЫЕ СРЕДСТВА: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

*Шукшин Д. В.*

*Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В.;*

*доцент, к.м.н. Бучнева Н.В.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

УДК: 615.2.03:616-073.756.8

**Резюме.**Магнитно-резонансная томография (МРТ) активно используется для выявления патологии ряда органов, являясь незаменимым методом диагностики. В статье приведён обзор основных современных магнитно-резонансных контрастных средств (МРКС), показаний к применению, вопросов безопасности и особенностей применения в детской практике, а также проанализированы перспективные разработки экспериментальных препаратов.

**Ключевые слова:** магнитно-резонансная томография, магнитно-резонансные контрастные средства

**Summary.** Magnetic resonance imaging (MRI) is widely used to detect the pathology of many organs, as an essential method of diagnosis. The article gives an overview of the main contemporary magnetic resonance contrast agents (MRCA), readings of yet-to-use, security and the specific application in pediatric practice, and analyzes the development of promising experimental drugs.

**Keywords**: magnetic resonance imaging,magnetic resonance imaging contrast agent

Метод МРТ, внедренный в клиническую практику около 30 лет назад, поднял медицину на качественно новый уровень. Вскоре после появления МРТ ученые добились прорыва в совершенствовании этого вида диагностики, разработав контрастные средства для магнитно-резонансной визуализации.

Сейчас МРКС представляют собой неотъемлемую часть МРТ, так как позволяют значительно увеличить объем диагностической информации. Их используют для исследований органов головного и спинного мозга, грудной клетки, брюшной полости, малого таза, костно-мышечной системы и периферических сосудов. Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) были одобрены лишь некоторые контрастные агенты, такие как магневист(гадопентеновая кислота), гадовист(гадобутрол), примавист(гадоксетовая кислота), омнискан(гадодиамид) и некоторые другие, не представленные на российском рынке[11]. По прогнозам FDA, в ближайшем будущем ожидается появление новых диагностических агентов для магнитно-резонансной спектроскопии и функциональной МРТ.

Постоянно идет поиск новых МРКС, чему способствует изучение молекулярных механизмов их взаимодействия с биомакромолекулами и биообъектами. Экспериментальные контрастные агенты открывают широту возможностей их применения в диагностике.

В обзоре рассмотрены свойства основных классов МРКС и области их применения в диагностике, обозначены подходы к разработке новых экспериментальных контрастных препаратов.В создании экспериментальных МРКС используются разветвленные полимеры (дендримеры), адресные последовательности (коньюгаты с антителами), наночастицы и вирусные конструкции. Особое внимание уделено вопросам безопасности МРКС и их использованию в детской практике.Увеличение экономической доступности препаратов МРКС, при одновременном повышении качества контрастного средства может способствовать их широкому применению [3].

Действующим началом МРКС могут выступать различные элементы таблицы Менделеева. Основным критерием эффективности МРКС является их стабильность в растворе и циркуляторном кровеносном русле[2]. Первым МРКС был магневист – лекарственная форма комплекса хелата гадолиния с пентеновой кислотой (диэтилентриаминопентауксусной кислотой ДТПА)[6]. Благодаря высокой гидрофильности Gd-ДТПА не проникает через клеточные мембраны и, в том числе, гематоэнцефалический барьер, быстро выводится почками, практически не вызывая побочных реакций. Первоначально Магневист использовали только при исследовании мозга, а затем стали применять при исследовании других областей тела. Контрастирующий эффект этого средства заключается в уменьшении времени спин-решетчатой релаксации с увеличением интенсивности сигнала и повышением контрастности изображения при использовании последовательного сканирования[10].

В последующем появились другие МРКС, влияющие не только на спин-решетчатую(парамагнитные агенты – ферритин, гемосидерин, минеральный поэтин), но и спин-спиновую релаксацию протонов(супермагнитные частицы-магнетит, маггемит и ферромагнитные частицы- оксиды железа). Другим принципом классификации является деление МРКС на внеклеточные (тканенеспецифические), которые делятся на полумолярные:гадопентетат, гадодиамид, гадотират и одномолярные: гадобутрол, гадовист и внутриклеточные (тканеспецфические):гадоксетовая кислота, примовист, ферукарботран, резовист[4].

В России зарегестрированыследущиепарамагнитные заряженные (ионные) МРКС: магневист (Gd-ДТПА), дотарел (Gd-ДОТА), примовист(гадексетовая кислота) и нейтральные(неионные) – омнискан(Gd-ДТПА-БМА), гадовист (Gd-HP-ДО3А).

Магневист и омнискан – представители внеклеточных МРКС, основными характеристиками которых являются:высокая степень безопасности;низкий коэффициент распределения между бутанолом и буферным раствором(низкая липофильность и высокая водная растворимость);незначительное связывание с белками плазмы крови (меньше 5%);быстрое распределение между васкулярным и интерстициальным пространством с периодом полураспределения 3-10 минут после внутривенного введения;-преимущественно почечное выведение за счет гломерулярной фильтрации(больше 98%);пролонгированное, но полное выведение при почечной недостаточности(при скорости клубочковой фильтрации не ниже 20 мл/мин);легкость выведения при гемодиализе;-очень низкая внепочечная элиминация(меньше 2%), в том числе с грудным молоком(меньше 0,05%)[15].

Обращают на себя внимание и такие характеристики данных МРКС: отсутствие энтерогепатической рециркуляции;отсутствие прохождения через гематоэнцефалический и плацентарный барьеры;период полувыведения около 2 часов;эффективность контрастирования пропорциональна дозе;отсутствие биотрансформации в организме.

Области применения магневиста включают диагностику опухолевых поражений головного и спинного мозга, печени, молочных желез, ангиографию[14].

По сравнению с магневистом другой представитель внеклеточных МРКС-гадовист является одномолярным и имеет преимущества при наличии показаний к применению высоких доз МРКС с целью визуализации мелких повреждений и поражений,трудноконтрастируемых обычными средствами[9].

Для получения специфического усиления МРТ-изображений гепато-билиарной системы используют 2 типа МРКС: концентрирующиеся в гепатоцитах и в ретикуло-эндотелиальной системе печени[6]. Эти средства имеют низкую гидрофильность; незначительно связываются белками плазмы, имеют дозозависимуюфармакокинетику, не участвуют в кишечно-печеночной рециркуляции. При этом на МРТ визуализируется здоровая ткань, накапливающая контраст, тогда как опухоль не обладает тканеспецифическим захватом. С этой целью в клинике используются примовист, резовист, тесласкан.

Еще более высокой специфичностью обладают микроскопические частицы супермагнитных веществ, таких как магнетит, маггемит, феррит.Среди железосодержащих МРКС выделяют SPIO – супермагнитный оксид железа; USPIO- супермагнитный оксид железа в виде микрочастиц и MIOH – монокристаллическийоксид железа.

Контрастные средства на основе супермагнитныхнаночастиц оксида железа идеальны для МР-ангиографии[5]. Препарат AMI-277(синерем) улучшает визуализацию почечной, коронарной артерии, аорты, нижней полой и воротной вены. С помощью вещества NC 100150 (кларискан) можно получать изображения крупных, сегментарных и субсегментарных артерий при коронарографии. Наночастицы помогают выявлять ишемические поражения головного мозга и миокарда на ранних стадиях, оценивать гемодинамику почек.

Ультрамаленькиесуперпарамагнитные частицы оксида железа (УСЧОЖ) имеют размер менее 50 нм: ферумоксатранпроникает глубоко до макрофагов[8], аферукарботран поглощается печенью[16].

В противоположность этому фуруглоза относится к истинным невидимым наночастицам и с трудом распознается макрофагами[7].

Присоединяя к покрывающему материалу специфическиелиганды, например, октреотид, можно создавать УСЧОЖ с направленным транспортом к опухолевым клеткам, имеющим большое количество соматостатиновых рецепторов[13].

Для избирательной визуализации отдельных органов необходимы органотропные диагностические средства. Препараты, высокоспецифичные к определенной ткани, имеют более низкую дозу введения, тем не менее обеспечивающую эффективную концентрацию препарата и меньшую частоту побочных реакций, так как помимо уменьшения количества вводимого вещества почти не возникает взаимодействия с другими тканями.

При формировании комплексов МРКС с моноклональными антителами можно получить высокоспецифичные МРКС не только к данному виду нормальных тканей, но и к конкретному типу патологически измененных[12]. В экспериментах уже получены такие комплексы, иммуноспецифичные к эмбриональному антигену карциномы прямой кишки. В качестве опухолеспецифичных МРКС показана также эффективность металлопорфиринов при введении их в структуру парамагнитных агентов.

В настоящее время имеется ряд контролируемых клинических исследований по применению контрастных средств у детей, на основании которых можно рекомендовать выбор того или иного препарата, исходя из его безопасности и особенностей фармакокинетики. Практические рекомендации по использованию МРКС в детской практике гласят [1]:

а) применение МРКС в педиатрической МРТ необходимо для локализации характеристики и стадирования повреждений/опухолей, дифференциации воспалительных и инфекционных очаговых образований, а также для визуализации сосудистых изменений;

б) у детей с тяжелыми нарушениями функции почек следует тщательно взвесить соотношение риск/ польза перед использованием МРКС;

в) доза МРКС определяется массой тела, а не возрастом ребенка;

г) технология внутривенного введения МРКС(ручным способом или с помощью инжектора) зависит от возраста ребенка;

д) функцию почек(скорость клубочковой фильтрации) следует оценивать у детей с почечной патологией , дегидратацией, принимающих нефротоксичные лекарства.

На данный момент актуальны следующие вопросы:

а)создание МРКС,тропных к определенным видам тканей;

б) изучениефармакокинетики и фармакодинамики МРКС, позволяющие проводить динамические исследования и оценивать не только морфологию, но и функцию исследуемой системы;

в) расшифровка молекулярных механизмов взаимодействия МРКС с биомакромолекулами и биообъектами для более точной дифференциальной диагностики без применения инвазивных методов[6].

Насущной проблемой практической МРТ-диагностики является создание массовых, относительно дешевых и эффективных МРКС. Будущее контрастных агентов для МРТ открывается в развитии и удешевлении технологий синтеза, а также в созданиипринципиально новых препаратов для ответов на диагностические вопросы. Развитие теоретических подходов к моделированию соединений с МР-контрастными свойствами позволят создать практическую альтернативу классическим контрастным препаратам, высокоэффективную с точки зрения визуализации и без негативного влияния на организм пациента.

Литература

1. Алиханов, А.А. Применение магнитно-резонансных контрастных средств в детской практике / А.А. Алиханов, Н.Л. Шимановский //Лучевая диагностика и терапия.-2016.-№1(7).-С.82-94.
2. Кармазановский, Г.Г. Томографические исследования с контрастным усилением как реальный инструмент получения объективной информации в условиях строжайшей экономии / Г.Г.Кармазановский// Лучевая диагностика и терапия-2016.-№1(7).-С.5-12.
3. Нам, И.Ф. Современные тенденции создания контрастных средств для магнитно-резонансной томографии/ И.Ф. Нам, В.А. Яновский, Я.А. Шипунов // Сибирский медицинский журнал.-2012-№3.-С.134-137.
4. Сергеев, П.В. Магнитно-резонансные контрастные средства / П.В. Сергеев Н.Л. Шимановский // Химико-фармацевтический журнал. 1993№1.-С.30-33.
5. Хубутия, А.Ш. Применение наноматериалов в медицине/ А.Ш.ХубутияА.В. Бабич // Российский медицинский журнал.№5, 2012.-С.53-56.
6. Шимановский, Н.Л. Молекулярная и нанофармакология / Н.Л.Шимановский М.А.ЕпинетовМельников М.Я // - М.:ФИЗМАТЛИТ, 2010. -624с. -ISBN 978-5-9221-1208-6.
7. Bjørnerud, A. Pre-clinical results with Clariscan/ A.Bjørnerud, L.O.Johansson H.K. Ahlström //MAGMA. 2001 May;12(2-3):99-103.
8. Corot, C. Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging / C.Corot, P.Robert, J.M.Idée,M.Port//Adv Drug Deliv Rev. 2006 Dec 1;58(14).
9. Foo, T.K. Preferential arterial imaging using gated thick-slice gadolinium-enhanced phase-contrast acquisition in peripheral MRA / T.K.Foo V.B.Ho, M.N. Hood,S.L. Hess., P.L. Choyke//J MagnReson Imaging. 2001 May;13(5):714-21.
10. Haage, P. Mechanical delivery of aerosolized gadolinium-DTPA for pulmonary ventilation assessment in MR imaging / P. Haage,G. Adam,S. Karaagac,J. PfefferA. Glowinski S. DöhmenR.W. Günther // Invest Radiol. 2001. Apr;36(4):240-3.
11. Hsieh, A. Mapping pharmaceuticals in tissues using MALDI imaging mass spectrometry / A. Hsieh // Drug Discovery&Development.2006 №10.P.12-16.
12. Konda, S.D. Development of a tumor-targeting MR contrast agent using the high-affinity folate receptor: work in progress / S.D. Konda., M. Aref,M. Brechbiel, E.C. Wiener // Invest Radiol. 2000 Jan;35(1):50-57.
13. Li, X. Specific targeting of breast tumor by octreotide-conjugated ultrasmallsuperparamagnetic iron oxide particles using a clinical 3.0-Tesla magnetic resonance scanner / X. Li, X. Du, T. Huo, X. Liu, S. Zhang, F. Yuan // ActaRadiol. 2009 Jul;50(6):583-94.
14. Nelemans, PJ. Peripheral arterial disease: meta-analysis of the diagnostic performance of MR angiography / PJ. Nelemans, T. Leiner, HC. de Vet, JM. vanEngelshoven // Radiology. 2000 Oct;217(1):105-14.
15. Priebe, M. Gadobutrol: an alternative contrast agent for digital subtraction dacryocystography / M. Priebe, A. Mohr, J. Brossmann, M. Heller, C. Frahm // EurRadiol. 2002 Aug;12(8):2083-6.
16. Taupitz, M. Phase I clinical evaluation of citrate-coated monocrystalline very small superparamagnetic iron oxide particles as a new contrast medium for magnetic resonance imaging / M. Taupitz, S. Wagner,J. Schnorr,I. Kravec, H. Pilgrimm, H. Bergmann-Fritsch, B. Hamm // Invest Radiol. 2004 Jul;39(7):394-405.

**ГЕНЫ И ТРАДИЦИИ ПИТАНИЯ**

*Набаева Д. Г., Перехрест Е. А*

*Научный руководитель: ст. преподаватель, к.б.н. Винокурова Н. В.*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Адаптация человека к различным условиям обитания связано с непрерывным взаимодействием культурных и биологических факторов. В процессе адаптации происходит формирование традиций питания. В каждом человеке генетически заложена способность усваивать тот или иной вид пищи. В свою очередь, на генетические особенности популяций влияет пища, ставшая традиционной.

В приспособлении человека к изменениям окружающей среды можно выделить три уровня: 1) непосредственные физиологические реакции индивида в ответ на изменения окружающих условий; 2) акклиматизация, требующая более продолжительного времени; 3) эволюционна адаптация, осуществляемая на популяционном уровне, реализуемая в течение многих поколений и имеющая в своей основе популяционно-генетические изменения [3].

При исследованиях генетической адаптации к особенностям питания было установлено, что практически все этнические группы сильно отличаются друг от друга по набору и количеству потребляемых пищевых продуктов. При этом, этническая группа в зависимости от численности и брачной структуры может быть представлена одной или несколькими популяциями. Популяции могут быть генетически однородными или довольно сильно отличающимися друг от друга, что так же требует отдельного исследования.

К примеру, различия в потреблении молока в разных странах и регионах очень значительны: 980 г. в день на человека в Финляндии, 120 г. в ОАР, 17 г. на Тайване (по данным 1977 г.). В связи с этим в 1952 году К. Зауером были составлены карты «молочного поведения» [2]. Для адекватного усвоения молока необходим фермент лактаза, расщепляющий лактозу. Для большинства млекопитающих, в том числе и людей, характерно снижение выработки фермента в кишечнике в связи с взрослением. Этот адаптационный механизм обеспечивает переход ребенка к самостоятельному питанию и повышает шансы матери выкормить следующее потомство.

Различия в способности к усвоению молока между расовыми группа были зафиксированы в 1965 г. при обследовании в Балтиморе чернокожих подростков и взрослых, среди которых 73% (30 из 40) не способны были расщеплять лактозу, в отличие от 16% (3 из 19) в контрольной группе белых [6]. В то время считалось, что фермент лактаза должен обладать высокой активностью, а снижение этой активности воспринималось либо как следствие болезни, либо как особенность национальной кухни. Затем стали считать, что лактаза активируется при частом употреблении молока. И все эти гипотезы были неверны.

Сейчас же известно, что возрастное снижение активности лактазы как у человека, так и у других млекопитающих, обусловлено тем, что с возрастом ген лактазы работает значительно слабее, «замолкает», и фермент больше не синтезируется. Понимание генетической сущности явления позволило по-иному подойти к анализу его эволюции. На основе этого в 1970 году была выдвинута гипотеза о том, что стабильная активность лактазы была подхвачена естественным отборам в группах, в которых молоко было доступно абсолютно всем возрастам, т.е. у народов практиковавших животноводство. Но эта гипотеза не нашла фактического подтверждения.

Проверка гипотезы о значении ультрафиолетового облучения как одного из факторов эволюции гиполактазии в популяциях Евразии показала, что в областях умеренной климатической зоны с невысокой интенсивностью облучения доля людей со стабильной активностью лактазы выше, чем в более насыщенных ультрафиолетом регионах [9].

Это полностью соответствует географическому распределению в Европе варианта гена, "разрешающего" продукцию лактазы у взрослых: его концентрация максимальна у народов Северо-Западной Европы.

По способности к усвоению молока в популяциях Европы можно проследить все аспекты взаимодействия генов, природной среды и культурных традиций. Пример генетической адаптации к особенностям питания - распространение мутации, "разрешающей" синтез фермента лактазы у взрослых в группах, в которых сильны были традиции молочного животноводства. Распространение молочного животноводства на севере Европы и потребление цельного молока в 2-3 раза больших объемах, чем на юге, - свидетельство адаптации к климатическим условиям (интенсивности ультрафиолетового излучения) через особенности хозяйственно-культурных традиций. Народы южных областей с достаточным уровнем инсоляции (испанцы, итальянцы, народы Кавказа) цельное молоко употребляют, но в меньших объемах [9, с. 504].

Лактоза лишь один из ряда входящих в рацион человека сложных сахаров - дисахаридов. Усвоение дисахаридов возможно только после их предварительного расщепления ферментом на простые составляющие (моносахариды). Известно, что активность каждого из этих ферментов определяется специфическим геном. Частоты генетически обусловленного снижения активности ферментов-дисахаридаз существенно различаются у коренного населения приполярных регионов, ориентированных в первую очередь на потребление пищи животного происхождения, и в популяциях умеренной климатической зоны, практикующих сельское хозяйство в течение нескольких тысячелетий.

Причина этого в том, что традиционные диеты коренных обитателей высоких широт включают очень малые количества природных Сахаров, получаемых в основном при потреблении ягод и почек растений. А у жителей умеренного и жаркого климата распространенность пищевых сахаров привела к ослаблению отбора на высокую активность соответствующих ферментов (в связи с потреблением фруктов, ягод, меда, сахарного тростника и т.п.). В результате у коренного населения Субарктики и Арктики в десять раз чаще, чем у жителей более теплых регионов, наблюдаются "сбои" в работе фермента сахаразы. В грибах содержится сахар трегалоза, а дефицит расщепляющего ее фермента трегалазы - одна из причин возникновения болей в животе после употребления грибов в пищу [5]. Для групп, ориентированных на добычу пищи, прежде всего, в ходе охоты или рыбалки, самым естественным способом избежание неприятных последствий контакта с трегалозой было объявление грибов вообще непригодным продуктом для человека. В результате биологическое своеобразие популяции (исходно высокая концентрация мутантного гена трегалазы) стало поддерживаться и культурными традициями (запрет на употребление грибов в пищу).

С позиций рассматриваемой гипотезы генетическая адаптация людей не успевает следовать за изменениями экологических условий и жизненного стиля в постиндустриальном обществе. Для разработки рекомендаций по оптимальному питанию необходимо знать генетические особенности индивидов и популяций и то, в адаптации к каким традициям питания эти особенности сложились. Проведение таких исследований возможно лишь при взаимодействии генетиков и этнологов.

Литература

1. Боринская и др. 2006 - Боринская С.А., Ребриков Д.В., Нефедова В.В. и др. Молекулярная диагностика и распространенность первичной гиполактазии в популяциях России и сопредельных стран // Мол. биол. 2006. Т. 40 № 6. С. 1031-1036.
2. Козлов А. И. Гиполактазия: распространенность, диагностика, врачебная тактика. М.: Издательство АрктАн - С, 1996.
3. Спицин В. А. Экологическая генетика человека. М.: Наука, 2008.
4. Соколова, Пивнева 2004 - Соколова З.П., Пивнева Е.А. Этнологическая экспертиза: Народы Севера России, 1956-1958 годы. М.: Изд-во ИЭА РАН, 2004.
5. Arola H., Koivula Т., Karvonen A.L. et al. Low trehalase activity is associated with abdominal symptoms caused by edible mushrooms // Scand. Journal Gastroenterol. 1999. Vol. 34. № 9. P. 898-903.
6. Cronin C.C., Shanahan F. Why is celiac disease so common in Ireland? // Perspect. Biol. Med. 2001. Summer. Vol. 44. № 3. P. 342-352.
7. Cuatrecasas et al. 1965 -Cuatrecasas P., Lockwood D.H., Caldwell J.R. Lactase deficiency in the adult: a common occurrence//Lancet. 1965. Vol. LP. 14-18.
8. Danpure C.J., Fryer P., Jennings P.R.S., Cunningham A. et al. Evolution of alanine:glyoxylate aminotransferase 1 peroxisomal and mitochondrial targeting. A survey of its subcellular distribution in the livers of various representatives of the classes Mammalia, Aves and Amphibia// Eur. Journal Cell. Biol. 1994. Vol. 64. P. 295-313.
9. Durham W.H. Coevolution: Genes, Culture and Human Diversity. Stanford: Stanford UniversityPress, 1991.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ**

**КАК КРИТЕРИЙ ДИАГНОСТИКИ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ**

*Глушихина Е. И.*

*Научный руководитель: доцент, к.б.н., Карнаухова И.В.*

*Кафедра химии и методики преподавания химии*

*Оренбургский государственный педагогический университет*

По данным ВОЗ лидирующие позиции в причинах смерти людей вот уже много лет занимают ишемическая болезнь сердца и инсульт[2, с. 21].Основной причиной возникновения ишемической болезни является гиперлипидемия, т.е. аномально повышенный уровень липидов и/или липопротеинов в крови, и атеросклероз, возникающий из-за нарушения липидного и белкового обмена и сопровождающийся отложением холестерина и некоторых фракций липопротеинов в просвете сосудов. Зачастую причины нарушения обмена липидов обусловлены наследственностью, например, при семейной гиперхолестеринемии. Поэтому изучение подобных заболеваний, их причин и проявлений является *актуальным* на сегодняшний день.

*Целью* настоящей работы был анализ причин семейной гиперхолестеринемии на основании известных в литературе данных, а также мониторинг липидного профиля пациентов ОКБ№1 (по данным клинической лаборатории ОКБ№1 за период 2010-2011 гг).

На сегодняшний день известно более пяти тысяч наследственных заболеваний[7].Среди них есть такие, которые приводят к изменению обмена веществ. Они получили название молекулярных болезней.

Семейная гиперхолестеринемия связана с нарушением обмена липидов.Нерастворимость или очень низкая растворимость липидов в воде обуславливает необходимость существования специальных форм для переноса их кровью. Основные из них: хиломикроны (ХМ), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП) и липопротеины высокой плотности (ЛПВП).Липопротеины представляют собой высокомолекулярные водорастворимые частицы в виде комплекса белков и липидов[4, с.27].

Хиломикроны образуются в тонком кишечнике и представляют собой сферические частицы низкой плотности, являющиеся самыми большими из липопротеинов[6, с.170], они достигают размеров от 75 нм до 1,2 микрона в диаметре иявляются основными носителями пищевых триглицеридов.

Липопротеины очень низкой плотности образуются в печени и используются для экспорта триглицеридов в другие ткани.

Липопротеины низкой плотности – конечный продукт обмена ЛПОНП и переносчик холестерола в клетки

Липопротеины высокой плотности – осуществляют метаболизм ХМ и ЛПОНП и транспортируют холестерол из клеточных мембран в печень для дальнейшего катаболизма.

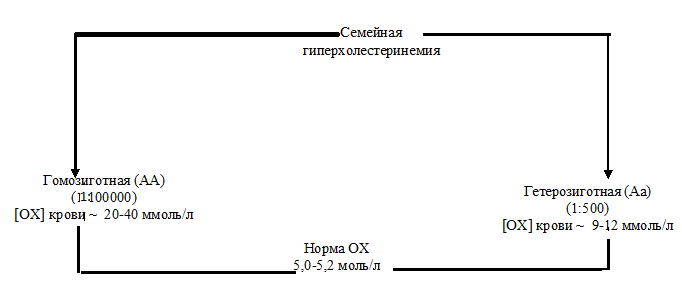
Крупные липопротеины (ЛПОНП и ХМ) имеют большие размеры и не могут проникать в стенку артерии, и, поэтому, не являются атерогенными, но в избыточном количестве могут привести к панкреатиту.

ЛПВП могут проникать в стенку артерий и их основная функция – защита артерий от развития атеросклероза,так как они выводят холестерол из ткани в печень. Чем выше уровень ЛПВП в крови, тем меньше вероятность развития атеросклероза. Таким образом, они являются антиатерогенными.

ЛПНП – это атерогенная форма липопротеинов, т.к. они способны проникать в сосуды и задерживаться там, способствуя накоплению холестерола.

Таким образом, атерогенностью обладают в первую очередь ЛПНП, а также ЛПОНП.

Семейная гиперхолестеринемия (СГ) – это аутосомно-доминантное заболевание (мутантный ген реализуется в признак в гетерозиготном состоянии), вызванное снижением скорости удаления ЛПНП из кровотока из-за мутаций в гене специфического рецептора ЛПНП. Относится к генетически гетерогенной группе заболеваний, как моногенной, так и мультифакторной природы [5, с. 2].



У больных СГ наблюдается повышение в крови уровня общего холестерина и холестерина, ассоциированного с ЛПНП, развитие атеросклеротической болезни и, как следствие, инфаркта миокарда. Клиника ишемической болезни сердца при гомозиготной форме СГ развивается к 15-20 годам, при гетерозиготной СГ к 40 годам и ранее.

Характерные клинические метки СГ – сухожильные ксантомы, ксантелазмы вокруг глаз. Диагностика СГ основана на определении содержания отдельных классов липидов в плазме крови пациентов, на оценке клинических признаков и семейном анамнезе заболевания. Наиболее ранним и чувствительным методом является определение мутаций в гене рецептора ЛПНП[3, с. 80].

В мониторинговом исследовании мы проводили анализ показателей липидного профиля пациентов ОКБ№1 по данным клинической лаборатории ОКБ№1 (результаты обследования пациентов 2010-2011 гг). На основании показателей ОХ, ХС-ЛПВП и ТАГ рассчитывали ХС-ЛПНП и Кхс по формулам:

ЛПНП=ОХ – (ЛПВП + ТАГ/2,2) (1.1)

Кхс = , (1.2)

где

ОХ – общий холестерин;

ТАГ – триацилглицериды;

ХС-ЛПВП – липопротеины высокой плотности или (α-ХС);

ХС-ЛПНП – липопротеины низкой плотности или (β-ХС);

Кхс – индекс атерогенности

Были проанализированы показатели липидного профиля 169 пациентов.При анализе липидного профиля пациентов выявлены различные отклонения от нормы (в 150-ти случаях) и пограничные значения (в 8-ми случаях).

Статистический анализ результатов показал, что только у 13% обследуемых все тестируемые показатели соответствовали норме, у 4% показатели липидного профиля имели пограничные значения, при этом индекс атерогенности (Кхс) превышал допустимый уровень, а у 83% обследуемых показатели липидного обмена отклонялись от нормы.

Как правило, обнаруживалось сочетанное отклонение от нормы нескольких показателей (табл. 1)

Таблица 1

Отклонения от нормы в липидном профиле пациентов

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель | Превы-шение ОХ | Превы-шение ХС-ЛПНП  (β-ЛП) | Превы-шение ОХ и ЛПНП | Снижение ХС-ЛПВП (α-ЛП) | Превы-шение ТАГ | Превы-шение Кхс |
| Количество человек | 13 | 78 | 67 | 31 | 21 | 117 |
| % | 66,9 | 46 | 40 | 18 | 12 | 69 |

Интегративным показателем нарушения липидного обмена является Кхс, его превышение отмечено у 69%. У 40% пациентов наблюдалось сочетанное превышение ОХ и ЛПНП, что является диагностическим критерием семейной гиперхолестеринемии[1, с.16; 3, с.76].С высокой вероятностью можно предположить, что 40% пациентов обследуемой группы страдают семейной гиперхолестеринемией.

Таким образом, в ходе работы нами были исследованы причины семейной гиперхолестеринемии, а мониторинг данных липидного профиля пациентов позволил выявить процент людей, страдающих данным заболеванием.

Литература

1. Захарова Ф.М., Голубков В.И., Липовицкий Б.М., Константинов В.О., Мандельштам М.Ю., Васильев В.Б. / Диагностика семейной гиперхолестеринемии у детей в семьях с отягощенной наследственностью //Ф.М. Захарова и др. // Вопросы современной педиатрии, 2005. - т.4. -№1. – С. 15-18.
2. Здравоохранение в России. 2015: Статистический сборник/ М.А. Дианов, С.Ю. Никитина – М.: Росстат, 2015 – 174 с.
3. Кухарчук В.В., Малышев П.П., Мешков А.Н. Семейная гиперхолестеринемия: современные аспекты диагностики, профилактики и терапии/ В.В. Кухарчук, П.П. Малышев, А.Н. Мешков//Кардиология, 2009. - №1. - С. 76-83.
4. Либов И.А., Иткин Д.А., Черкесова С.В. Нарушение липидного обмена и атеросклероз: актуальность, проблемы и диагностика/ И.А. Либов, Д.А. Иткин, С.В. Черкесова// Лечащий врач – медицинский научно-практический журнал, 2001. - №03 – С.25-29
5. Мандельштам М.Ю., Васильев В.Б. Моногеные болезни – недооцененная угроза здоровью населения/ М.Ю. Мандельштам, В.Б. Васильев//Медицинский академический журнал, 2008 - №2. - С. 3-13.
6. Марри Р., Греннер Д. Биохимия человека в 2-х томах/ Р. Марри, Д. Греннер. – М.: Мир, 1993. – Т. 1. – 384 с.
7. Тюняев, А.А.. Группы крови. Синдром гомеологическо-хромосомного иммунодефицита [Электронный ресурс] / А.А. Тюняев. – Электронные данные. – 2009. – Режим доступа: http://медпортал.com/gennyie-bolezni-nasledstvennyie/geografiya-nasledstvennyih-bolezney.html

**ТАРГЕТНАЯ ТЕРАПИЯ**

**КАК ИННОВАЦИОННЫЙ ПОДХОД В ЛЕЧЕНИИ РАКА**

*Колесникова Е. А.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н., Белянин В.В.*

*Кафедра фармакологии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

УДК: 616-006-085-02:615.277.3

**Резюме.** В обзорной научной статье отражены сведения о таргетной терапии злокачественных новообразований: концепция таргетной терапии, составные части, механизмы. Особое внимание уделяется характеристике методов таргетной терапии (использование пептидных гормонов, моноклональных антител, «троянских» пептидов и т. д.) и перспективах её развития.

**Ключевые слова:** таргетная терапия, лечение рака, дизайны лечения рака, компоненты таргетной терапии, методы таргетной терапии, механизмы таргетной терапии.

**Summary.**In the scientific article are shown the information about targeted therapy of cancer. There are given the conception of targeted therapy, composition, mechanism. Attended to characteristic of methods and development prospects of this kind of therapy.

**Key words:**targeted therapy, treatment of cancer, treatment of cancer design, components of targeted therapy, methods of targeted therapy, mechanism of targeted therapy.

Злокачественные новые образования–одна из важнейших проблем современности. Известными учеными со всего мира, такими как Юсуфян Х.(медицинский директор БайндТерапьютикс, Кембридж, Массачусетс, США) [4], Тюляндин С. А. (д.м.н., заместитель директора, заведующий отделением клинической фармакологии НИИ клинической онкологии, Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина, Москва, РФ)[3], Горбунова В. А. (заведующая отделением химиотерапии Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН, д.м.н., профессор) [1] и др. постоянно ведутся разработки новых и эффективных методов лечения злокачественных опухолей.

В настоящее время созданы чёткие, проверенные временем,алгоритмы лечения больных со злокачественными опухолями. Они включают разные методы: химиотерапия, лучевая терапия, гормональная терапия, хирургическое вмешательство. Несмотря на многообразие терапевтических и хирургических средств, при данной патологии наблюдается высокая смертность, инвалидизация, тяжелые осложнения. Данная проблема сподвигла ученых на создание качественно нового направления в лечении рака, таргетной терапии, – имеющая неоспоримые преимущества над химиотерапией.

Принцип работы данной терапии указал в своё время знаменитый немецкий ученый, отец химиотерапии, Пауль Эрлих, который предложил концепцию «магической пули»: лекарство должно атаковать раковые клетки, но не обладать токсическим действием по отношению к здоровым клеткам[6]. Именно эта мысль и легла в основу современной таргетной терапии. Несмотря на то, что данное предложение высказывалось еще в XIX веке, разработка этого метода началась сравнительно недавно.

В наше время чащеприменяется стандартная химиотерапия, которая, помимо лечебного эффекта,имеет выраженные побочные эффекты: тошнота, рвота, снижение аппетита, анорексия, анемия, нейтропения, тромбоцитопения, аллопеция, кожная сыпь, периферическая нейропатия, отёки и т.д [4].

Внедрениетаргетной терапии в разработку новых дизайнов лечения рака позволяет усилить эффект действия лекарства, предотвратить или ослабить многие побочные эффекты. Отличительными особенностями молекулярной таргетной терапии в сравнении со стандартной химиотерапией являются: влияние только на опухолевые клетки; необходимость тщательного индивидуального подбора препаратов (в зависимости от их точки приложения); чаще цитостатическое действие (химиотерапия – цитотоксическое).

Составляющими компонентами таргетной терапии являются: лекарство, наночастица (с помощью которой переносится лекарство) и носитель-вектор.

В настоящее время в таргетной терапии опытным путем доказана эффективность следующих противоопухолевых средств: иматиниб, сунитиниб, вемурафениб, эверолимус, сорафениб, эрлотиниб и др. Имеются таргетные препараты для лечения многих злокачественных новообразований[1].

Существуютразличные способы введения таргетных препаратов. Один из них –непосредственное внесение лекарства в опухоль, т.е. регионарное введение препарата, при котором лекарственное средство вводится в артериальное сосудистое русло. При этом наблюдаются минимальные повреждения здоровых клеток. В ряде случаевпосредством пережатиясосудов вокруг опухоли добиваются гипоксических/гипероксических состояний (в зависимости от препарата). При этом, предположительно,достигается более эффективное противоопухолевое действие лекарственного средства.Примером этого метода являетсяпроведение печеночной артериальной инфузиичерез катетеризацию печеночной артерии. Лечениенерезектабельнойхолангиоцеллюлярной карциномы проводилось введением циспластина, митомицина С, лейковорина и 5-фторурацила. При этом увеличилась выживаемость пациентов[2].

Другой метод введения препаратов – векторная доставка. Векторы-носители – естественные макромолекулы-лиганды, которые опосредованно связываются с рецепторами. Происходит точная доставка лекарства к опухолевой клетке, на которой расположены эти рецепторы. Существует несколько видов носителей-векторов: моноклональные антитела, онкофетальные белки, пептидные гормоны, «троянские» пептиды и т.д.

Пептидные гормоны используют, например, при раке молочной железы или раке легких,когда выделяется гонадолиберин, к которому у опухолевых клеток есть специфические рецепторы. Этот механизм и лег в основу доставки лекарства к опухоли с помощью пептидных гормонов путем конъюгирования лекарства (камптомицина) с гонадолиберином, вектором-носителем и линкером – полиэтиленгликолем (ПЭГ). Использование данногоконъюгата показало высокую нетоксичную противоопухолевую активность в опыте на мышах[2].

Положительные результаты дало использование препаратов моноклональных антител к специфическим опухолевым рецепторам (ритуксимаб, мабтера и др.) при лечении В-клеточной неходжкинскойлимфомы При опухолях с гиперэкспрессиейэпидермального фактора роста (рак молочной железы, легких, мочевого пузыря) успешно применяется гарпецин. Однако антитела могут вызывать выраженный иммунный ответ в организме, что затрудняет использование подобных конъюгатов[2].

Еще один перспективный метод – использование «троянских» пептидов, которые являются альтернативой классическим белковым векторам. Ониобладают гораздо меньшими размерами, чем вышеописанные конъюгаты, и просты в получении. Принцип метода основан на доставке пептидами гидрофильных молекул (белки, лекарства) к опухолевым клеткам, что обеспечивает рецепторопосредованныйэндоцитоз без нарушения целостности мембраны. Эффективность в лечении рака мозга показал один из представителей «троянских» пептидов – пенетратин. Механизм его прохождения через мембрану полностью не изучен[2].

Соединение лекарства с вектором возможно посредством простого сшивания (например, с помощью дисульфидныхсвязей) или с помощью использования специальных линкеров. В качестве линкерачаще используются ПЭГ, различные полипептиды и комплекс «авидин—биотин», которые обладают хорошей совместимостью и биоразлагаемостью.

При таргетной терапии могут использоваться корпускулярные носители (рисунок), в которые лекарство может быть конъюгировано, инкапсулировано, абсорбировано и т. д. При отборе носителя учитываются размер, поверхностное натяжение, гидрофильный/гидрофобный баланс, тканевая пенетрация, способность проходить через различные барьеры в организме. При этом важно предотвращение опсонизации, что увеличивает концентрацию вещества в клетке и позволяет усилить терапевтический эффект лекарства. Предлагались различные материалы, которые вполне способны отвечать вышеописанным требованиям – карбонаты, золото, серебро, липосомы. Оптимальнаянаночастица– ПЭГ, который«невидим» для клеток ретикулоэндотелиальной системы, что обеспечивает его «высокий коэффициент полезного действия».ПЭГ может использоваться как при модификации (например, липосом), так и в качестве самостоятельного носителя лекарства.Компанией BIND была создана специальная полимерная наночастица – аккурин, содержащая в себе лекарственный препарат доцетаксел. Эта наночастица локально борется со злокачественными новообразованиями с минимальными побочными эффектами [4].

Механизм таргетной доставки основан на пассивном и активном нацеливании. При активной доставке учитывается строгая молекулярная и рецепторная специфичность. Пассивная доставка основана на проникновении наночастиц через мельчайшие кровеносные сосуды и поры в мембране клетки опухоли [4].

Описание: An external file that holds a picture, illustration, etc.
Object name is ijn-9-467Fig2.jpg

***Рисунок*** *– Виды корпускулярных носителей [6].*

Таргетная терапия является одним из перспективных направлений в лечении онкозаболеваний, это качественно новая ветвь в нанофармакологии. Учитывая изменчивость структуры опухоли вследствие мутаций, непрерывно производятся усовершенствования препаратов, корпускулярных носителей и наночастиц. Многие компании разрабатываютновые компоненты таргетной терапии. Учитывая доказанную высокую эффективность, таргетный препараты постепенно вводятся в курсы лечения больных раком. Таргетная терапия будет способствовать развитию персонализированной медицины в будущем.

**Литература**

1. Горбунова, В.А. О прошлом, настоящем и будущем таргетной терапии // Эффективная фармакотерапия. Онкология, Гематология и Радиология" – №3 – 2013 Режим доступа: [http://umedp.ru/articles/professor\_va\_gorbunova\_o\_ proshlom\_nastoyashchem\_i\_budushchem\_targetnoy\_terapii.html](http://umedp.ru/articles/professor_va_gorbunova_o_%20proshlom_nastoyashchem_i_budushchem_targetnoy_terapii.html) (дата обращения 07.02.2017).
2. Пятаев, Н.А. Таргетный транспорт противоопухолевыххимиопрепрепаратов: современные технологии и перспективы развития // Н.А. Пятаев, Г.Г. Мельцаев, П.И. Скопин, О.В. Минаева, С.А. Щукин. – 2012. – Режим доступа:<http://oncovestnik.ru/index.php/arkhiv>/item/319-targetnyj-transport-protivoopukholevykh-khimiopreparatov-sovremennye-tekhnologii-i-perspektivy-razvitiya (дата обращения: 07.02.2017).
3. Тюляндин, С. А. Таргетная терапия и новые дизайны клинических исследований в онкологии / С. А. Тюляндин, М. Ю. Федянин // Альманах. – 2015. - С. 14-17. – Режим доступа: htts://sk.ru/news/m/skmedia/14224/download/aspx (дата обращения 02.02.2017).
4. Юсуфян, Х. Таргетная доставка противоопухолевых препаратов//Альманах. –2015. – С. 25-27. – Режим доступа:htts://sk.ru/news/m/skmedia/14224/download/aspx(дата обращения 02.02.2017).
5. Cornier, J Pharmaceutical Nanotechnology Innovation and Production, 2 Volumes / Jean Cornier, Andrew Owen, Arno Kwade, Marcel Van de Voorde. –Berlin : Wiley, – 2017. – С. 17-37.
6. Sanna, V. Targeted therapy using nanotechnology: focus on cancer / V. Sanna, N. Pala, M. Sechi // International Journal of Nanomedicine. Sassari, – 2014. - № 9. – С. 467-483. Режим доступа: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/ PMC3896284/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/%20PMC3896284/)(дата обращения 02.02.2017).

**СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ**

*Пацевич Е. С.*

*Научный руководитель: доцент, к.м.н., Белянин В.В.,*

*доцент, к.м.н. Рябченко А.Ю.*

*Кафедра фармакологии*

*Кафедры неврологии и медицинской генетики*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

УДК: 616.832-004.2-085-02:615.21

**Резюме.** Рассеянный склероз является наиболее распространенным демиелинизирующим заболеванием центральной нервной системы, которое развивается преимущественно в молодом возрасте и в большинстве случаев приводит к инвалидизации. На сегодняшний день не существует препаратов, способных полностью остановить его развитие. Применяемые препараты, изменяющие течение рассеянного склероза, могут лишь снизить частоту и тяжесть обострений, а также замедлить темпы прогрессирования неврологического дефицита. В обзорной статье рассмотрены активно используемые средства, а также новые экспериментальные методики лечения рассеянного склероза.

**Ключевые слова:** демиелинизирующие заболевания, рассеянный склероз, фармакотерапия рассеянного склероза, интерфероны, иммуносупрессоры.

**Summary.**Multiple sclerosis is the most common demyelinating disease of the Central nervous system that develops mainly in young age and in most cases leads to disability. To date, there are no drugs that can completely stop its development. Multiple sclerosis modifying drugs can only reduce the frequency and severity of exacerbations and slow the rate of progression of neurological deficit. In review article examined used drugs, and new methods of treatment of multiple sclerosis.

**Key words:** demyelinating disease, multiple sclerosis, pharmacotherapy of multiple sclerosis, interferons, immunosuppressants.

Рассеянный склероз (РС) – это тяжелое хроническое демиелинизирующее заболевание, поражающее центральную нервную систему. Преимущественно РС возникает у лиц молодого трудоспособного возраста и в последующем приводит к инвалидизации и снижению качества жизни [5]. РС является полиэтиологичным заболеванием, в патогенезе которого важную роль играют генетические факторы и аутоиммунные механизмы [3, 6]. До настоящего времени изучение РС является перспективным и развивающимся направлением в неврологии и нейроиммунологии. Не до конца изучены механизмы возникновения и развития заболевания, диагностика на ранних стадиях развития заболевания весьма затруднительна, отсутствуют эффективные методы лечения РС, прогрессирование заболевания приводит к быстрой инвалидизации и социальной дезадаптации больных. Повышенное внимание к проблемам РС также обусловлено ростом заболеваемости РС и уменьшением среднего возраста заболевших [4, 7]. В настоящее время в мире насчитывается около 3 млн. больных РС. В России заболеваемость РС составляет от 30 до 100 случаев на 100 000 населения [5]. Данные обстоятельства лишний раз доказывают актуальность проблем РС.

В последнее десятилетие ведется активный поиск и разработка эффективных методов лечения РС. Применяемые на сегодняшний день препараты позволяют лишь замедлить темпы прогрессирования неврологических нарушений и снизить частоту обострений. Эти препараты относятся к группе, именуемой ПИТРС (препараты изменяющие течение РС). Среди основных эффектов ПИТРС можно выделить снижение частоты обострений, снижение скорости прогрессирования неврологических нарушений, подавление воспалительной реакции в очагах демиелинизации по данным МРТ [5].

Только для незначительной части препаратов, наиболее часто используемых в лечении PC, получены доказательства эффективности (Таблица). Многие препараты используют при PC на основании экспериментальных и эмпирических предпосылок. Выбор лечения и контроль за ним должны осуществляться учреждениями здравоохранения, имеющими соответствующую специализацию.

Таблица. Современные лекарственные средства, разрешенные для лечения РС в Европе и США [9]

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Международные непатентованные названия (торговые названия) | Клинический изолированный синдром | РС ремитирующего типа | Вторичнопрог-рессирующий РС |
| Интерферон-β-1а (Авонекс) | + | + | - |
| Интерферон-β-1б (Бетаферон) | + | + | + |
| Интерферон-β-1а (Ребиф) | - | + | + |
| Глатирамера ацетат (Копаксон) | - | + | - |
| Азатиоприн (Имуран) | - | + (в Европе)  - (в США) | - |
| Натализумаб  (Тизабри) | - | + | - |
| Митоксантрон  (Новантрон) | - | + | + |

ПИТРС подразделяются на три линии:

Первая линия – препараты бета-интерферона (Бетаферон, Бетасерон, Авонекс), глатирамера ацетат (Копаксон);

Вторая линия – Митоксантрон, Натализумаб, Алемтузумаб, Ритуксимаб, Финголимод;

Третья линия – иммуносупрессоры (микофенолата мофетил, Циклоспорин А, Циклофосфамид), внутривенные иммуноглобулины [8].

Бета-интерферон – гликопротеин, продуцируемый клетками фиброэпителиального типа, синтез которого индуцируется вирусами и чужеродными нуклеиновыми кислотами. Установлено, что бета-интерферон подавляет и изменяет активность провоспалительных цитокинов (гамма-интерферон, фактор некроза опухолей, лимфотоксин), активирует супрессорные влияния Т-лимфоцитов, стимулирует образование трансформирующего фактора роста, интерлейкина 10, антагониста рецептора интерлейкина-1, подавляет пролиферацию лейкоцитов. В нервной ткани бета-интерферон подавляет презентацию антигенов микроглии, препятствует миграции Т-лимфоцитов через сосудистую стенку, снижает экспрессию молекул адгезии [1]. Кроме иммуномодулирующего действия, бета-интерферон обладает противовирусной активностью, а также способствует повышению уровня кортикостероидов.

Интерферон-бета-1б (Бетаферон, Бетасерон)продуцируется штаммом E.coli, в геном которых генноинженерным путем пересажен человеческий ген, ответственный за продукцию бета-интерферона. По химическому строению этот белок несколько отличается от натурального бета-интерферона. Многочисленные исследования эффективности данного препарата при лечении РС доказали достоверное снижение частоты обострений [1, 3, 4]. Бетаферон наиболее эффективен при продолжительном курсе и раннем начале лечения. Основным лимитирующим фактором использования интерфероновых препаратов является выработка против них нейтрализующих антител, и как следствие этого, невозможность проведения постоянной длительной терапии данными препаратами.

Глатирамера ацетат (Копаксон)является уксуснокислой солью смеси синтетических полипептидов, образованных L-глутаминовой кислотой, L-аланином, L-тирозином и L-лизином, и по химическому строению сходен с основным белком миелина. В основе механизма действия Копаксона лежит способность конкурентно замещать антигены миелина — основной белок миелина, миелиновый олигодендроцитарный гликопротеин и протеолипидный протеин в местах связывания с молекулами главного комплекса гистосовместимости 2 класса, расположенных на антигенпрезентирующих клетках. Вследствие этого происходит стимуляция супрессорных Т-лимфоцитов и торможение эффекторных Т-лимфоцитов. Попадая в участок воспаления в ЦНС, указанные Т-лимфоциты реактивируются антигенами миелина, что приводит к продукции ими противовоспалительных цитокинов (интерлейкин-4, интерлейкин-6, интерлейкин-10). Таким образом, постоянное введение глатирамера ацетата, схожего с аутоантигеном, вызывает развитие специфичной по отношению к миелину иммунной толерантности и снижение воспалительного ответа в очагах демиелинизации. Так как глатирамера ацетат обладает таким специфическим механизмом действия, его длительное применение не приводит к системному изменению иммунного ответа [4].

Митоксантрон – цитостатический препарат. Проникая в клетки, он встраивается в молекулу ДНК, нарушает ее структуру и функцию, ингибирует синтез РНК и митоз. Основным механизмом действия препарата считается подавление размножения Т и В-лимфоцитов и нарушение процессов презентации антигена. Также было доказано, что при рассеянном склерозе митоксантрон стимулирует синтез противовоспалительных цитокинов (интерлейкин-4, интерлейкин-5) [2]. Митоксантрон обладает множеством побочных эффектов, среди которых лейкопения, подъем уровня трансаминаз, кардиотоксичность, инфекции мочевыделительных путей, алопеция. Описаны случаи развития острых лейкозов у пациентов, получавших Митоксантрон [3]. Принимая во внимание опасность развития серьезных побочных эффектов, митоксантрон отнесен к препаратам второй линии терапии рассеянного склероза и может применяться только под контролем функций кроветворения и сердечной деятельности у пациентов, не отвечающих на другую терапию.

Циклоспорин А – мощный иммунодепрессант. К эффектам циклоспорина относят угнетение синтеза Т-клеточных цитокинов (интерлейкина-2, интерлейкина-3, интерлейкина-4, фактора некроза опухоли), подавление экспрессии рецепторов к интерлейкину-2 на Т-лимфоцитах, хемотаксиса мононуклеарных фагоцитов, экспресcии антигенов главного комплекса гистосовместимости 2 класса на мембранах антиген-презентирующих клеток. В ряде исследований было доказано достоверное замедление развития заболевания у больных с прогрессирующим РС [3]. Однако наличие выраженных побочных эффектов (нефротоксичность, повышение артериального давления, желудочно-кишечные расстройства, аменорея, энцефалопатия, развитие инфекций) ограничивают массовое применение препарата при РС.

Циклофосфамид – препарат, обладающий мощным цитостатическим и иммуносупрессивным действием. Алкилирующие метаболиты, образующиеся в печени путем биотрансформации, атакуют нуклеофильные центры белковых молекул, образуют поперечные сшивки между нитями ДНК и блокируютделение клеток. Иммунодепрессивное действие проявляется в подавлении пролиферации лимфоцитов. Наличие серьезных побочных эффектов значительно ограничивают возможность применения препарата. К ним относятся анемия, лейкопения, миело- и лимфопролиферативные заболевания, аменорея, геморрагические циститы, повышение риска развития рака мочевого пузыря, желудочно-кишечные нарушения, грибковые заболевания [3].

Препараты внутривенных иммуноглобулинов (ВВИГ) представляют собой смесь антител, полученных из плазмы крови минимум 20000 доноров. Механизмы действия ВВИГ при РС не до конца изучены. Предположительно эффекты ВВИГ основаны на способности подавлять систему комплемента, тормозить продукцию провоспалительных и стимулировать выработку противовоспалительных цитокинов моноцитами и макрофагами, блокировать аутоантитела, а также тормозить их продукцию [2]. Побочные эффекты терапии ВВИГ минимальны, так как данный препарат представляет собой биологический компонент крови. Фактором, лимитирующим применение ВВИГ, является их дороговизна, обусловленная сложным процессом производства.

В настоящее время разрабатывается множество новых экспериментальных подходов к лечению РС. Так например применение метода трансплантации эмбриональной нервной ткани способствует нормализации иммунологических показателей больных с нейродегенеративными заболеваниями, в том числе и с РС [2]. Активно исследуется возможность применения препаратов, воздействующих на цитокиновый статус и молекулы адгезии. Эффективность в клинических испытаниях показал препарат Antegren, представляющий рекомбинантные гуманизированные моноклональные антитела к молекуле адгезии альфа-4-бета интегрину. Препарат предотвращает миграцию лимфоцитов в ткани, при этом системно снижается выраженность воспалительных процессов, в том числе и в очагах демиелинизации при РС [2]. Также ведутся исследования в области геннотерапии, в частности создание и использование ростовых нейротрофических факторов, способствующих регенерации нервной ткани[2].

Таким образом, нерешенные проблемы РС подтверждают медицинскую и социальную значимость его изучения. В исследовании нуждаются важные аспекты этиологии и патогенеза РС, механизмы действия отдельных лекарственных средств при РС и методики их применения. Отсутствие препаратов, способных полностью остановить развитие РС, предполагает ведение современных научных исследований в двух основных направлениях. Во-первых, поиск принципиально новых подходов к лечению РС, а во вторых, разработка более соврешенных методик применения уже доказавших свою эффективность ПИТРС.

**Литература**

1. Бойко, А.Н. Бета-интерфероны при рассеянном склерозе / А.Н. Бойко, Е.И. Гусев // Журнал неврологии и психиатрии. Спец. Выпуск. - 2002. - С. 65-71.
2. Гусев, Е.И. Рассеянный склероз: клиническое руководство / Е.И. Гусев, И.А. Завалишина, А.Н. Бойко - М.: Реал Тайм, 2011. - 528 с. - илл.
3. Столяров, И.Д. Рассеянный склероз: диагностика, лечение, специалисты / И.Д. Столяров, А.Н. Бойко - СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2008. - 320 с.
4. Столяров, И.Д. Патогенетическое лечение рассеянного склероза: настоящее и будущее / И.Д. Столяров, Т.В. Сидоренко // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2009. - 109(7). - Вып.2. - С. 90-99.
5. Столяров, И.Д. Современные методы диагностики и лечения рассеянного склероза // Вестник Росздравнадзора. - 2010. - №4. - С. 64-67.
6. Тотолян, Н.А. Рассеянный склероз: диагностика и лечение с позиции доказательной медицины // Мир медицины. - 2000. - 5-6. - С. 34-37.
7. Ульянова, О.В. Комплексное лечение больных с рассеянным склерозом в условиях многопрофильного городского стационара / О.В. Ульянова, В.А. Кушатов // Вестник КазНМУ. - 2016. - №2. - С. 339-341.
8. Ульянова, О.В. Рассеянный склероз - актуальная неврологическая проблема XXI века / О.В. Ульянова, В.А. Куташов, Т.И. Дутова // Молодой ученый. - 2015. - №15(119). - С. 558-567.
9. Buttmann, M. Interferon-β1b in multiple sclerosis / M. Buttmann, P. Rieckmann // Expert Review of Neurotherapeutics. - 2007. - V.7. - №3. - Р. 227-239*.*

**ФОТОТОКСИЧЕСКИЕ БЕЛКИ КАК СРЕДСТВО БОРЬБЫ С РАКОМ**

*Филиппова А. И.*

*Научный руководитель: к.б.н., доцент Л.В. Голинская*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

«Прогресс науки определяется трудами ее ученых и ценностью их открытий»

Л. Пастер

Не смотря на громкие заявления консерваторов о том, что человек уже постиг все, что доступно его разуму, каждый день ученые всего мира совершают открытия. Однозначно, некоторые из этих открытий не известны нам, так как в последующем они не проходят испытаний или не имеют финансовой поддержки, некоторые могут облегчить нашу повседневную жизнь и обладают массой достоинств, о существовании других мы можем только догадываться. Огромное значение имеет доля открытий, приходящихся на такие науки как биохимия, микробиология, фармакология и открытий в области медицины в целом. Только они имеют самую великую ценность и значимость - способность спасти человеческую жизнь или как минимум продлить её. Как раз об одном из таких открытий я хочу написать в своей статье.

Онкологический диагноз часто считают приговором или карой за совершенные поступки, хотя подобные восприятия данного заболевания совершенно ошибочны. Ежедневно в организме каждого из нас образуются опухолевые клетки. Они отличаются от нормальных здоровых клеток не только формой, но и способностью к бесконтрольному делению и проникновению в другие ткани. Клетки становятся злокачественными из-за поломок в геноме и последующей мутации ДНК. Некоторые генетические дефекты или перенесенные заболевания могут стать причиной развития рака. Кроме того на частоту мутаций и образование раковых клеток влияет окружающая среда и образ жизни. Употребление алкоголя, курение, ожирение, нарушение гормональной функции так же являются факторами для развития данного заболевания.

К сожалению, рак может развиться у любого человека. По статистике более 65% раковых клеток выявляются у людей старше 64 лет. Именно поэтому на сегодняшний день онкология - одно из наиболее бурно развивающихся направлений медицины. За последние годы появилось много препаратов и методик, которые помогают эффективно лечить рак, продлевать жизнь больных или улучшать качество жизни. Одной из таких методик является использование фототоксических белков.

Открытие фототоксических (флуоресцентных) белков связано с именем знаменитого японо-американского ученого Осамой Симомурой, который в 1960 году переехал из Японии в Пристонский университет и начал изучать механизм свечения двух флуоресцентных белков, выделенных из биолюминисцентной медузы *Aequorea victoria*. Как оказалось в *A. Victoria* взаимодействие ионов кальция с экворином вызывает синее свечение белка, которое далее переносится на зеленый флуоресцентный белок GFP и вызывает преимущественно зеленое свечение медузы. За данное открытие в 2008 году О. Симамомура получил Нобелевскую премию. Применение зеленого флуоресцентного белка в молекулярной биологии началось лишь в 1990-х годах, когда стало известно, что этот белок может принимать нативную конформацию и образовывать флуорофор при комнатной температуре без добавления дополнительных кофакторов, что обеспечило его применение в качестве маркера в клетках многих организмов.

Именно на основе зеленого флуоресцентного белка ученым из лаборатории молекулярных технологий Института биоорганической химии в Москве удалось разработать фототоксический флуоресцентный белок Killer Red. Он обладает красным свечением и при воздействии на него зеленого цвета начинает проявлять свои токсические свойства – выделять перекись водорода и повреждать находящиеся рядом клетки. Благодаря этому уникальному свойству, ученые получили возможность использовать этот белок для медицинских целей, а так же для научных исследований при изучении внутриклеточных сигнальных путей с участием активных форм кислорода.

У полученного позднее флуоресцентного белка mini SOG совсем другое происхождение. Его извлекли из домена рецептора растений, отвечающего за восприятие синего спектра, с использованием методов генной инженерии. В его составе присутствует молекула флавинмононуклеотид, имеющая небелковое происхождение и представляющая собой кофактор группы ферментов, ускоряющих реакции окисления-восстановления. Если на mini SOG воздействовать излучением синего спектра, этот белок продуцирует синглетный кислород, отличающийся очень высокой токсичностью. Это свойство данного белка возможно использовать для лечения рака с помощью фотодинамической терапии, то есть способом, где массовая гибель злокачественных клеток обеспечивается применением комбинации фотосенсибилизаторов и светового облучения видимого спектра.

Таким образом, весьма перспективной задачей представляется изучение характера и эффективности воздействия mini SOG на жизнестойкость клеток разных органелл. Сейчас ведутся исследования клеток с белком mini SOG, присутствующим в ядре, митохондриях, а также, в мембране. Установлено, что клетки с этим белком гибнут при облучении их синим цветом. Самая высокая вероятность смерти клетки (приблизительно 90%) наблюдается, когда mini SOG присутствует в её мембране. Различается и механизм гибели клеток, в зависимости от того в какой именно из них присутствует mini SOG. К примеру, если он расположен в ядре и митохондриях, причиной гибели клетки становится апоптоз.

Присутствие в клетке mini SOG становится причиной весьма серьезных нарушений. Доказано, что после воздействия излучения синего спектра на клетки, в ядре которых присутствует mini SOG, запускается процесс сборки комплексов восстановления ДНК-структуры при участии белка XRCC1, одной из важнейших составляющих репарации ДНК. Если белка mini SOG в клетке нет, то эти комплексы в клетке не образуются (ни после воздействия облучения, ни без него).

Можно утверждать, что именно наличие в клетках mini SOG оказывается причиной их гибели под воздействием облучения светом видимого спектра. Присутствие данного белка вырабатывает у клеток «светобоязнь», то есть уязвимость к облучению видимым светом, который обычно не опасен ни для клеток, ни для состоящих из них органов или организмов. Это свойство позволяет эффективно применять mini SOG в качестве молекулярного биологического инструмента для медицинских и генно-инженерных исследований.

Вполне естественен интерес и к перспективам использования mini SOG для лечения онкологических заболеваний методом фотодинамической терапии. Особенно, учитывая ряд недостатков химических фотосенсибилизаторов, используемых сейчас. Важно, что эти фотосенсибилизаторы нельзя ввести исключительно в злокачественные клетки, они расходятся по всему организму больного, хотя согласно проведенным исследованиям, в наибольших концентрациях накапливаются именно в раковых опухолях. Однако и сравнительно небольшая концентрация фотосенсибилизаторов в здоровых клетках организма больного вызывает ряд негативных эффектов. Таким больным противопоказано продолжительное пребывание на солнце (и даже в хорошо освещенном месте (в том числе помещении), которое приносит им вред и сопровождается болевыми ощущениями. К тому же, химические фотосенсибилизаторы накапливаются в разных клеточных органеллах, что сильно затрудняет прогнозирование механизма гибели клеток, а гибель клеток в результате некроза сопровождается воспалительными реакциями, усугубляющими и без того тяжелое состояние пациента.

Эти проблемы можно решить внедрением в медицинскую практику генетически нацеленных фотосенсибилизаторов вроде mini SOG или/и Killer Red. Если к последовательности гена фототоксичного белка «привязать» последовательность, указывающую на определенную органеллу, то именно в ней и станет накапливаться данный фотосенсибилизатор. Такой метод позволит осуществлять надежный контроль распространения фотосенсибилизатора в клетке.

Другая важнейшая задача заключается в обеспечении внедрения фототоксичного белка именно в злокачественные клетки и никуда более. Сейчас её можно решить путем применения вирусных частиц адресной доставки. Суть этой методики такова: прежде всего, применяются вирусные частицы с удаленной (весьма существенной) частью их генома, чем обеспечивается отсутствие у них способности размножаться. Этим гарантируется безопасность применения вирусных препаратов. Далее в вирусную частицу вводится ген фотосенсибилизатора. Таким образом, обеспечивается свойство фототоксичности. Кроме того, поверхность вирусных частиц снабжается молекулами антител к антигенам, которые имеются на мембране исключительно злокачественных клеток. Это позволяет гарантировать адресность доставки фототоксического белка.

Но реализация данного метода требует преодоления определенных сложностей и проведения ряда дополнительных исследований. Так, сейчас далеко не для всех форм онкологий установлены специфические антигены, которые бывает достаточно сложно обнаружить. Ведь антигенная структура злокачественных клеток может отличаться большим разнообразием, либо не иметь отличий от доброкачественных клеток. Сейчас установлено, что на поверхности мембраны клеток некоторых форм рака (например, молочной железы) обязательно присутствует молекула HER2 (human epidermal growth factor receptor 2). При раке щитовидной железы образуются злокачественные клетки с рецепторами фактора роста сосудистого эндотелия, а при метастазирующей меланоме, образуются раковые клетки с непрерывно активной мутантной формой серин/треониновой киназы BRAF. Уже полученные сведения об антигенах раковых клеток позволяют разрабатывать способы адресной доставки к злокачественным клеткам липосом и капсул с цитотоксичными препаратами. Однако эта доставка недостаточно эффективна и требует многократных повторений. Возможно, эту проблему можно решить внедрением фотосенсибилизаторов с генетическим кодированием, доставляемых в злокачественные клетки посредством направляемых вирусных частиц.

Всё перечисленное позволяет считать комбинацию вирусных частиц адресной доставки и генетически кодируемые фототоксичные белки весьма перспективным направлением для онкологической терапии. Но для применения на практике этой методики её предстоит ещё очень тщательно проработать. Тем не менее, доказательство принципиальной возможности данного подхода уже является значительным достижением, поскольку может стать основой для разработки практических методов лечения онкологических заболеваний солнечным светом.

Литература

1. Флуоресцентный белок miniSOG убивает клетки светом // Биомолекула URL: <http://biomolecula.ru/>;
2. Shimomura O. (2009). [Discovery of green fluorescent protein (GFP) (Nobel Lecture)](http://dx.doi.org/10.1002/anie.200902240). Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 48, 5590–5602.
3. Bulina M.E., Chudakov D.M., Britanova O.V., Yanushevich Y.G., Staroverov D.B., Chepurnykh T.V., Merzlyak E.M., Shkrob M.A., Lukyanov S.A., Lukyanov K.A. (2006). [A genetically encoded photosensitizer](http://dx.doi.org/10.1038/nbt1175). Nat. Biotechnol. 24, 95–99;
4. Фотосенсибилизатор KillerRed // Евроген: <http://evrogen.ru/products/KillerRed/KillerRed.shtml>;
5. Bioluminescence and other factoids about Aequorea, a hydromedusa //: http://faculty.washington.edu/cemills/Aequorea.html;

**ФИТОСОМЫ – НОВАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ**

*Дубовенко Ю. И., Филипко А. С.*

*Научный руководитель: к.б.н., доцент Лебедева Е.Н.,*

*к.б.н, доцент Вечер Н.Н.*

*Кафедра биологической химии*

*Кафедра основы агрономии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

*Белорусский государственный аграрно-технический университет*

Новая система доставки лекарств стремится доставить лекарство со скоростью , направленной на потребности тела в течение периода лечения, и канал активного субъекта к месту действия. Целый ряд новых систем доставки лекарственных средств охватывают различные пути введения, для достижения контролируемой и адресной доставки лекарств с помощью инкапсулирования препарата в системный кровоток, что снижает тонус и избирательное поглощение препарата. Следовательно, был разработан ряд систем везикулярного доставки лекарственных средств , таких как липосомы, ниосом, трансферсом и фармакосом. Прогресс с тех пор произошел в области везикулярного доставки лекарственных средств, что привело к разработке систем, позволяющих замедленное или контролируемое высвобождение лекарств [1].

Использование технологии приготовления препаратов для доставки продуктов из растительного сырья и лекарственных средств за счет улучшения всасывания, как следствие, дают лучшие результаты, чем полученные с помощью обычных растительных экстрактов. Фитосомы не схожи с липосомами; конструктивно они совершенно разные. Фитосома представляет собой блок из нескольких молекул, соединенных вместе, в то время как липосома представляет собой совокупность многих молекул фосфолипидов и охватывает другие фито-активные молекулы, но без специального соединения с ними [3]. Фитосомная технология является прорывом как модель для заметного увеличения биодоступности, значительно большей клинической пользы, гарантированной доставки к тканям, не ставя под угрозу безопасность питательных веществ [4].

Термин «фито» означает растение в то время как «сома» означает клеточноподобное. Фитосома везикулярная система доставки лекарственного средства, в которой фитокомпонент экстракта травы окружают и связанны с липидами (одна молекула фито-компонент связан с по меньшей мере одной молекулы фосфолипидов). Фитосома защищает ценный компонент растительного экстракта от разрушения пищеварительными ферментами и кишечными бактериями, и из-за чего они показывают лучшее поглощение, которое дает лучшую биологическую доступность и улучшенные фармакологические и фармакокинетические параметры по сравнению с обычным экстрактом лекарственных растений.

Фитосомы являются продвинутой формой экстракта лекарственных растений, которые поглощаются лучше, чем обычные экстракты лекарственных растений. Методология создания фитосом проста и может быть легко модернизирована до промышленного масштаба. Они представляют собой новые комплексы, показывающие гораздо лучший профиль абсорбции после перорального введения благодаря улучшенной растворимости в липидах, что позволяет им пересекать биологическую мембрану, что приводит к повышению биодоступности т.е. большее количество активного начала в системный кровоток. Также фитосомы превосходят липосомы из-за гораздо лучшего поглощения и устойчивости. После скрининга и отбора растительных экстрактов, можно разработать системы доставки фитосомами различных категорий лекарственных средств, обладающих противоопухолевой, сердечно-сосудистой и противовоспалительной активностью и др.

Литература

1.Battacharya S (2009) Phytosome: Emerging strategy in delivery of herbal drugs and nutraceuticals. PharmTimes 41: 3.

2.Chauhan NS, Gowtham R, Gopalkrishna B (2009) Phytosome: Apotential

phyto-phospholipid carriers for herbal drug delivery. J. Pharm Res 2: 1267-1270. 3.Pawar HA, Bhangale BD (2015) Phytosome as a Novel Biomedicine: A Microencapsulated Drug Delivery System. J Bioanal Biomed 7: 006-012

**ГЕМАТО-ЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР (ГЭБ) И**

**ЕГО ПАТОЛОГИИ ПРИ ЭПИЛЕПСИИ**

*Иштокина А.А.*

*Научный руководитель: к.ф.-м.н. Климов А.В.*

*Кафедра биофизики и математики*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

ГЭБ - физиологический барьер между кровеносной и центральной нервной системами.

Эволюционно данная структура сформировалась вследствие увеличения объемов головного мозга и появившейся потребности улучшения процессов метаболизма в данном органе. Но это понятие включает не только получение веществ извне, но и удаление вредных продуктов обмена, что означает контроль транспорта в направлении и «мозг - кровь», и «кровь – мозг».

Из этого можно сделать вывод, что появление данной структуры было невозможным без последовательного усовершенствования строения кровеносных сосудов, которое началось еще во времена господства беспозвоночных, еще не имевших сплошной выстилки эндотелия капилляров [1].

Патогенные факторы, вызывающие повреждение ЦНС, делятся условно на первичные экзогенные (химические, физические агенты внешней среды) и эндогенные (изменение гомеостаза, поражение ЦНС при диабете, опухоли, воспалительные процессы, эпилепсии и др.). Кроме того, существует группа вторичных эндогенных факторов, которые возникают в самой НС в ходе патологического процесса (апоптоз, нарушение секреции медиаторов и др.) [2,3].

Среди многих вариантов патогенеза можно выделить ряд основных характерных для всех нарушений. Этот принцип заключается в том, что вне зависимости от причины развития патологического процесса дальнейший ход патологической физиологии будет осуществляться по одному и тому же принципу – эндогенизация. В связи с этим, выделяют основные механизмы повреждения гематоэнцефалического барьера:

1. Расхождение плотных контактов между эндотелиоцитами (нарушение парацеллюлярных транспортных механизмов). Характеризуется отеком и набуханием отростков астроцитов.

2. Повреждение мембранных структур астроцитов и эндотелиоцитов впоследствии воздействия и экзо-, и эндогенных токсинов (нарушение трансмембранных транспортных механизмов).

3. Травматическое повреждение ГЭБ с физическим разрушением всех структур, образующих барьер.

Эпилепсия **–** стойкое церебральное расстройство с хорошо изученной этиологией, при которой отмечают повышенную вероятность развития эпилептического припадка в будущем и связанные с этим нейробиологические, когнитивные, психические и социальные проблемы.

Это неврологическое заболевание имеет различную этиологию. Причиной эпилепсии может стать как черепно-мозговая травма, так и генетическая предрасположенность, однако все они имеют один и тот же механизм, обусловленный транспортом веществ, который и регистрируется в суммарном виде на ЭЭГ. Именно перенос необходимых элементов и регулирует ГЭБ.

Логично то, что каждой этиологии соответствует определенное влияние на барьер и, конечно же, собственный путь нарушения его работы. Далее мы рассмотрим некоторые варианты эпилепсии с ракурса ГЭБ.

«Прорывом» характеризуется барьер при эпилептическом припадке в связи с воспалительным заболеванием ЦНС. Это происходит вследствие влияния воспалительных медиаторов на проницаемость. Мишенью становятся плотные контакты эндотелиоцитов, которые распадаются под действием нейроспецифических протеинов. Сейчас ученые выявили поэтапное разрушение специальных белков, начиная с ZO-1 и заканчивая окклюдином.

Совершенно другой путь повреждения ГЭБ при эпилепсии в результате ЧМТ. Физическое поражение становится причиной нарушения работы барьера из-за белков MMM-9, AQP4. В первое время после поражения продолжаются внутричерепные кровоизлияния, что приводит к воспалительному процессу и продолжению нанесению ущерба. Деятельность микрофагов и параллельных патологических процессов приводит к высвобождению свободных радикалов и протеаз. В вентрикулярной спинномозговой жидкости повышается уровень MMM-3 и MMM-9, что как раз способствует открытию ГЭБ.

Литература

1. P. Ehrlich. Das Sauerstoff-Bedürfniss des Organismus: Eine Farbenanalytische Studie// August Hirschwald, Berlin (die Habilitationsschrift von Paul Ehrlich).— 1885.
2. W. A. Banks. From blood-brain barrier to blood-brain interface: new opportunities for CNS drug delivery//— 2016.—Vol. 15, no. 4.—P. 275-292.
3. Блинов Д. В. Современные представления о роли нарушения резистентности гематоэнцефалического барьера в патогенезе ЦНС. Часть 2: повреждения гематоэнцефалического барьера // Эпилепсия и пароксизмальные состояния – 2014 – Том 6 № 1

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТАННИНОВ КРОВОХЛЕБКИ В КОМПЛЕКСЕ С 5-ФТОРУРАЦИЛОМ В ЛЕЧЕНИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

*Телекулова А. М.*

*Научные руководители: д.б.н., профессор Михайлова И.В.,*

*ст.преп. Кузьмичева Н.А.*

*Кафедра химии и фармацевтической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Одним из распространенных растений на Южном Урале является растение семейства Розоцветные (Rosaceae) - кровохлебка лекарственная (Sanguisorba officinalis, L.). Она произрастает на разреженных лесах, на суходольных лугах, среди кустарников, по берегам рек и озер и на остепненных склонах холмов. Встречается кровохлебка лекарственная почти по всей Оренбургской области, образуя небольшие заросли [5].

Главной группой биологически активных веществ кровохлебки лекарственной являются дубильные вещества (ДВ), количественно составляющие до 17% и обуславливающие вяжущее, противомикробное и кровоостанавливающее действие галеновых препаратов на её основе. Галловая кислота (ГК) и эллаговая кислота (ЭК) являются представителями гидролизуемых танинов, в то время как катехиновая кислота (КК) является одним из олигомерных процианидинов.

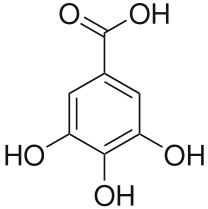
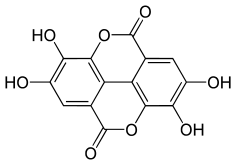
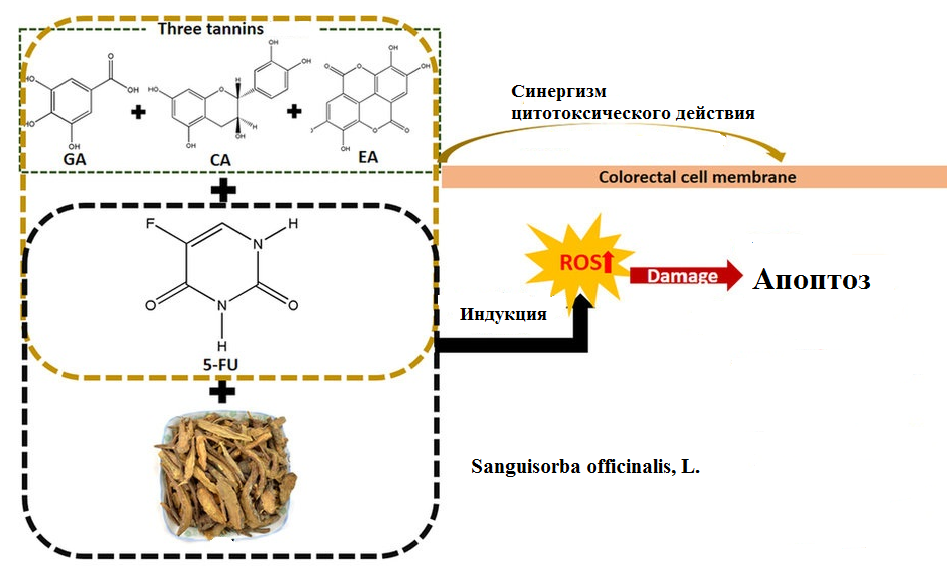
 12

Рис.1. Строение основных дубильных веществ кровохлебки лекарственной: 1- галлолвая кислота, 2- эллаговая кислота

Кровохлебка лекарственная Sanguisorba officinalis L. широко используется в медицине, имеет широкий спектр биологической активности, в том числе антиканцерогенный, противовоспалительный и антиоксидантный деятельности. В Азии и Китае корень кровохлёбки называется большим корнем кровохлебки и традиционно используется в качестве противовоспалительного, антиоксидантного и кроветворного средства. В последнее время показано, что большой корень может применяться как антиканцерогенное средство, так как имеет анти-пролиферативный эффект при раке молочной железы, раке полости рта и раке простаты. Биоактивные компоненты растения-это дубильные вещества  и сапонины.   Галловая и эллаговая кислоты являются основными составляющими корней кровохлебки, обладающими антипролиферативным действием путем активации апоптоза в клетках при раке молочной железы.

При других раковых заболеваниях это лекарственное растение не использовалось.

Однако в последнее время были получены данные о возможном использовании фитохимических компонентов Sanguisorba officinalis L. при таком заболевании, как колоректальный рак. ****

Колоректальный рак остается серьезной угрозой для здоровья человека и определяет около трети случаев смерти от рака во всем мире (1) . Несмотря на значительные успехи в терапии 5-летняя выживаемость больных составляет менее 12,5%. Приобретенная резистентность к лекарственным средствам рассматривается в качестве одной из основных причин 90% неудач терапии этого вида рака (2) . Основным препаратом химиотерапии колоректального рака является 5-фторурацил (5-ФУ), который способствует клеточной гибели путем ингибирования РНК- или ДНК-синтетаз. Однако эффективность 5-ФУ снижается за счет приобретаемой лекарственной устойчивости.

Для того, чтобы повысить чувствительность раковых клеток к цитотоксическим эффектам 5-ФУ, нужны препараты, которые индуцируют апоптоз. Исследование показало (1) ,что водный экстракт кровохлебки оказывал антипролиферативный эффект в отношении двух клеточных линий НСТ-116 и РКО при 5-ФУ терапии путем активации активных форм кислорода (ROS) -опосредованного, каспаз-зависимого пути апоптоза.   Кроме того, в индукцию аутофагии может быть вовлечен в опосредованный синергизм в клетках HCT-116 галловой кислоты, катехиновой кислоты и эллаговой кислоты, которые были определены в качестве потенциальных главных составляющих, ответственных за синергетические эффекты корней кровохлебки.

Литература

1. Liu, M. P. *et al.* *Sanguisorba officinalis* L synergistically enhanced 5-fluorouracil cytotoxicity in colorectal cancer cells by promoting a reactive oxygen species-mediated, mitochondria-caspase-dependent apoptotic pathway. *Sci. Rep.* **6**, 34245; doi: 10.1038/srep34245 (2016).
2. Liu X, Cui Y, Yu Q and Yu B: Triterpenoids from Sanguisorba officinalis. Phytochemistry. 66:1671–1679. 2005.
3. Mimaki, Y. *et al.* Triterpene glycosides from the roots of Sanguisorba officinalis. *Phytochemistry* **57**, 773–779 (2001).

**ПОЛИМОРФИЗМЫ ЦИТОХРОМА Р450**

*Хаустова Е. А.*

*Научный руководитель: к.б.н., доцент Е.Н. Лебедева*

*Кафедра биологической химии*

*Оренбургский государственный медицинский университет*

Концепция персонализации распространяется на фармацевтические препараты, которые считались универсальными средствами лечения конкретных болезней. Но со временем стало ясно, что реакции пациентов с одной и той же болезнью на одно и то же лекарство различаются в зависимости от генотипа больного и других факторов, так что возможны значительные колебания в эффективности и безопасности препарата, применяемого для лечения определенного заболевания. Это связано с различными факторами, но главным среди них являются особенности функционирования системы цитохрома Р450, которая играет важную роль в поддержании химического гомеостаза при физиологических и патологических состояниях внутренней среды организма.

Первое упоминание об универсальной гем содержащей монооксигеназе, цитохроме Р450, было еще в конце 50-х годов. Авторами этого открытия стали М.Клингерберг и Д.Гарфинкель, которые установили, что данный фермент по химической природе простетических групп может быть отнесен к цитохромам. Основной функцией цитохромов является перенос электронов, а не катализ монооксигеназных реакций [1].

На сегодняшний день известно более 150 видов Р450, которые были обнаружены у животных, растений, грибов, а также бактерий. Высокая концентрация цитохромов была обнаружена в носу, где при расщеплении аминов, появляется запах. Но все же именно печеночные микросомальные цитохромы Р450 играют важную роль в определении интенсивности и времени действия чужеродных соединений, а также в детоксикации ксенобиотиков и активации их до токсичных и канцерогенных метаболитов. Цитохромы Р-450 участвуют не только в метаболизме лекарств, но и в превращении гемоглобина в билирубин, синтезе стероидов и др.

Белок цитохрома Р450 синтезируется на рибосомах шероховатых мембран эндоплазматического ретикулума гепатоцитов. Главным ферментом синтеза гема цитохрома Р450 является синтетаза-ơ-аминолевулиновой кислоты. Катаболизм Р450 начинается с ферментативного превращения его в неактивную форму-цитохром Р420 [2].

Р450 играют важную роль в окислении большого количества соединений таких как эндогенные (стероиды, желчные кислоты, простагландины, биогенные амины) и экзогенные (лекарства, яды, пестициды, канцерогены, мутагены и т.д).

Цитохром Р450 представляет собой семейство изоферментов. В свою очередь каждый изофермент может катализировать метаболизм нескольких лекарственных соединений, которые будут подходить ему по структуре, тем самым создадут основу для взаимодействия лекарств, одновременно поступающих в организм. Р450 является важным компонентом микросомальной монооксигеназной системы, который ответственен за активацию молекул кислорода и за связывание субстрата, таким образом как бы подготавливая этот субстрат для атаки активированным кислородом. Цитохром использует кислород для окисления субстрата и образования воды. Другим важным компонентом микросомальной системы является НАДФН-цитохром Р450-редуктаза, которая служит переносчиком электронов с восстановленного НАДФНН на цитохром. Этот фермент способен переносить электроны не только на цитохром Р450, но и на другой акцептор, например, цитохром С, цитохром В5.

Известно, что более 80% имеющихся в продаже лекарственных препаратов метаболизируются ферментной системой CYP450 и более 60% из них изоформами CYP3A4 и CYP2C19 (S-мефенитоин гидроксилазой). В 1994 г. De Marais et al. впервые изучили полиморфизм цитохрома Р450 на гене, кодирующем структуру фермента CYP2C19. При изучении метаболизма и клинической эффективности противосудорожного препарата S-мефенитоина было установлено, что эти показатели прямо зависят от полиморфизма гена CYP2C19, выражающемся в том, что вследствие мутации и замены всего одного нуклеотида в 5-м экзоне гена CYP2C19 при синтезе гидроксилазы CYP2C19 она становится короче на 20 аминокислот и, следовательно, функционально неактивной.

Генетический полиморфизм определяет три главных фенотипа метаболизаторов (лиц, принимающих лекарства): экстенсивные, медленные и быстрые. Экстенсивные метаболизаторы — индивиды с нормальной скоростью метаболизма рассматриваемых лекарственных средств. К этой группе принадлежит большинство населения. Они являются чаще всего гомозиготами по «дикому» аллелю соответствующего фермента.

Медленные метаболизаторы (иногда — нулевые) характеризуются сниженной скоростью метаболизма рассматриваемого лекарственного средства. С генетической точки зрения они являются гомозиготами (при аутосомно-рецессивном типе наследования) или гетерозиготами (при аутосомно-доминантном типе наследования) по мутантному («медленному») аллелю соответствующего фермента. У таких лиц синтез фермента отсутствует или синтезируется неактивный («дефектный») фермент, в  
результате чего лекарственное средство накапливается  
в высоких концентрациях, что и приводит к появлению  
нежелательных побочных реакций. Отсюда ясно, что для  
медленных метаболизаторов доза лекарства должна быть меньшей или назначают другое лекарство. Быстрые (или сверхактивные) метаболизаторы характеризуются повышенной скоростью метаболизма определенных лекарств. В основном, это гомозиготы (при аутосомно-рецессивном типе наследования) или гетерозиготы (при аутосомно-доминантном типе наследования) по «быстрому» аллелю соответствующего фермента. Достаточно часто встречаются индивиды с копиями функциональных аллелей, что также приводит к повышенному метаболизму лекарства. Быстрый метаболизм лекарства не позволяет при стандартных дозах достичь его терапевтической концентрации в крови, поэтому доза лекарства для быстрых метаболизаторов должна быть выше, чем для нормальных метаболизаторов. В последнее время, в литературе все чаще встречается понятие «персонализированная медицина». Она представляет собой интегральную медицину, включающую разработку персонализированных средств лечения на основе геномики, тестирование на предрасположенность к болезням, профилактику, объединение диагностики с   
лечением и мониторинг лечения.

Цель персонализированной медицины состоит в том, чтобы найти подходящее лекарство для конкретного больного и в некоторых случаях даже разработать схему лечения больного в соответствии с его генотипом.

По данным многих авторов на активность системы цитохромов Р-450 оказывает влияние множество факторов — курение, алкоголь, возраст, наследственность, питание, наличие сопутствующих заболеваний.

Однако главенствующая роль в ферментативной активности принадлежит полиморфизму CYP450.

Литература

1. Black S.D., Coon M.J. Comparative structures of P-450 cytochromes // Cytochrome P-450. Structure, mechanism, biochemistry / Ed. P.R.Ortiz de Montellano - N.Y.:Plenum Press, 1986. - P. 29-76.

**СОДЕРЖАНИЕ**

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА – ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА: БУДУЩЕЕ РОЖДАЕТСЯ СЕГОДНЯ**  *Овчинникова Т.А .*  *Научный руководитель: к.б.н., доцент Е.Н. Лебедева*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 6 |
| **НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ**  *Бикмаева Ю.А., Ахметгареева А.А.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 8 |
| **ИСТОРИЯ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ БИОФИЗИКИ**  *Альшеева З.Т, Анохина А.В.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра Общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 11 |
| **ИСТОРИКО-МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ**  *Султанова Н.М., Шукумова Ж.Б.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра: общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 13 |
| **ИСТОРИЯ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**  *Терехова А.В., Антифеева Е.А.*  *Научный руководитель: д.м.н. профессор Л.И. Каспрук*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 16 |
| **ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕВОЛЮЦИИ В БИОЛОГИИ: ИСТОРИЯ ВОПРОСА**  *Важнова А.С., Иванова К.Г.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 18 |
| **ИЗ ИСТОРИИ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ**  *Мустаева Р.Р., Ярочкин М.М.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 21 |
| **ИСТОРИКО-МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ**  *Даутова Ю.М., Сайфутдинова Н.А.*  *Научный руководитель: проф., д.м.н. Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 23 |
| **ИСТОРИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ В РОССИИ**  *Корнишин Н.В., Мурадов С.Н.*  *Научный руководитель: профессор, д.м.н. Каспрук Л. И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 25 |
| **ИСТОРИЯ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ И ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В ОБЛАСТИ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ**  *Месяц Д.С., Крайкова А.А.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 28 |
| **ОСНОВЫ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОЛИТИКИ В ОБЛАСТИ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ:**  **ИСТОРИЯ ВОПРОСА**  *Щербовских А.И., Ризванова Л.Х.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф.Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 30 |
| **ИСТОРИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ПАЛЕОНТОЛОГИИ**  *Егорова С.С., Максютова А.А.*  *Научный руководитель: проф., д.м.н. Каспрук Л.И.*  *Кафедра Общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 32 |
| **ОБ ИСТОРИИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ**  *Глущенко А.А., Солодкова А.А.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 34 |
| **ИЗ ИСТОРИИ РАЗВИТИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ**  *Жиркова А.А., Генералова Е.Д.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра Общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 37 |
| **ИСТОРИКО-МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ БИОИНФОРМАТИКИ**  *Безбородников В.С., Лондарев М.Е.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра Общественного здоровья и здравоохранения №*1  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 38 |
| **К ВОПРОСУ ОБ ИСТОРИИ ГЕННО-КЛЕТОЧНЫХ БИОИНЖЕНЕРНЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ**  *Банникова Э.Н., Галимова Л.Н.*  *Научный руководитель: д.м.н., профессор Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 40 |
| **СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: К ИСТОРИИ ВОПРОСА**  *Савина П.С, Гираева Э.Ф.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 42 |
| **РАЗВИТИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭНДОКРИНОЛОГИИ**  *Жармухамбетова К.С.*  *Научный руководитель: д.м.н., профессор Каспрук Л. И.*  *КафедраОбщественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 44 |
| **ИСТОРИЯ СТАНОВЛЕНИЯ И ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЕВРОПЕЙСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ**  *Кучкарова А.Р., Резникова Е.А.*  *Научный руководитель: д.м.н., проф. Каспрук Л. И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 47 |
| **МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ ВИРУСНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА. ИСТОРИЯ РОССИЙСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**  *Мищерина Д.А., Насырова Ж.С.*  *Научный руководитель****: д.м.н.,***  *проф. Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 49 |
| **К ВОПРОСУ О РАЗВИТИИ ГЕМОСОРБЦИИ И**  **ТРАНСПЛАНЦИИ В РОССИИ**  *Янгурчина Ю.Г., Янгурчина А.Г.*  *Научный руководитель: д.м.н., профессор Каспрук Л.И.*  *Кафедра общественного здоровья и здравоохранения №1*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 52 |
| **ФЕНОМЕН НЕРАВЕНСТВА: ОПЫТ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОГО АНАЛИЗА**  *Беляева А.И.*  *Научный руководитель: к. полит. н. Вялых В.В.*  *Кафедра философии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 55 |
| **ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**  *Медетова Г. А.*  *Научные руководители: доцент, к.б.н. Шостак Е.И., доцент,*  *к.б.н. Павлова М.М.* *Кафедра химии и фармацевтической химии* *Оренбургский государственный медицинский университет* | 59 |
| **CRISPR-Cas система в лицах**  *Олейник Л.С., Лобжанидзе Д.А.*  *Научный руководитель: к.б.н., ст. преподаватель Л.В. Гирина*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 61 |
| **ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕАЛОГИИ**  *Осаулко Д.Ю.*  *Научный руководитель – к.и.н. доц. Г.Б. Брагиров*  *Кафедра истории Отечества*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 64 |

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА**

|  |  |
| --- | --- |
| **НОВЫЕ ФУНКЦИИ СТАРОЙ МОЛЕКУЛЫ**  *Аметова Э.И.*  *Научный руководитель: к.м.н., доцент Афонина С.Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 66 |
| **СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ: МОЖНО ЛИ ВМЕШИВАТЬСЯ В ГЕНОМ**  *Чурилова А. А., Харатян А. Г.*  *Научный руководитель: к.б.н., ст. преподаватель. Винокурова Н.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 68 |
| **ГЕНЕТИКА АДИПОКИНОВ**  *Кузнецов М.В.*  *Научный руководитель: доцент, к. б. н Лебедева Е.Н*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 69 |
| **ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД - НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ**  *Столяр И.А., Кукебаева А.Ж.*  *Научный руководитель: к.б.н., ст. преподаватель. Винокурова Н.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 72 |
| **МЕТИЛИРОВАНИЕ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ КАК ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР**  *Жарская Е.В.*  *Научный руководитель: асс. Мачнева И.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 74 |
| **ОТ КЛАССИЧЕСКОЙ ГЕНОЦЕНТРИЧЕСКОЙ КОНЦЕПЦИИ**  **К ЭПИГЕНЕТИКЕ**  *Баринова Л. А.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева Е.Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 76 |
| **Искусственный геном как концепция синтетической биологии**  *Калоша М. И., 2 курс.*  *Научный руководитель: к.б.н., Л.В. Гирина*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 79 |
| **Роль микро - РНК в регуляции экспрессии генов**  *Панин И.С., Мананников Д.А., Батоцыренова Е.Г.*  *Кафедра биологической химии*  *Санкт-Петербургский государственный медицинский университет* | 81 |
| **зАЩИТНАЯ РОЛЬ ТЕЛОМЕРАЗНЫХ БЕЛКОВ**  Мулач М. И., Нефедьева А. П.  Научный руководитель: доцент к.б.н. Голинская Л.В.  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 84 |
| **бАКТЕРИАЛЬНЫЕ прионы**  *Иноземцева Е. И., Рагузина А. А.*  *Научный руководитель: доцент к.б.н Голинская Л.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 86 |
| **ФУНКЦИИ ШАПЕРОНА ГИСТОНОВ FACT**  *Жданов Р.Р., Савин С.Д.*  *Научный руководитель: к.б.н., ст. преподаватель Гирина Л.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 88 |
| **РОЛЬ МЕТАГЕНОМИКИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ**  *Жангазиева А.С.,Башбаева И.Б.*  *Научный руководитель: к. м. н., доцент Афонина С. Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 91 |
| **ПРОТЕОМИКА В ИНДИИ: КЛИНИЧЕСКИЙ АСПЕКТ**  *Дипти Сингх*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н. Е.В.Попова*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 92 |
| **Нутригеномика – новая отрасль в науке**  *Филатов Н. Д.*  *Научный руководитель: старший преподаватель, к.б.н., Л.В. Гирина*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 94 |
| **ОКСИГЕНОМИКА**  *Ходченко В. В.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева Е. Н*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 98 |
| **МИНОРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ НУКЛЕИНОВЫХ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ В ДНК И РНК**  *Курмангазиева Ф., Семёнова Т. Научные руководители: к.б.н., доцент Шостак Е.И.;*  *к.б.н, доцент Павлова М.М.* *Кафедра химии и фармацевтической химии* *Оренбургский государственный медицинский университет* | 100 |
| **РЕГУЛИРОВАНИЕ ЭПИГЕНОМА ВИТАМИНОМ С**  *Мамедова Э. И., Хисамутдинова А.Д.*  *Кафедра биологической химии*  *Кафедра медицинской биохимии*  *Научные руководители – к.б.н., доцент Лебедева Е.Н.,*  *к.б.н., Пахалина И.А.*  *Оренбургский государственный медицинский университет*  *Казанский государственный медицинский университет* | 104 |

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ГЕНОМА И ПРОТЕОМА.**

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ГЕНННОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

|  |  |
| --- | --- |
| **ПРИМЕНЕНИЕ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ОФТАЛЬМОЛОГИИ**  *Кузнецова В. И.*  *Научный руководитель: к.б.н., доцент Лебедева*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 108 |
| **ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ**  *Жирова В. Е.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н. Фомина М.В.* *Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии* *Оренбургский государственный медицинский университет* | 110 |
| **ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ**  **В ПРОИЗВОДСТВЕ АНТИБИОТИКОВ**  Клютова А. С.  *Научный руководитель: доцент, к.м.н. Ляшенко И.Э.*  *Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 112 |
| **Использование достижений генной инженерии в сельском хозяйстве**  *Шошина О.В.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Коткова Т.В.*  *Оренбургский государственный аграрный университет* | 114 |
| **НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕННОМОДИФИЦИРОВАННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**  *Шураськин А. А.,*  *Научный руководитель: доцент к.м.н. Фомина М.В.* *Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии* *Оренбургский государственный медицинский университет* | 117 |
| **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВА ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОГО ИНСУЛИНА**  *Бадрутдинова Д. В.*  *Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В., доцент, к.м.н. доцент Жежа В.В.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 119 |
| **СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОМА ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ. СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ**  ***Серова Е. Ю., Фролова Т. И.***  ***Кафедрой химии,***  ***Кафедра ландшафтного строительства***  ***Уральский государственный лесотехнический університет*** | 122 |
| **Механизм обратной транскрипции в работе Crispr/Cas-системы**  *Реймер И.А., Адилова А.Х.*  *Научный руководитель: к.б.н., Л.В. Гирина*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 130 |
| **«ОБРАТНАЯ» ГЕНЕТИКА**  *Баловнева Е. В.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева.Е.Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 131 |
| **технологии Редактирования генома**  *Федорова А.А.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Голинская Л.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 134 |
| **ГИПОТЕТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ CRISPR/CAS- СИСТЕМЫ**  *Жиркова М. А.*  *Научный руководитель: ассистент Мачнева И.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 136 |
| **ДНК-ДИАГНОСТИКА**  *Васильев Н.А., Тертичный А. А.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Фабарисова Л.Г.*  *Кафедра биологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 139 |

**ГЕНЕТИКА НАСЛЕДСТВЕЕНЫХТ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

|  |  |
| --- | --- |
| **АДРЕНОГЕНИТАЛЬНЫЙ СИНДРОМ, КАК НАСЛЕДСТВЕННАЯ ПАТОЛОГИЯ**  *Хорьякова А.В*  *Научный руководитель: доцент, к. м. н. Попова Е.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 142 |
| **МОНОГЕННЫЕ МИОПАТИИ**  *Деннер В. А.*  *Научный руководитель: к.м.н., Попова Е.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 145 |
| **КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ: АДРЕНОГЕНИТАЛЬНЫЙ**  **СИНДРОМ У ДЕТЕЙ**  *Воронцова А. А., Акопян М. Р.*  *Научный руководитель: д.м.н., профессор Зыкова Л. С*  *Кафедра факультетской педиатрии и эндокринологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 148 |
| **Болезнь Вильсона-Коновалова**  *Воронцова А. А.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н. Рябченко А.Ю.,*  *доцент, к.м.н. Белянин В.В.*  *Кафедра неврологии и медицинской генетики,*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 149 |
| **РОЛЬ ГЕНА FTO В РАЗВИТИИ ПЕРВИЧНОГО ОЖИРЕНИЯ**  *Гречухина Е. И., Гречухина М. И.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н., Лебедева Е. Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 152 |
| **Молекулярные механизмы развития моногенных и полигенных форм артериальной гипертонии**  *Иванова Ю. Ю.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева Е.Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 154 |
| **Методы диагностики моногенной патологии**  *Муллагалеева А. Р., Хорунжая А. А.*  *Руководитель: доцент, к.м.н. Попова Е.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 156 |
| **Синдром ломкой X-хромосомы**  **(синдром Мартина-** **Белл)**  Семенова К. А.  *Научный руководитель: к.б.н. Гирина Л.* *В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 160 |
| **Наследственные заболевания, связанные с нарушением**  **обмена глюкокортикоидов**  Симонова Т.М.  *Научный руководитель: к.б.н., Л.В. Гирина*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 162 |
| **ДИСПЛАЗИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ:**  **ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНАЯ ФОРМА В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ**  *Кажаев М. С.*  *Научный руководитель: к.м.н., доцент**Л.М. Гордиенко*  *Кафедра факультетской педиатрии, эндокринологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 164 |
| **СЕМЕЙНАЯ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЯ, ОБУСЛОВЛЕННАЯ НОВОЙ МУТАЦИЕЙ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ЛПНП**  *Шафикова А. И.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Афонина С. Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 169 |
| **ТИРЕОИДНЫЕ ГОРМОНЫ КАК МАРКЕРЫ ВРОЖДЕННОГО ГИПОТИРЕОЗА**  *Абдуллаев М. Д., Ахмерова Р. И.*  *Научный руководитель: доцент, к.мед.н. Попова Е.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 171 |
| **ПРОЯВЛЕНИЯ ВРОЖДЕННОГО ГИПОТИРЕОЗА В ОБЛАСТИ ЛИЦА И РОТОВОЙ ПОЛОСТИ**  *Ахмерова Р. И., Абдуллаев М. Д.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н. Попова Е.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 174 |
| **Наследственная предрасположенность в развитии**  **сахарного диабета первого типа**  Немцева Е. К.  Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В.,  профессор, д.м.н. Немцева Н.В.  *Кафедра фармакологии*  *Кафедра биологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 176 |
| **РЕЦЕПТОРЫ К ЛИПОПРОТЕИДАМ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ, ИХ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ, КАК ПРИЧИНА РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА.**  *Устинова А. Д., Богданова С. А., Сукманюк Е. О.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лебедева Е.Н*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 180 |
| **МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ САХАРНОГО ДИАБЕТА ВТОРОГО ТИПА**  *Пархета К. А., Шукшин Д. В.*  *Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В.;*  *зав. кафедрой, д.м.н., проф. Кузьмин О.Б.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 183 |
| **НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ СИНТЕЗА**  **СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У ДЕТЕЙ НА ПРИМЕРЕ СИНДРОМА МАРФАНА**  *Баязитова Г. И., Мажарова В. В.*  *Научный руководитель: ст. преподаватель, к.б.н. Гирина Л. В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 185 |
| **НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ФЕНИЛАЛАНИНА**  *Горохов Е. А.*  *Научный руководитель: ст. преподаватель, к.б.н Гирина Л.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский Государственный Медицинский Университет* | 188 |
| **ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЛКОВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ НА ПРИМЕРЕ ВРОЖДЕННЫХ ЭНЗИМОПАТИЙ**  *Медведева Ю.А., Завацкая Е.Г.*  *Научный руководитель: к.б.н., Е.Н. Лебедева*  *Кафедра биохимии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 191 |

**МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ И ЕГО ПАТОЛОГИЯ**

|  |  |
| --- | --- |
| **ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КЛЕТОЧНОГО ВЫЖИВАНИЯ: РОЛЬ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА, МИТОХОНДРИЙ И ПРОТЕАСОМ В ПРОЦЕССАХ АПОПТОЗА И АУТОФАГИИ**  *Астафьев Б.В.1, Тараканова Ю.Е.1, Гатиатулина Е.Р.1,2, Цейликман В.Э.2, Никоноров А.А.1*  *Оренбургский государственный медицинский университет*  *Южно-Уральский государственный медицинский университет* | 193 |
| **ПОВРЕЖДЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА КАК ОСНОВА ВОЗНИКНОВЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**  *Сагандыкова А.К*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н., С. Н. Афонина*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 194 |
| **НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ КАТАБОЛИЗМА ЖИРНЫХ КИСЛОТ У ДЕТЕЙ**  *Хафизова А.Р.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н., С. Н. Афонина*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 197 |
| **МИТОХОНРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ**  *Вахитова Р.Н., Злобина Е.Г.*  *Научный руководитель: к.м.н., доцент Афонина С.Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 201 |

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. ПУТИ КОРРЕКЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Полиморфизм генов как ведущий этиологический фактор ишемических инсультов у детей раннего возраста**  *Гусарова Е. Э.,*  *Научный руководитель: доцент к.м.н. Рябченко А.Ю.,*  *доцент к.м.н. Белянин В.В.* *Кафедра неврологии, медицинской генетики* *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 203 |
| **Подходы к коррекции наследственных заболеваний**  *Нигметзянова К. М.*  *Научный руководитель: доцент Муслимова С.Ю.*  *Башкирский Государственный Медицинский университет* | 204 |
| **Роль генетического полиморфизма *TLR2* (Arg753Gln) у больных пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы**  *Номоконова В. Б.*  *Научный руководитель: м.н.с. Марковский А.В.*  *Читинская государственная медицинская академия*  *НИИ молекулярной медицины, лаборатория молекулярной генетики* | 206 |
| **Лекарственная регуляция активности генов**  *Фаткуллина А. Р.*  *Научный руководитель: доцент к.б.н. Лебедева Е.Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 209 |
| **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ ПСОРИАЗА**  *Бондаренко А.И.*  *Научный руководитель – ст. преподаватель ,к.б.н., Л.В. Гирина*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 212 |
| **ПРИНЦИПЫ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ ПРИ СЕМЕЙНЫХ ГИПЕРЛИПОПРОТЕИНЕМИЯХ**  *Ершова В. Г. 2 курс*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Е.Н. Лебедева*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 214 |
| **МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ**  *Журавлева О. С.,Сафонова А. А.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н., Фабарисова Л.Г.*  *Кафедра биологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 217 |
| **ПРЕИМУЩЕСТВА РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ЛЕЧЕНИИ ГЕМОФИЛИИ**  *Краснова Т. А.*  *Научные руководители: доцент, к.м.н. В.В. Белянин,*  *доцент к.м.н. Н.В. Лазарева*  *Кафедра фармакологии*  *Кафедры пропедевтики внутренних болезней*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 219 |
| **НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ**  *Дорофеева Н. В.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Фабарисова Л.Г.*  *Кафедра биологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 224 |
| **ЭКСПАНСИЯ ТРИНУКЛЕОТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ**  *Кузьменко А. А.*  *Научный руководитель: ассистент Мачнева И.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 229 |
| **ИНСУЛИН-ЗАВИСИМЫЙ САХАРНЫЙ ДИАБЕТ И ВОЗМОЖНОСТИ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ**  *Мамедова Э. И.*  *Научные руководители: профессор, д.м.н. Кузьмин О., доцент, к.м.н. Ландарь Л.Н.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 231 |
| **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В СТОМАТОЛОГИИ**  *Вопиловская К. В., Пацевич Е. С*.  *Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В., доцент, к.м.н Бучнева Н.В.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 234 |
| **ПРИМЕНЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**  *Богданова И. И., Бадрутдинова Д. В.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н. Белянин В.В.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 238 |
| **ПРОТЕОМИКА В ДИАГНОСТИКЕ АКУШЕРСКОЙ ПАТОЛОГИИ**  *Буркутбаева М. М.*  *Научные руководители: д.м.н., проф.Константинова О.Д., к. б.н. Лебедева Е.Н.*  *Кафедра акушерства и гинекологии*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 241 |

**ВОПРОСЫ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Особенности использования E. Coli как биосубстрата в синтезе инсулина и соматотропина**  *Гулина Е. И., Маркова Т. Г.*  *Научный руководитель: к.б.н., доцент Лебедева Е. Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 246 |
| **НАНОПРЕПАРАТЫ В ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**  *Овчинникова Т.А., Пархета К.А.*  *Научные руководители: д.м.н., профессор О.Б. Кузьмин,*  *к.м.н., доцент Л.Н. Ландарь*  *Кафедра биологической химииОренбургский государственный медицинский университет* | 248 |
| **Генная терапия как перспектИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**  *Сидоренко А.А.*  *Научный руководитель: к.б.н. Л.В. Гирина*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 251 |
| **ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ**  *Корнельзен Д. А.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н. Фабарисова Л.Г.*  *Кафедра биологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 255 |
| **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА I ТИПА**  *Редюкова Е. А., Краснова Т. А.*  *Научные руководители: доцент, к.м.н. В.В. Белянин;*  *доцент, к.м.н. Жежа В.В.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 259 |

**ПРИКЛАДНЫЕ ВОПРОСЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Динамика пролиферативной активности в культуре клеток нер-2 в условиях активации и блокады опиатных рецепторов**  *Стоцкая А.Д., Клименко А.Е., Вахта В.В.,*  *Политова А.Д., Сидорова А.А.*  *Научный руководитель: доцент д.м.н. Бойченко П.К.*  *Луганский государственный медицинский университет* | 264 |
| **Роль рецептора EGFR и мутаций гена EGFR в диагностике и терапии немелкоклеточного рака легкого**  *Цветкова Л. А, Раменская Н. П.*  *Научный руководитель: к. б. н., доцент Раменская Н.П.*  *Кафедра биологической химии*  *Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет* | 268 |
| **ДИНАМИКА ГОРМОНОВ ГИПОФИЗАРНО-ТИРЕОИДНОЙ СИСТЕМЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЮНЕ ПРИ ЭКЗАМЕНАЦИОННОМ СТРЕССЕ**  *Бакшеева Е. Г.*  *Научный руководитель: к.м.н., доцент Фефелова Е.В.,*  *к.б.н Максименя М.В.*  *Кафедра химии и биохимии*  *Читинская государственная медицинская академия* | 271 |
| **ДЛИТЕЛЬНЫЕ КОСМИЧЕСКИЕ ПОЛЁТЫ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ**  *Ефременко В. А.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н. Фомина М.В.*  *Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 273 |
| **ДЕНДРИТНЫЕ ПОЛИМЕРЫ: ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ**  *Васильев А. А., Немцева Е. К.*  *Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В.;*  *зав. кафедрой, д.м.н., проф. Кузьмин О.Б.*  *Кафедра фармакологии* | 275 |
| **ФУЛЛЕРЕНЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНАЯ ОТРАСЛЬ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ(обзорная статья)**  *Кутарева А. А.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н. Белянин В.В.;*  *зав. кафедрой, д.м.н. проф. Кузьмин О.Б.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 278 |
| **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ РЕДАКТИРОВАНИЯ CRISPR/CAS9 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ**  *Чепурин В.В.,Горина Е.А.*  *Научный руководитель – к.б.н., Гирина Л.В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 282 |
| **Молекулярные основы нефротического синдрома**  *Мингалев В. А., Савельева А. В.*  *Научные руководители:*  *Профессор, д.м.н. Вялкова А.А.*  *доцент, к.б.н. Лебедева Е.Н.*  *Кафедра факультетской педиатрии, эндокринологии*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 284 |
| **Влияние дефицита фолиевой кислоты**  **на процессы эмбриогенеза**  *Немцева Е. К.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н. Афонина С.Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 286 |
| **Липосомы как средство доставки лекарственных препаратов – перспективноенаправление нанофармакологии**  *Сагандыкова А. К.*  *Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В. В.;*  *заведующий кафедрой, д.м.н. проф. Кузьмин О. Б.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 288 |
| **МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНЫЕ КОНТРАСТНЫЕ СРЕДСТВА: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**  *Шукшин Д. В.*  *Научные руководители: доцент, к.м.н. Белянин В.В.;*  *доцент, к.м.н. Бучнева Н.В.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 292 |
| **ГЕНЫ И ТРАДИЦИИ ПИТАНИЯ**  *Набаева Д. Г., Перехрест Е. А*  *Научный руководитель: ст. преподаватель, к.б.н. Винокурова Н. В.*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 297 |
| **ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ**  **КАК КРИТЕРИЙ ДИАГНОСТИКИ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ**  *Глушихина Е. И.*  *Научный руководитель: доцент, к.б.н., Карнаухова И.В.*  *Кафедра химии и методики преподавания химии*  *Оренбургский государственный педагогический университет* | 300 |
| **ТАРГЕТНАЯ ТЕРАПИЯ КАК ИННОВАЦИОННЫЙ ПОДХОД В ЛЕЧЕНИИ РАКА**  *Колесникова Е. А.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н., Белянин В.В.*  *Кафедра фармакологии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 304 |
| **СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ**  *Пацевич Е. С.*  *Научный руководитель: доцент, к.м.н., Белянин В.В., доцент, к.м.н. Рябченко А.Ю.*  *Кафедра фармакологии*  *Кафедры неврологии и медицинской генетики*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 308 |
| **ФОТОТОКСИЧЕСКИЕ БЕЛКИ КАК СРЕДСТВО БОРЬБЫ С РАКОМ**  *Филиппова А. И.*  *Научный руководитель: к.б.н., доцент Л.В. Голинская*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 313 |
| **ФИТОСОМЫ – НОВАЯ СИСТЕМА ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВ**  *Дубовенко Ю. И., Филипко А. С.*  *Научный руководитель: к.б.н., доцент Лебедева Е.Н.,*  *к.б.н, доцент Вечер Н.Н.*  *Кафедра биологической химии*  *Кафедра основы агрономии*  *Оренбургский государственный медицинский университет*  *Белорусский государственный аграрно-технический университет* | 317 |
| **ГЕМАТО-ЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР (ГЭБ) И**  **ЕГО ПАТОЛОГИИ ПРИ ЭПИЛЕПСИИ**  *Иштокина А.А.*  *Научный руководитель: к.ф.-м.н. Климов А.В.*  *Кафедра биофизики и математики*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 318 |
| **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТАННИНОВ КРОВОХЛЕБКИ В КОМПЛЕКСЕ С 5-ФТОРУРАЦИЛОМ В ЛЕЧЕНИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**  *Телекулова А. М.*  *Научные руководители: д.б.н., профессор Михайлова И.В., ст.преп. Кузьмичева Н.А.*  *Кафедра химии и фармацевтической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 320 |
| **ПОЛИМОРФИЗМЫ ЦИТОХРОМА Р450**  *Хаустова Е. А.*  *Научный руководитель: к.б.н., доцент Е.Н. Лебедева*  *Кафедра биологической химии*  *Оренбургский государственный медицинский университет* | 322 |

