

⁴ Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской Академии Наук, Москва, Россия

Оксид азота (NO) является одним из сильнейших вазодилаторов. Его активный синтез происходит на ранних стадиях раневого ответа, а также при воспалении. Функция NO заключается в локальной вазодилации при повреждении и воспалении, что способствует привлечению, в том числе участвующих в иммунном ответе, клеток и инициации воспаления. NO не имеет рецепторов, напрямую взаимодействуя с растворимой гуанилатциклазой гладкомышечной клетки сосуда, приводя к активации сигнального пути вазодилации. При псориазе выявлено увеличение содержания NO в патологических тканях. Это влияет на постоянное поддержание воспалительного процесса в поражённой коже. Семейство NO-синтаз включает 3 белка: нейрональная, индуцибельная и эндотелиальная NO-синтазы, кодируемые генами *NOS1*, *NOS2* и *NOS3* соответственно. В коже экспрессируются *NOS2* и *NOS3*. Целью нашей работы являлся анализ SNP в генах *NOS2* (rs2779249, с.-1290G>T, 5'-область) и *NOS3* (rs2070744, с.-813C>T, интрон 1) методом ПЦР в реальном времени со специфичными зондами (синтезированы в ООО ДНК-Синтез). В работе использованы образцы ДНК 88 пациентов с псориазом и 349 необследованных доноров в качестве контроля.

Выявленные частоты аллелей и генотипов представлены в таблице.

<i>NOS2</i>	Пациенты	Контроль	<i>NOS3</i>	Пациенты	Контроль
Аллель А	0,330	0,294	Аллель А	0,420	0,450
Аллель С	0,670	0,706	Аллель G	0,580	0,550
Генотип AA	0,091	0,080	Генотип AA	0,000	0,003
Генотип AC	0,477	0,427	Генотип AG	0,841	0,389
Генотип CC	0,432	0,493	Генотип GG	0,159	0,103

Для исследованных SNP не выявлено ассоциаций с заболеваниями ($p > 0,1$ во всех случаях).

При этом нами выявлено значительное отклонение частот генотипов замены в гене *NOS3* от равновесия Харди—Вайнберга: пациенты — 46,32 ($p = 0$), контрольная группа — 225,86 ($p = 0$).

Таким образом, нами не выявлено связи исследованных замен с псориазом, что свидетельствует об отсутствии их роли в патогенезе данного заболевания.

Результаты аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (АТГСК) у пациентов с множественной миеломой (ММ) моложе 65 лет в зависимости от риск-стратификации по модифицированным шкалам mSMART 1.0 и mSMART 2.0

Гарифуллин А.Д.¹, Мартынкевич И.С.¹, Волошин С.В.¹, Мартыненко Л.С.¹, Кувшинов А.Ю.¹, Стельмашенко Л.В.¹, Клеина Е.В.¹, Салогуб Г.Н.², Карягина Е.Л.³, Шмидт А.В.¹, Кузьева А.А.¹, Бессмельцев С.С.¹, Абдулкадыров К.М.¹

¹ ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ Городская больница №15, Санкт-Петербург, Российская Федерация

У 70% больных ММ выявляются хромосомные aberrации, часть из которых имеет прогностическое значение, что позволяет стратифицировать больных в отдельные группы риска и подбирать

оптимальную стратегию лечения. Одним из методов эффективной терапии у больных ММ моложе 65 лет является АТГСК.

Цель — сравнить общую выживаемость больных ММ моложе 65 лет с и без АТГСК согласно модифицированной риск-стратификации.

Ретроспективно проанализирован 121 пациент моложе 65 лет (26—65 лет, медиана — 56 лет, соотношение мужчины/женщины — 1:1.24). Генетические аномалии выявлялись при рутинном цитогенетическом и FISH анализах. Стратификация пациентов в группы риска проводилась согласно модифицированной молекулярной классификации mSMART^{mod} 1.0 и mSMART^{mod} 2.0. В обеих системах в группу высокого риска дополнительно вошли пациенты с комплексным характером хромосомных aberrаций — 3 и более хромосомных aberrаций.

В группе пациентов после АТГСК (одиночной или тандемной) ($n = 45$) 5-летняя ОВ составила 92%, а в группе без АТГСК ($n = 76$) — 86% ($p = 0,14$). 5-летняя ОВ в группах стандартного риска (mSMART^{mod} 1.0 и 2.0) у пациентов с АТГСК ($n = 34$) и без АТГСК ($n = 65$) составила 87% и 83% соответственно ($p = 0,68$). В группе высокого риска (mSMART^{mod} 1.0) 5-летняя ОВ у пациентов с АТГСК ($n = 11$) — 100%, без АТГСК ($n = 11$) — 55% ($p = 0,04$). Результаты 5-летней ОВ (mSMART^{mod} 2.0) в группе промежуточного риска у пациентов с АТГСК ($n = 9$) составила 100%, без АТГСК ($n = 7$) — 64% ($p = 0,12$). В группе высокого риска (mSMART^{mod} 2.0) была оценена только 2-летняя ОВ пациентов с АТГСК и без, которая составила 100% и 50% соответственно ($p = 0,36$).

Опыт применения микроматричного экспрессионного профилирования малого количества клеток

Геращенко Т.С.^{1,2}, Jochen Wilhelm³, Денисов Е.В.^{1,2}

¹ Томский НИИ онкологии

² t.gerashenko@list.ru

³ Томский государственный университет, Томск, Российская Федерация

³ ECCPS Microarray Unit, Justus Liebig University Giessen, Giessen, Germany

Экспрессионное профилирование отдельных клеток является высокоэффективным средством в понимании механизмов формирования и развития онкологических заболеваний человека. Однако получение малого количества клеточного материала и, соответственно, недостаточной концентрации РНК является основным препятствием для успешной постановки экспрессионного анализа.

К настоящему моменту предложено несколько подходов для увеличения копияности образцов РНК, большинство из которых основано на использовании технологии полнотранскриптомной амплификации.

В настоящем исследовании применён микроматричный подход для экспрессионного профилирования малого количества клеток, разработанный в ECCPS Microarray Unit.

В качестве исследуемого материала использовалось 16 образцов в количестве 300—1000 опухолевых клеток, полученных из срезов опухоли молочной железы с помощью лазерной микродиссекции. РНК выделялась с помощью RNeasy Micro Plus Kit (Qiagen) и оценивалась с помощью системы автоматического электрофореза 2200 TapeStation (Agilent). Концентрация РНК варьировала от 700 до 2000 пг/мкл, показатель RIN — от 4 до 8. РНК подвергалась полнотранскриптомной амплификации (Ovation PicoSL WTA System V2, Nugen), концентрация полученной кДНК составляла 70—90 нг/мкл. Мечение кДНК проводилось с помощью Cy3 (SureTag DNA Labeling Kit, Agilent). Количество меченой ДНК варьировало от 190 до 270 нг/мкл, количество метки Cy3 — от 8 до 10 пМ/мкл. Выбор варианта мечения, разработанного изначально для микроматричной CGH, обусловлен получением в ходе полнотранскриптомной

амплификации молекул кДНК и, соответственно, невозможностью использования протокола Low Input Quick Amp Labeling (Agilent), рекомендуемого для экспрессионного анализа. Полученные образцы гибридизовались на микроматрицах SurePrint G3 v2 8x60k (Agilent), результаты сканирования подвергались гриндингу, биоинформатическая обработка проводилась с помощью пакета программ R и расширения LIMMA.

Полученные результаты представлены в тезисах Денисова Е.В. и соавторов.

Описанный метод также подходит для экспрессионного профилирования единичных клеток.

Гены биогенеза микроРНК: их вклад в развитие некоторых онкоурологических заболеваний

Гилязова И.Р.¹, Кунсбаева Г.Б.², Климентова Е.А.¹, Измайлов А.А.³, Сафиуллин Р.И.³, Хасанов Э.Х.³, Карунас А.С.^{1,2}, Гималова Г.Ф.¹, Тахирова З.Р.¹, Бермишева М.А.¹, Миннихметов И.Р.¹, Павлов В.Н.³, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа, пр.Октября, 71, e-mail: gilyasova_irina@mail.ru

² Башкирский государственный университет, г.Уфа, ул.Валиди, 32

³ Медицинский государственный университет, г.Уфа, ул.Ленина, 5

Онкоурологические заболевания, наиболее частыми нозологическими формами которых являются рак предстательной железы (РПЖ), почечноклеточный рак (ПКР), рак мочевого пузыря (РМП), составляют почти четверть всех злокачественных новообразований человека и остаются одной из наиболее важных проблем клинической медицины.

С целью анализа роли микроРНК в развитии ПКР и РПЖ проведен анализ 30 полиморфных вариантов в 13 генах биогенеза микроРНК (*GPC1*, *FAM212B*, *DDX20*, *FAM57A*, *DROSHA*, *C5orf22*, *AGO1*, *AGO2*, *RAN*, *PIWIL1*, *DICER1*, *GEMIN4*, *DGCR8*) у 233 пациентов с ПКР (106 русских, 86 татар, 39 башкир) и 1042 здоровых индивидов (443 русских, 457 татар, 142 башкир), 266 пациентов с РПЖ (141 русский, 69 татар и 52 башкир) и 267 здоровых мужчин (74 русских, 137 татар, 56 башкир) с использованием TaqMan-технологии и системы OpenArray QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR. Ассоциацию ОНП с болезнями анализировали при помощи пакета программ PLINK 1.07. Поправку на множественное тестирование вводили, используя метод FDR. В качестве статистически значимых принимались результаты при $FDR < 0,05$.

Для метаанализа результатов по трём выборкам русских, татар и башкир использовали программу WinPeri v.11.32. Наиболее высокий уровень ассоциации с развитием рака простаты во всех этнических группах (русские, татары, башкиры) наблюдается по полиморфному варианту rs2292832 ($p = 3,4 \times 10^{-5}$, 0,002 и $3,4 \times 10^{-4}$ соответственно), расположенному в первом интроне гена глипикана 1 (*GPC1*). Этот ген локализован на хромосоме 2. Протеогликаны экспрессируются на поверхности клеток млекопитающих и играют важную роль во взаимодействии между клетками, клетками и матриксом, а также сигнализации. Обнаружена также ассоциация rs595055 в гене *AGO1* ($p = 0,01$) с развитием РПЖ у башкир, rs1640299 в гене *DGCR8* ($p = 0,001$) у русских, rs11584657 в гене *FAM212B* ($p = 0,03$) и rs1057035 в гене *DICER1* у татар ($p = 0,03$ и $p = 0,04$). Наиболее высокий уровень ассоциации с развитием светлоклеточного рака почки у русских и татар выявлен по rs1057035 в гене *DICER1* ($p = 3,026 \times 10^{-5}$ и 0,03 соответственно). При проведении метаанализа результатов исследования полиморфных локусов генов биогенеза микроРНК у русских, татар и башкир

обнаружены статистически значимые различия между выборками больных РПЖ и здоровых по rs2292832 гена *GPC1* и rs1057035 гена *DICER1*. Гетерогенности между выборками по обоим локусам не найдено ($I^2 = 0,0\%$, $p = 4,376 \times 10^{-7}$) и метаанализ проводили по методу Мантеля—Хензеля. По локусу rs2292832 показатель отношения шансов для аллеля rs2292832*Т составляет 2,25 (95%CI 1,60—4,21), а для аллеля rs2292832*С — 0,38 (CI95% 0,24—0,62). В результате метаанализа выявлены статистически различия между выборками больных ПКР и здоровых по полиморфному локусу rs1057035 гена *DICER1* ($I^2 = 0,0\%$, $p = 1,643 \times 10^{-9}$), показатель отношения шансов для аллеля rs1057035*С составляет 2,13 (95%CI 1,55—2,93), а для аллеля rs2292832*Т-0,47 (CI95% 0,34—0,65). Так, метаанализ позволяет установить значимость полиморфных вариантов некоторых генов биогенеза микроРНК в развитии злокачественных новообразований РПЖ и ПКР.

Роль полиморфных локусов генов толл-подобных рецепторов и генов цитокинов в развитии atopического дерматита

Гималова Г.Ф.¹, Карунас А.С.^{1,2}, Гуменная Э.Р.³, Хантимерова Э.Ф.⁴, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа, пр.Октября, 71; galiyagimalova@gmail.com

² Башкирский государственный университет, г.Уфа, ул. Валиди, 32

³ Республиканский кожно-венерологический диспансер, г.Уфа, Индустриальное ш., 42

⁴ Башкирский государственный медицинский университет, г.Уфа, ул.Ленина, 3

Атопический дерматит (АД) — распространённое хроническое воспалительное заболевание кожи, часто предшествующее аллергическим заболеваниям. В последние годы признается роль в развитии АД генов цитокинов, участвующих в развитии аллергического воспаления, и толл-подобных рецепторов, ответственных за запуск первичных защитных реакций врождённого иммунитета. Нами проведено исследование однонуклеотидных полиморфных вариантов (ОНП) генов цитокинов *IL4*, *IL4R*, *IL10*, *IL13*, *TNF*, *CCL11* и генов толл-подобных рецепторов *TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR9*, *TLR10* у больных АД и в контрольной группе индивидов из Республики Башкортостан. Группа больных включала 303 пациента с АД различной степени тяжести, имеющих сопутствующие аллергические заболевания (АЗ) и без них, русской (177 чел.) и татарской (126 чел.) этнической принадлежности. Контрольную группу составил 261 индивид (152 русских и 109 татар) без признаков АЗ. Генотипирование ОНП осуществлялось методом ПЦР в реальном времени.

Наиболее значимые различия между группами больных АД и контроля выявлены у русских индивидов по ОНП rs5743571 гена *TLR1*: частота аллеля rs5743571*С составила 88,9% у больных и 72,9% в контроле ($p = 0,0004$), а генотипа rs5743571*С/С — 77,8% у больных АД и 54,2% в контроле ($p = 0,0021$). Кроме того, у русских больных АД, по сравнению с контролем, выше частота аллеля rs5743604*А ($p = 0,0432$) ОНП гена *TLR1*, аллеля rs5743794*С ($p = 0,0017$) и генотипа rs5743794*С/С ОНП гена *TLR6* ($p = 0,002$) и аллеля rs11466617*Т ОНП гена *TLR10* ($p = 0,0414$). У татар значимые различия между группами больных АД и контроля обнаружены при исследовании ОНП rs1816702 ($p = 0,0406$) и rs4696483 ($p = 0,0249$) гена *TLR2*. Анализ ассоциации ОНП генов цитокинов с развитием АД выявил статистически значимые различия в распределении частот аллелей и генотипов ОНП гена *IL10*. Показано, что у русских больных АД без сопутствующих АЗ с более высокой частотой, чем в контроле, определялся генотип rs1800872*А/С: 49,18% и 33,6% соответственно ($p = 0,0406$).