СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

РОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «НА СТЫКЕ НАУКИ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ — 2023»

30–31 МАЯ 2023 ГОДА

ВАЛИДАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ НЕИНВАЗИВНОГО ПРЕНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА

Барков Илья Юрьевич, Большакова Анна Сергеевна, Трофимов Дмитрий Юрьевич

ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

E-mail: i_barkov@oparina4.ru

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: неинвазивный пренатальный скрининг; НИПС; НИПТ; NGS; частичные анеуплоидии; субмикроскопические перестройки; редкие аутосомные трисомии; амниоцентез.

ВВЕДЕНИЕ

Неинвазивный пренатальный скрининг (НИПС, НИПТ) — это метод скрининга анеуплоидий, основанный на анализе внеклеточной ДНК плода в крови матери. Минздрав России, а также многие профессиональные ассоциации врачей (Американский колледж акушеров и гинекологов, Американский колледж медицинской генетики и геномики, Общество медицины матери и плода) рекомендуют НИПС в связи с его высокой чувствительностью и специфичностью для выявления частых анеуплоидий (трисомии хромосом 21, 18, 13). Полногеномный подход с применением NGS позволяет провести исследование по всем хромосомам, в том числе дает возможность выявлять частичные анеуплоидии. Отдельные лаборатории указывают на использование такого подхода для скрининга субмикроскопических перестроек. Однако Швартц и соавт. в своем исследовании показали, что подтверждаются только 9,2% микроделеций/микродупликаций при проведении инвазивной диагностики (амниоцентеза и хорионбиопсии). Эти данные согласуются с опытом нашей лаборатории. Мы демонстрируем случай высокого риска микродупликации короткого плеча хромосомы 20 (регион 20p12.2-p11.21) по данным НИПС, проведенного по Московской программе городского здравоохранения. При проведении молекулярного кариотипирования на ДНК-микроматрицах по амниотической жидкости патогенных микроделеций и микродупликаций не обнаружено. В дальнейшем беременность и роды протекали без особенностей. Катамнез ребенка в возрасте 6 месяцев показал нормальное его физическое и психомоторное развитие. Также в двух наших наблюдениях по данным ультразвукового исследования во II триместре беременности у плодов был установлен диагноз врожденного порока сердца — тетрады Фалло. При проведении НИПС («расширенная панель») в одной из коммерческих лабораторий г. Москвы установлен низкий риск трисомий 21, 18, 13, анеуплоидий половых хромосом и частых микроделеционных синдромов. Однако у новорожденных в связи с особенностями фенотипа проведено молекулярное кариотипирование на ДНК-микроматрицах, выявлена патогенная микроделеция на длинном плече хромосомы 22, соответствующая синдрому ДиДжорджи.

Другой важный аспект, который хотелось бы затронуть, — это предпочтительное использование амниотической жидкости для валидации положительных результатов НИПС, особенно в случае редких аутосомных трисомий. Последние в большинстве наблюдений встречаются в мозаичной форме и ограничены плацентой, следовательно, возможен благоприятный исход для плода.

В следующем клиническом примере пациентка обратилась на консультацию с результатом хорионбиопсии, проведенной в сторонней лаборатории в связи с высоким риском по комбинированному скринингу I триместра. Кариотип плода: 47,XX,+mar, то есть выявлено наличие добавочной маркерной хромосомы. По данным НИПС, проведенного по желанию пациентки, выявлен высокий риск трисомии по хромосоме 16 у плода. При ультразвуковом исследовании в 16 недель плод соответствовал сроку гестации, аномалий развития выявлено не было. Цитогенетическое исследование амниоцитов и молекулярное кариотипирование на ДНК-микроматрицах показали нормальные результаты. Девочка родилась в срок с массой менее 3-го перцентиля. Проведен молекулярно-цитогенетический анализ клеток плаценты методом FISH, обнаружена трисомия по хромосоме 16 в 100% исследованных клеток. Катамнез ребенка в возрасте 9 месяцев показал нормальное физическое и психомоторное развитие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хотелось бы отметить, что необходимы дальнейшие исследования для определения места НИПС в скрининге субмикроскопических перестроек, редких аутосомных трисомий. В случае выявления последних и отсутствии аномалий развития у плода по данным ультразвукового исследования мы рекомендуем выжидательную тактику до срока амниоцентеза.

СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОМА У ПАР С БЕСПЛОДИЕМ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Капланова Мадина Тамерлановна[1], Галактионова Александра Михайловна[1], Дорощук Наталья Александровна[1], Потапов Александр Андреевич[1], Сагайдак Олеся Владимировна[1], Баранова Елена Евгеньевна[1, 2], Беленикин Максим Сергеевич[1]

[1] ООО «Эвоген». 115191, г. Москва, 4-й Рощинский проезд, д. 20, стр. 5
[2] Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России. 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

E-mail: kaplanova@evogenlab.ru

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бесплодие неясного генеза; привычное невынашивание беременности; генетические варианты; полногеномное секвенирование; секвенирование по Сэнгеру.

ВВЕДЕНИЕ

Около 10–15% супружеских пар сталкиваются с диагнозом «бесплодие», которому в равной степени могут способствовать как женские, так и мужские факторы [1]. У 10% из них причина бесплодия остается недиагностированной. При этом примерно у 1–5% супружеских пар с установленным диагнозом «бесплодие» на самом деле выявляется привычное невынашивание на ранних сроках беременности, что является распространенным акушерским осложнением, приводящим к значительному экономическому и психологическому бремени для семьи и системы здравоохранения. Известные причины невынашивания беременности включают аутоиммунные, эндокринные факторы, врожденные и приобретенные заболевания органов женской репродуктивной системы, генетические факторы, однако более 50% случаев привычного невынашивания беременности остаются неверифицированными. Вклад генетических причин бесплодия и привычного невынашивания беременности изучен не полностью. Генетические причины могут включать как хромосомные, так и генные нарушения. Полногеномное исследование (WGS) помогает установить ранее неизвестные причины бесплодия и привычного невынашивания беременности и является эффективным методом определения генетических вариантов, являющихся вероятной причиной репродуктивных потерь. WGS — универсальный и объективный метод тестирования, который стал более доступным как в рамках научных проектов, так и с точки зрения клинической практики, за счет снижения стоимости секвенирования нового поколения в последние годы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести секвенирование генома у пар с диагнозом «бесплодие» и «привычное невынашивание беременности» с целью поиска генетических вариантов, являющихся вероятными причинами репродуктивных потерь.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка к секвенированию и полногеномное секвенирование проведены на платформах DNBseq-G400 и DNBseq-T7 (MGI, Китай) с использованием ПЦР-free протокола, PE150, в соответствии с протоколами производителя. Полученные данные секвенирования были биоинформатически обработаны и интерпретированы специалистами. Найденные в ходе исследования генетические варианты валидированы методом секвенирования по Сэнгеру.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено полногеномное секвенирование 146 образцов биологического материала супругов из 73 супружеских пар. По результатам исследования 21 (14,4%) образца биологического материала супругов установлено 28 генетических вариантов, являющихся вероятными причинами репродуктивных потерь, из них:

- 6 (21,4%) патогенных;
- 3 (10,7%) вероятно патогенных;

- 12 (42,9%) с неизвестной клинической значимостью;
- 7 (25%) структурных генетических вариантов.

Среди 73 мужчин из семейных пар с диагнозом «бесплодие» или «привычное невынашивание беременности» у 12 (16,4%) выявлены варианты, ассоциированные с нарушением сперматогенеза.

Среди 73 женщин из семейных пар с диагнозом «бесплодие» или «привычное невынашивание беременности» у 13 (17,8%) выявлены варианты, являющиеся вероятными причинами репродуктивных потерь.

Таким образом, среди семейных пар с диагнозом «бесплодие» или «привычное невынашивание беременности» у 12 (16,4%) мужчин и 13 (17,8%) женщин выявлены варианты, являющиеся вероятной причиной репродуктивных потерь.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате обработки и интерпретации данных полногеномного секвенирования были выявлены и классифицированы патогенные, вероятно патогенные варианты и варианты с неизвестной клинической значимостью, которые могут стать основой для установления причины репродуктивных неудач и определения дальнейшей тактики при планировании беременности (использование вспомогательных репродуктивных технологий при желании родителей).

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена за счет субсидий из бюджета г. Москвы № 01-04-593 от 10.11.2021, № 01-04-731 от 21.12.2022.

ОЦЕНКА НЕФРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ФУМАРАТА НАТРИЯ *IN VIVO* В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ РАКА ПОЧКИ

Попов Сергей Валерьевич[1], Дунаев Андрей Валерьевич[2], Гусейнов Руслан Гусейнович[1, 3], Винокуров Андрей Юрьевич[2], Попов Даниил Юрьевич[2], Потапова Елена Владимировна[2], Жеребцов Евгений Андреевич[2], Сивак Константин Владимирович[1, 4], Перепелица Виталий Владимирович[1], Буненков Николай Сергеевич[1, 5], Садовникова Анастасия Витальевна[1]

[1] СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки». 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Чугунная, д. 46
[2] ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева». 302026, г. Орел, ул. Комсомольская, д. 95
[3] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет». 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9
[4] ФГБУ «НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева» Минздрава России. 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 15/17
[5] ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова». 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

E-mail: rusfa@yandex.ru

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак почки; тепловая ишемия почки; нефропротекция.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно клиническим рекомендациям Российской и Европейской ассоциаций урологов, в настоящее время ведущим способом лечения локализованных форм почечно-клеточного рака (ПКР) стадии Т1–2 является органосохраняющая операция — резекция почки. В ходе вмешательства чаще всего необходимо пережимать почечные сосуды с созданием тепловой ишемии почки, что может приводить к синдрому ишемии — реперфузии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение нефропротекторных свойств фумарата натрия в клеточной линии почечного эпителия в условиях гипоксии и при хирургическом лечении рака почки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для моделирования гипоксии применяли химическое связывание кислорода 5 мМ дитионита в клеточной культуре MDCK без и с добавлением фумарата натрия, а также регистрировали происходящие изменения дыхательной цепи в течение периода времени, сопоставимого с продолжительностью тепловой ишемии почки. Контроль апоптотической гибели клеток культуры осуществляли с использованием окрашивания Hoechst 33342. Клиническому исследованию была подвергнута часть пациентов, которая с марта 2014 по февраль 2023 г. находилась на стационарном лечении в Клинической больнице Святителя Луки по поводу ПКР в стадии Т1–2. Проанализированы результаты лечения 314 пациентов в возрасте от 49 до 77 лет. С учетом времени тепловой ишемии (15 мин, 15–30 мин и 30–45 мин) и медикаментозного сопровождения (водный 15% раствор натрия фумарата, фуросемид и маннитол) сформировано 5 групп больных, у которых оценивали содержание в сыворотке крови и моче ренального биомаркера NGAL, цистатина С, KIM-1, L-FABP, креатинина. При анализе динамики показателей статистически значимыми считали изменения с уровнем достоверности $p < 0{,}05$. Статистическую обработку данных проводили в программе Prism 8.2 (GraphPad Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На модели гипоксии клеток установлена высокая антигипоксическая и цитопротекторная активность фумарата натрия. Восстанавливаясь на комплексе II дыхательной цепи митохондрий, фумарат выступает в качестве акцептора электронов вместо кислорода и позволяет обеспечивать работу как комплекса I, так и F1-F0-АТФ-синтазы. В присутствии фу-

марата натрия наблюдается плавное снижение митохондриального потенциала, которое не приводит к фатальным последствиям и апоптозу, связанными с переходом комплекса V в инверсный режим и, следовательно, расходованием аденозинтрифосфата. В клинических условиях у всех пациентов, независимо от состава медикаментозного сопровождения, в первые 24–72 ч после лапароскопической резекции почки наблюдался пикообразный «взлет» значений всех показателей (за исключением креатинина). Затем следовала регрессия биохимических сдвигов, стремительная в начале процесса и замедленная, растянутая в завершающем периоде. Выраженность нарушений находилась в прямой зависимости от времени тепловой ишемии почки и состава фармакологической защиты. Наилучшее качество нефропротекции получено при использовании фумарата натрия. Например, через 24 ч после 30–45-минутной тепловой ишемии почки уровень s-NGAL был ниже показателя на фоне действия маннитола и фуросемида на 67 и 45% соответственно. Полученные результаты показали как прямую цитопротекторную *in vitro*, так и нефропротекторную активность фумарата натрия *in vivo*.

ВЫВОДЫ

Анализ автофлюоресценции флавинмононуклеотида, который является коферментом комплекса II дыхательной цепи, подтверждает тот факт, что фумарат натрия выступает как эффективный акцептор электронов, что в условиях гипоксии может обеспечить его существенное защитное действие. Результаты биохимического исследования пациентов, перенесших лапароскопическую резекцию почки и 15–45-минутную тепловую ишемию почки на фоне действия фумарата натрия, свидетельствуют о высокой нефропротекторной активности фумарата натрия, целесообразности и оправданности его применения при вмешательствах, где необходима тепловая ишемия.

Исследование выполнено при поддержке РНФ в рамках проекта № 21-15-00325.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЯЖЕСТИ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК С ПРИМЕНЕНИЕМ БИОМАРКЕРОВ

Попов Сергей Валерьевич[1], Гусейнов Руслан Гусейнович[1, 2], Сивак Константин Владимирович[1, 3], Перепелица Виталий Владимирович[1], Буненков Николай Сергеевич[1, 4], Лелявина Татьяна Александровна[1], Садовникова Анастасия Витальевна[1]

[1] СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки». 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Чугунная, д. 46
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет». 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9
[3] ФГБУ «НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева» Минздрава России. 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 15/17
[4] ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова». 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

E-mail: rusfa@yandex.ru

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острое повреждение почек; биомаркеры.

ВВЕДЕНИЕ

Существуют различные методы, позволяющие оценить функцию почек и их повреждение при различных заболеваниях. Проводимые в настоящее время исследования помогают определить место маркеров для диагностики острого повреждения почек (ОПП) интраоперационно или же в раннем послеоперационном периоде больным после хирургической травмы почки.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить состояние почечной паренхимы во время ишемии почки с применением биомаркеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пережатие почечных сосудов при нефронсберегающих вмешательствах часто является неотъемлемой частью операции, что, в свою очередь, вызывает тепловую ишемию, которая запускает каскад патологических сдвигов, в результате которых развивается гипоксически-реоксигенационная неспецифическая альтерация клеток почечной ткани с таргетным поражением эпителия проксимальных сегментов канальцев нефрона. Ишемическое повреждение нефроцитов является патологическим процессом, заключающимся в развитии патологических и защитно-приспособительных реакций, которые проявляются как комплекс метаболических, функциональных и морфологических нарушений. Общеизвестно, что тяжесть поражения реальной ткани после тепловой ишемии зависит от длительности обескровливания. Соединения, оценка уровня которых в моче и крови прогностически и диагностически позволяют оценить тяжесть нарушений функций почечной ткани, получили общепринятое имя: маркеры острого повреждения почек.

В настоящее время функциональное состояние ренальной ткани определяется на основании количественной биохимической оценки креатинина и мочевины плазмы крови. К сожалению, данные тесты не обладают достаточной специфичностью для определения тяжести ишемических нарушений, а также несостоятельны для оценки острого повреждения почек. Для динамической оценки нюансов течения дисфункции клубочково-канальцевойсистемы разработаны новые методы оценки более широкого спектра биомаркеров, которые дают больше информации и позволяют динамично оценивать специфику развития клубочково-канальцевой дисфункции. Последние являются высокоспецифичными и чувствительными идентификаторами почечного повреждения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Важным направлением лабораторной диагностики повреждений является качественная и количественная оценка биомаркеров острого повреждения почки. При развитии функциональной несостоятельности гломерулярно-тубулярного аппарата почки об этом свидетельствуют соответствующие изменения концентрации креатинина, цистатина-С, ИЛ-18, KIM-1, липокалина-2, белков, связывающих жирные кислоты, а также ферментов N-ацетил-глюкозаминидазы, глютатион-S-трансферазы, глутамилтранспептидазы, лактат-дегидрогеназы.

ВЫВОДЫ

Анализ определения качественных и количественных изменений маркеров значительно расширяет картину этиологии и патогенеза нарушений, повышает качество прогнозирования, позволяет более точно оценить степень тяжести расстройств, что сможет обеспечивать своевременную корректировку лечебных мероприятий.

ПОКАЗАТЕЛИ ПРОСТАТИЧЕСКОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА В ДИАГНОСТИКЕ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Попов Сергей Валерьевич[1], Гусейнов Руслан Гусейнович[1, 2], Сивак Константин Владимирович[1, 3], Перепелица Виталий Владимирович[1], Буненков Николай Сергеевич[1, 4], Лелявина Татьяна Александровна[1]

[1] СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки». 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Чугунная, д. 46
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет». 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9
[3] ФГБУ «НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева» Минздрава России. 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 15/17
[4] ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова». 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

E-mail: rusfa@yandex.ru

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак предстательной железы; простатический специфический антиген.

ВВЕДЕНИЕ

На данное время основным показанием для выполнения биопсии предстательной железы является неоднократное повышение в сыворотке крови уровня общего простатического специфического антигена (ПСА). Беря во внимание низкую онкоспецифичность ПСА, существует риск выполнения неоправданных биопсий предстательной железы с возможным рядом осложнений. Определение дополнительных показателей — свободной фракции ПСА, -2проПСА, а также расчет индексов D ПСА, PHI, f/t ПСА — повышают диагностическую ценность ПСА-тестирования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить уровни общего ПСА сыворотки крови, степень соответствия между результатами определения уровня ПСА в периферической крови и выявляемостью злокачественных и доброкачественных изменений простаты при ее первичной биопсии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализировано 83 первичных биопсийных исследования. Из них 47 биопсий выполнено на основании повышения сывороточного уровня ПСА и 36 биопсий — на основании расширенного ПСА-тестирования. Проведена оценка частоты выявляемости злокачественных и доброкачественных изменений предстательной железы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При первичной биопсии, выполненной в связи с повышением в сыворотке крови уровня общего ПСА, злокачественное перерождение ткани простаты выявлено в 38% случаев. Уровень общего ПСА в сыворотке крови варьирует от 4,3 до 10,2 нг/мл более чем в 53% случаев.

ВЫВОДЫ

Плотность ПСА при морфологически верифицированном раке предстательной железы статистически значимо превышает таковую у мужчин с доброкачественной гиперплазией предстательной железы и пороговое значение показателя в 87% случаев. Вычисление индекса здоровья простаты и отношения между концентрацией в сыворотке крови свободного и общего ПСА позволяет повысить точность прогнозирования возникновения рака простаты, корректировать показания к биопсии, снизить частоту неоправданных исследований.

РОЛЬ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ОПУХОЛЕЙ ПРОСТАТЫ

Попов Сергей Валерьевич[1], Гусейнов Руслан Гусейнович[1, 2], Сивак Константин Владимирович[1, 3], Перепелица Виталий Владимирович[1], Буненков Николай Сергеевич[1, 4], Лелявина Татьяна Александровна[1]

[1] СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки». 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Чугунная, д. 46
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет». 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9
[3] ФГБУ «НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева» Минздрава России. 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 15/17
[4] ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова». 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

E-mail: rusfa@yandex.ru

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак предстательной железы; иммуногистохимический метод.

ВВЕДЕНИЕ

«Золотым стандартом» верификации диагноза рака предстательной железы является гистологический анализ структурных особенностей простаты. Иммуногистохимический (ИГХ) метод изучения микроморфологической картины заболевания с применением антител клона 34βE12 и моноклональных антител к ядерному белку p63 позволяет, детализируя состояние базального эпителиального слоя железистых структур простаты, подтвердить или опровергнуть наличие аденокарциномы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить возможности ИГХ-идентификации опухолевых клеток и базального эпителиального слоя железистых структур предстательной железы при подозрении на рак простаты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучался биопсийный материал, взятый у 157 больных. Отобранные образцы были разделены на 2 группы. В группу 1 относили образцы ткани простаты, пораженные аденокарциномой (n=81), в группу 2 — образцы здоровой ткани (n=76). В ИГХ-анализе определяли с применением моноклональных антител BioGenex к α-метилацилКоА-рацемазе, ядерному белку p63 и высокомолекулярному цитокератину (антитела клона 34βE12) состояние базального эпителиального слоя железистых структур простаты. В процессе ИГХ-анализа брали во внимание экстенсивность и интенсивность окрашивания для AMACR, 34βE12 и ядерного p63.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При аденокарциноме предстательной железы наблюдается AMACR-положительная реакция малигнизированных клеток и отрицательное реагирование базального эпителия на антитела к p63 и высокомолекулярному цитокератину. Средний возраст пациентов основной группы, у которых при рутинном гистологическом исследовании была верифицирована аденокарцинома предстательной железы, составил 58–85 лет (медиана 67,9 лет). В единичных случаях отмечалось слабое или, более редко, умеренное окрашивание при анализе антител клона 34βE12 и моноклональных антител к p63.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммуногистохимические исследования с моноклональными антителами к AMACR, p63 и высокомолекулярному цитокератину облегчают выявление формирования разрастаний малигнизированного эпителия простатических желез и утрату базального слоя здоровых эпителиоцитов. Ограниченность специфичности AMACR-теста нивелируется одновременным иммунным реагированием ядерного p63 и высокомолекулярного цитокератина с соответствующими антителами и детализацией вследствие этого состояния базального слоя.

УЧЕТ И АНАЛИЗ БИОМАРКЕРОВ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Попов Сергей Валерьевич[1], Гусейнов Руслан Гусейнович[1, 2], Сивак Константин Владимирович[1, 3], Перепелица Виталий Владимирович[1], Буненков Николай Сергеевич[1, 4], Лелявина Татьяна Александровна[1]

[1] СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки». 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Чугунная, д. 46
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет». 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9
[3] ФГБУ «НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева» Минздрава России. 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 15/17
[4] ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова». 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

E-mail: rusfa@yandex.ru

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак предстательной железы; биомаркеры.

ВВЕДЕНИЕ

Большая частота встречаемости рака предстательной железы и несовершенство имеющихся методов его распознавания приводят к гипердиагностике клинически значимых форм, имеющей нежелательные последствия как для пациентов (инвазивные процедуры, длительное лечение с риском осложнений), так и для системы здравоохранения в целом — трудозатраты медицинского персонала, нагрузка на коечный фонд, расходы на лекарственные препараты.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Решение вопроса о дифференцированном назначении терапии с учетом молекулярных особенностей патогенеза, что требует лабораторного анализа новых онкомаркеров клинически значимых форм рака предстательной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе выполнения проекта будут разработаны лабораторная тест-система для анализа уровней онкомаркеров из семейства микроРНК в различных жидких средах организма и диагностический алгоритм, учитывающий проанализированные уровни микроРНК, что позволит создать персонифицированный подход к малоинвазивной диагностике рака предстательной железы и программам активного наблюдения за пациентами. Проект будет выполнен на базе СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки», в которой функционирует Городской центр эндоскопической урологии и новых технологий и организована слаженная работа на всех этапах исследования: выбор перспективных микроРНК, формирование групп обследуемых лиц, забор биологических образцов, выполнение молекулярно-генетического анализа, статистическая обработка результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование носит прикладной характер. Результаты работы по проекту будут внедрены в диагностическую и лечебную практику Городского центра эндоскопической урологии и новых технологий, а также других лечебных учреждений Санкт-Петербурга и России.

ВЫВОДЫ

Выполнение данного проекта и внедрение его результатов в медицинскую практику улучшит уровень диагностики клинически значимого рака предстательной железы, что приведет к повышению качества жизни населения, а также уменьшению финансовых затрат за счет снижения количества койко-дней, снижения трудозатрат медицинского персонала и суммарных расходов на лекарственные препараты и, таким образом, обеспечит оптимизацию бюджета Санкт-Петербурга при лечении пациентов с раком предстательной железы.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ С АНТИОКСИДАНТНЫМ И ЦИТОСТАТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ НА ЧАСТОТУ АНОМАЛЬНЫХ ГОЛОВОК СПЕРМАТОЗОИДОВ У БЕСПОРОДНЫХ МЫШЕЙ

Розенфельд Светлана Владимировна, Того Екатерина Феликсовна, Корженевская Марина Анатольевна, Семёнов Константин Николаевич, Шаройко Владимир Владимирович

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова». 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

E-mail: korgmar@rambler.ru

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: C_{60}-L-аргинин; производные 1,3,5-триазина; цитостатическое и антиоксидантное воздействие; алкилирующие агенты; аномалии головок сперматозоидов.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из значимых проблем современной медицины является лечение онкологических заболеваний. Противоопухолевые препараты должны высокоэффективно разрушать опухолевые клетки, сдерживать их рост и пролиферацию, не оказывая негативного физиологического воздействия на нормальные делящиеся клетки. Создание новых лекарственных препаратов и изучение механизма их влияния повышает эффективность терапии и улучшает прогноз для жизни пациентов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния двух соединений: 1) производного 1,3,5-триазина (5-((4,6-дихлор-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)метанола с цитостатическим действием и 2) аддукта фуллерена C_{60} с L-аргинином с антиоксидантным действием на частоту возникновения аномальных головок сперматозоидов у самцов мышей. Известно, что соединение C_{60}-L-аргинин способно связывать образующиеся в клетках свободные радикалы, а производное 1,3,5-триазина обладает алкилирующим действием на азотистые основания, благодаря чему вызывает повреждения ДНК и запускает в поврежденной клетке апоптоз.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

C_{60}-L-аргинин является аминокислотным водорастворимым производным фуллерена C_{60}, способным снижать интенсивность перекисного окисления липидов, а также повышать активность супероксиддисмутазы. Производное 1,3,5-триазина является водорастворимым соединением из класса этилениминов с алкилирующим действием.

Частоту аномальных головок сперматозоидов (АГС) изучали на одномесячных самцах беспородных мышей. Было сформировано четыре группы мышей, по пять самцов в каждой. Первой группе однократно вводили подкожно по 0,2 мл соединения 1-го производного 1,3,5-триазина в терапевтической дозе, второй группе — подкожно терапевтическую дозу соединения 2 — C_{60}-L-аргинина, третьей контрольной группе подкожно однократно вводили физиологический раствор (NaCl 0,9%) в дозе 0,2 мл, четвертая группа представляла собой интактный контроль без инъекций. Оценку частоты АГС проводили с помощью теста на аномалии головок сперматозоидов согласно общепринятой методике, через 16 дней после введения препаратов. Для каждого животного анализировали по 200 сперматозоидов. В качестве аномалий фиксировали укороченные и удлиненные крючки, а также короткие, нитевидные и аморфные головки сперматозоидов. Статистический анализ полученных данных проводили методом, рекомендованным для сравнения малых выборок, с использованием t-критерия Стьюдента при уровне значимости 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частота АГС у мышей, получивших инъекцию производного 1,3,5-триазина (соединение 1), составляла 23,51±0,81%, что достоверно отличается от контрольной группы, получившей инъекцию физиологического раствора — 5,20±2,80 %, и от интактного контроля — 1,70±0,23%. Частота АГС у мышей, получивших инъекцию C_{60}-L-аргинин (соединение 2),

составляла 9,35 ±1,59%, что достоверно отличается от группы, получившей инъекцию соединения 1 и от интактного контроля — 1,70 ±0,23%, но не имеет достоверного различия с группой, получившей инъекцию физиологического раствора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно сделать вывод о том, что соединение 1 негативно влияет на процесс сперматогенеза у мышей и значительно повышает частоту аномалий головок сперматозоидов по сравнению с контролем. Повышение частоты АГС после подкожного введения соединения 1 не является результатом стресса от инъекции, поскольку достоверно отличается от обеих групп контроля. Введение C_{60}-L-аргинина (соединения 2) не оказывало позитивного действия на процесс формирования сперматозоидов у самцов мышей. Полученные результаты необходимо учитывать при использовании данных соединений в медицинской практике.

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СКРИНИНГА НОСИТЕЛЬСТВА ВАРИАНТОВ, СВЯЗАННЫХ С РАЗВИТИЕМ РЕЦЕССИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Сотникова Евгения Андреевна[1], Киселева Анна Витальевна[1], Жарикова Анастасия Александровна[1, 2], Раменский Василий Евгеньевич[1, 2], Зайченока Мария[3], Вяткин Юрий Викторович[1, 4], Куценко Владимир Александрович[1, 5], Ершова Александра Игоревна[1], Скирко Ольга Петровна[1], Покровская Мария Сергеевна[1], Драпкина Оксана Михайловна[1], Мешков Алексей Николаевич[1, 6, 7, 8]

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России. 101990, г. Москва, Петроверигский пер., д. 10, стр. 3
[2] ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», факультет биоинженерии и биоинформатики. 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1
[3] ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)». 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9
[4] ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет». 1630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, д. 1
[5] ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», механико-математический факультет. 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1
[6] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова». 121552, г. Москва, ул. Академика Чазова, д. 15а
[7] ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова». 115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1
[8] ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова». 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

E-mail: sotnikova.evgeniya@gmail.com

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: скрининг носительства; аутосомно-рецессивные заболевания; Х-сцепленные заболевания; NGS.

ВВЕДЕНИЕ

Скрининг носительства аутосомного заболевания — медицинское исследование для определения наличия или отсутствия статуса носительства рецессивного заболевания у пары или человека, который не имеет априорно повышенного риска быть носителем на основании личной или семейной истории болезни его или его партнера. Исторически программы скрининга ограничивались определенной этнической группой, в которой заболевание было наиболее распространено. С развитием и удешевлением технологий секвенирования распространение получила концепция расширенного скрининга носительства (expanded carrier screening, ECS), основанная на идее скрининга большего числа заболеваний без учета происхождения. Единые критерии отбора заболеваний для скрининга в настоящий момент отсутствуют. Американской коллегией медицинской генетики и геномики (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) были опубликованы рекомендации по скринингу носительства аутосомных и Х-сцепленных рецессивных заболеваний, согласно которым скрининг 113 генов должен быть предложен всем беременным или планирующим беременность (Gregg, 2021). Среди критериев включения были тяжесть заболевания, корреляция генотипа с фенотипом, доступность пренатальной диагностики, аналитическая валидность методов скрининга и частота носительства. Частота носительства должна быть не ниже, чем 1/200 для аутосомно-рецессивных и 1/40 000 для Х-сцепленных заболеваний хотя бы в одной из субпопуляций, составляющей не менее 1% населения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить распространенность патогенных и вероятно патогенных вариантов нуклеотидной последовательности в генах, рекоменду-

емых ACMG для скрининга носительства рецессивных заболеваний в выборке из 310 человек.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 310 условно-здоровых неродственных участников.

Полногеномное секвенирование (n=79) было проведено на приборе Novaseq 6000 (Illumina, США). Полноэкзомное секвенирование (n=231) было проведено на приборе Nextseq 550 или HiSeq 1500 (Illumina, США).

Биоинформатический анализ данных был проведен с помощью специально разработанного пайплайна на основе GATK 3.8 (Ramensky, 2021). Чтения с парными концами были выровнены на геномную последовательность GRCh38. Для аннотации однонуклеотидных вариантов и коротких инделов был использован ENSEMBL Variant Effect Predictor (VEP) v.100, а также ClinVar (2021/01/10) и gnomAD (v2.1.1).

Среди выявленных вариантов были отобраны патогенные и вероятно патогенные, согласно аннотации ClinVar, варианты в 113 генах, рекомендованных ACMG для скрининга носительства рецессивных заболеваний.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Всего в обеих подвыборках было выявлено 99 носителей 77 патогенных или вероятно патогенных вариантов в 45 генах, в том числе 12 носителей двух и один носитель трех вариантов в разных генах. Частота носителей составила 31,9%. Наибольшее число носителей патогенных или вероятно патогенных вариантов было выявлено в генах *GJB2* (n=18) и *PAH* (n=13).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высокая частота носительства патогенных или вероятно патогенных вариантов в исследуемой выборке подтверждает актуальность проблемы и необходимость дальнейших исследований, которые позволят оптимизировать выбор генов для скрининга носительства с учетом особенностей российской популяции.