



## РОССИЙСКО-БЕЛОРУССКИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Биомедицина и фармакология

Генетика животных

Сельскохозяйственная генетика  
и биотехнология растений

Молекулярные биотехнологии

Биоинформатика



наука



И ТЕХНОЛОГИИ

Сибири

#### НАУКА И ТЕХНОЛОГИИ СИБИРИ

Выпуск 7 — Российско-белорусские генетические технологии  
Ноябрь 2022 г.

#### Учредитель:

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Сибирское отделение Российской академии наук».  
630090, Россия, Новосибирск,  
проспект Академика Лаврентьева, дом 17.

#### Издатель:

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Сибирское отделение Российской академии наук».  
630090, Россия, Новосибирск,  
проспект Академика Лаврентьева, дом 17.

#### Главный редактор:

академик Валентин Николаевич Пармон.

#### Редакционный совет:

академики РАН Михаил Воевода, Николай Колчанов, Василий Фомин, Дмитрий Маркович, генеральный директор АО «Академпарк» Дмитрий Верховод, заместитель полномочного представителя Президента России в СФО Вадим Головкин, председатель Совета ректоров СФО профессор Николай Пустовой, заместитель председателя СО РАН д.ф.-м.н. Сергей Сверчков (ответственный за выпуск).

#### Редакционная группа:

Заместитель главного редактора Сергей Сверчков, Лариса Деева, Владимир Ларин, Андрей Соболевский, Татьяна Урбах, Любовь Батраева, Юлия Андреева.

#### Фото

авторов представленных материалов и из открытых источников.

#### Дизайн:

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет архитектуры, дизайна и искусств имени А.Д. Кряжкова» ректор Багрова Наталья, арт-директор Чешева Татьяна, дизайнеры: Теряева Анна, Перегудова Вероника, Юнг Виктория, Кирпичникова Снежана.

#### Свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС 77-82311

от 03.12. 2021 г. выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Адрес редакции: 630090, Россия, Новосибирск,  
проспект Лаврентьева, 17, каб. № 224, тел.: 8 (383) 217-45-78,  
e-mail: l.batraeva@sb-ras.ru

Отпечатано в ООО «Новосибирский издательский дом»  
630048, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 104  
Тел.: (383) 299-29-80, e-mail: knjigosibirsk@yandex.ru  
http://книгосибирск.рф/

Подписано в печать 14.11.2022

Бумага мелованная. Печать офсетная.

Тираж 800 экз. Свободная цена.

Перепечатка материалов только с письменного разрешения редакции.  
Изданию присвоен номер ISSN: 2782-4969

© Сибирское отделение РАН, 2022









## обращение главного редактора

4

## экспертные статьи

6

## биомедицина и фармакология

18

## В номере

**стр. 4** Обращение главного редактора академика В. Н. Пармона

**стр. 6** Практическое использование генетических технологий в Беларуси. Опыт сотрудничества с Российской Федерацией

**стр. 11** Научное братство

**стр. 18** Метод выявления вероятности развития остеопороза с патологическими переломами

**стр. 24** Фармакогенетический подход в оценке риска лекарственных осложнений при терапии шизофрении

**стр. 28** Разработка способа количественной оценки генетической предрасположенности к развитию полигенных патологий

**стр. 31** Использование полноэкзомного секвенирования для диагностики сложных случаев в педиатрии

**стр. 35** Молекулярный тест для дооперационной диагностики узловых образований щитовидной железы

**стр. 39** Углеродминеральные сорбенты на основе оксида алюминия СУМС-1

**стр. 41** Прорывные разработки Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН в области биофармацевтики и биомедицины

**стр. 46** Способ выявления мутаций 2282del4, R501X, R2447X в гене филаггрина (FLG) при вульгарном ихтиозе и атопическом дерматите

**стр. 48** Технология молекулярно-генетической диагностики семейной гиперхолестеринемии методом таргетного высокопроизводительного секвенирования

**стр. 51** Способ выявления мутации p.L265P в гене MYD88

**стр. 53** Технология диагностики и персонализированной терапии моногенных форм сахарного диабета

**стр. 56** Технология лечения злокачественных новообразований «Каранакан»

**стр. 64** Персонализированные технологии прогноза социально значимых заболеваний человека на основе молекулярно-генетических маркеров






## генетика животных

68

**стр. 68** Центр генетических ресурсов лабораторных животных — ключевая инфраструктура в импортозамещении модельных организмов для биоиспытаний

**стр. 70** Использование генетических маркёров в животноводстве



## сельскохозяйственная генетика и биотехнология растений

78

**стр. 78** Молекулярно-цитогенетические методы, направленные на создание эффективной технологии получения гибридов тритикале и секалотритикум

**стр. 83** Молекулярная генетика злаковых и плодовых культур для решения практических вопросов в сельском хозяйстве

**стр. 87** Тест-система для экспресс-диагностики смешанных инфекций лесных древесных растений

**стр. 96** Разработка и внедрение комплекса селекционно-генетических технологий и создание на их основе сортов зерновых культур, адаптированных к различным экологическим зонам

**стр. 99** Применение биотехнологии соматического эмбриогенеза в качестве основы для программы MVF в России

**стр. 103** Биотехнология получения посадочного материала перспективных для сибирского региона сортов голубики топяной и ее гибридов



## молекулярные биотехнологии

110

**стр. 110** Производство ферментных препаратов для нужд биотехнологии

**стр. 114** Геномные биотехнологии для животноводства в Беларуси



## биоинформатика

122

**стр. 122** ANDSsystem: когнитивная система для реконструкции и анализа графа знаний (генных сетей) на основе автоматического извлечения знаний из текстов научных публикаций, патентов и фактографических баз данных

**стр. 126** ANDDigest — система семантического поиска информации в научных статьях и патентах на основе методов автоматического анализа текстов и машинного обучения





# 1

---



# Биомедицина и фармакология

18	Метод выявления вероятности развития остеопороза с патологическими переломами
24	Фармакогенетический подход в оценке риска лекарственных осложнений при терапии шизофрении
28	Разработка способа количественной оценки генетической предрасположенности к развитию полигенных патологий
31	Использование полноэкзомного секвенирования для диагностики сложных случаев в педиатрии
35	Молекулярный тест для дооперационной диагностики узловых образований щитовидной железы
39	Углеродминеральные сорбенты на основе оксида алюминия СУМС-1
41	Прорывные разработки Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН в области биофармацевтики и биомедицины
46	Способ выявления мутаций 2282del4, R501X, R2447X в гене филаггрина (FLG) при вульгарном ихтиозе и атопическом дерматите
48	Технология молекулярно-генетической диагностики семейной гиперхолестеринемии методом таргетного высокопроизводительного секвенирования
51	Способ выявления мутации p.L265P в гене MYD88
53	Технология диагностики и персонализированной терапии моногенных форм сахарного диабета
56	Технология лечения злокачественных новообразований «Каранахан»
64	Персонализированные технологии прогноза социально значимых заболеваний человека на основе молекулярно-генетических маркеров

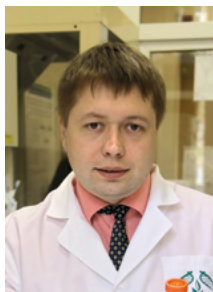
# МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ ОСТЕОПОРОЗА С ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ ПЕРЕЛОМАМИ



Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси»  
ул. Академическая, 27, г. Минск, Беларусь, 220072

## Морозик Павел Михайлович

заместитель директора по научной работе, кандидат биологических наук, доцент  
тел.: +375-173-52-18-48, +375-298-90-02-26,  
P.Marozik@igc.by



Морозик Павел Михайлович,  
заместитель директора по научной работе, кандидат биологических наук, доцент



Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»  
ул. П. Бровки, 3, корпус 3, г. Минск, Беларусь, 220013

## Руденко Елена Викторовна

доцент кафедры, кандидат медицинских наук, доцент кафедры кардиологии и ревматологии  
тел.: +375-296-05-76-83, alenka.v.ru@gmail.com



Руденко Елена Викторовна,  
доцент кафедры кардиологии и ревматологии, кандидат медицинских наук, доцент

Остеопороз (ОП) является заболеванием костной системы, характеризующимся низкой костной массой, микроархитектурными нарушениями структуры костной ткани с последующим повышением хрупкости костей и подверженностью патологическим переломам. ОП не только является основной причиной переломов, но и относится к числу заболеваний, приводящих к снижению качества жизни пациентов, формированию инвалидности и увеличению смертности, особенно среди пожилых людей. Социальная значимость и высокие экономические затраты на лечение ОП образуют широкое поле

для разработки новых подходов профилактики данной патологии на доклиническом этапе, что является одной из приоритетных задач здравоохранения в поддержании здоровья и качества жизни населения во многих странах.

Выявление людей со сниженной минеральной плотностью костной ткани представляет определенную сложность, поскольку процессы снижения костной массы в организме долгое время протекают медленно и бессимптомно. Данные изменения можно наблюдать лишь при лабораторно-инструментальном обследовании в специализированных центрах с проведением денситометрии. Информация о генетической предрасположенности к костным переломам в этом аспекте поможет сформировать группы повышенного риска и целенаправленно проводить комплексные мероприятия по профилактике ОП и низкоэнергетических переломов.



Цель работы – разработка методики оценки риска костных переломов у женщин с остеопорозом с учетом клинических, лабораторно-инструментальных и молекулярно-генетических маркеров.

В рамках задания 6.3 «Генетические аспекты костно-мышечной системы» Научно-технической программы Союзного государства «ДНК-идентификация» в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси (г. Минск) совместно с Белорусской медицинской академией последипломного образования (г. Минск) проведен ряд исследований, направленных на разработку метода выявления вероятности развития остеопороза с патологическими переломами. В исследование было включено 620 белорусских женщин, из них 456 с ОП и 164 контрольной группы, которым было проведено клиническое обследование, а также генотипирование по 57 полиморфных вариантам, локализованным в 28 генах, вовлеченных в метаболизм костной ткани:  $\alpha$ 1-цепи коллагена I типа (COL1A1),  $\alpha$ 2-цепи коллагена I типа (COL1A2), рецептора витамина D (VDR), рецептора эстрогена (ESR1, ESR2), метилен-тетрагидро-фолатредуктазы (MTHFR), склеростина (SOST), паратиреоидного гормона (PTH), рецептора кальцитонина (CALCR), белка 5, родственного белкам семей-

ства рецептора липопротеинов низкой плотности (LRP5), остеопротегерина (OPG), лиганда рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B (RANKL), белка 4 сигнального пути Wnt (WNT4), костного морфогенетического белка 2 типа (BMP2). По результатам анализа ассоциации выявлено высокоинформативных генетических маркеров: 11 – риска остеопороза, 7 – уровня минеральной плотности костной ткани, 4 – дефицита витамина D. Кроме того, статистически значимая ассоциация с риском костных переломов выявлена для восьми локусов пяти генов: COL1A1 rs1800012, COL1A2 rs42517, VDR rs7975232, rs1544410, rs731236, ESR1 rs9340799, rs2234693 и MTHFR rs1801133.

Наиболее важными результатами выполненных исследований являются данные, полученные в ходе предварительных клинических испытаний разработанного метода оценки вероятности костных переломов. Разработана балльная система, согласно которой оценка индивидуального генетического риска (GRS) осуществлялась с использованием множественного логистического регрессионного анализа: минимальный коэффициент, для которого была выявлена статистически значимая ассоциация с риском патологических костных переломов (для rs2234693 T/T он составил 1,24), был принят

#### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, ВКЛЮЧЕННЫЕ В МОДЕЛЬ ОЦЕНКИ ВЕРОЯТНОСТИ КОСТНЫХ ПЕРЕЛОМОВ, А ТАКЖЕ КОЭФФИЦИЕНТЫ ЛОГИСТИЧЕСКОЙ РЕГРЕССИИ И РАССЧИТАННЫЕ ПО НИМ БАЛЛЫ GRS

Ген, вариант	Генотип	Коэффициент логистической регрессии	OR (95% ДИ)	p	GRS (баллы)
COL1A1 rs1800012	A/A	3,37	4,1 (1,2-14,4)	0,02	3
COL1A2 rs42517	G/G	2,84	3,2 (1,6-6,5)	0,0005	2
VDR rs7975232	A/A	2,36	2,8 (1,6-5,1)	0,00019	2
VDR rs1544410	T/T	3,19	4,0 (2,2-7,5)	0,000006	3
VDR rs731236	G/G	2,43	2,8 (1,6-4,8)	0,0001	2
ESR1 rs9340799	G/G	-1,45	0,5 (0,3-0,9)	0,03	-1
ESR1 rs2234693	T/T	1,24	1,8 (1,1-3,0)	0,02	1
MTHFR rs1801133	A/A	2,81	3,4 (1,9-5,9)	0,00001	2

за 1 балл, остальные коэффициенты пропорционально пересчитаны и округлены до целого значения: rs1800012 A/A и rs1544410 T/T – по 3 балла, rs42517 G/G, rs7975232 A/A, rs731236 G/G и rs1801133 A/A – по 2 балла, rs9340799 A/G и G/G по «-1» баллу.

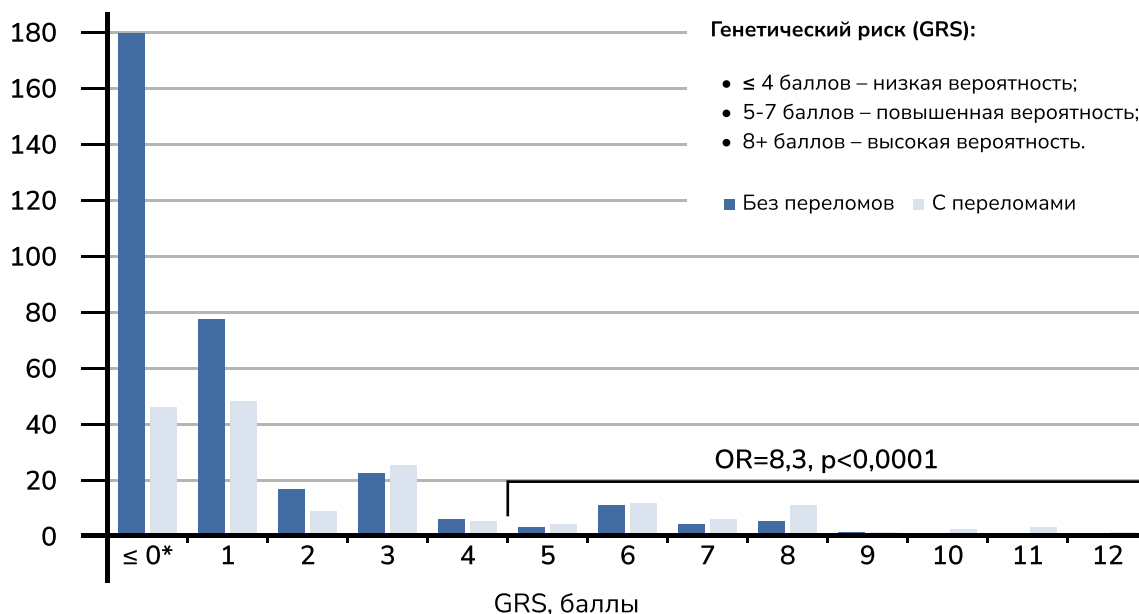
Проведенная апробация разработанной модели показала, что при значении риска костных переломов 5 баллов и выше число лиц с костными переломами превышает количество таковых без переломов, а при 8 баллах и выше лиц без переломов практически не встречается. На основании этого показатель взвешенного риска до 4 баллов включительно принят за общепопуляционный (такой риск включает 95 % лиц без переломов), от 5 до 7 баллов – повышенный, 8 и более баллов – высокий.

Разработанная в рамках настоящего исследования модель прогнозирования взвешенного риска патологических костных переломов имеет очень хорошую диагностическую и прогностическую ценность, AUC = 0,81 (95 % ДИ 0,75–0,88). Модель также характеризуется высокой чувствительностью (90,7 %), средней специфичностью (66,7 %) и хорошей точностью (77,5 %). Средняя специфичность свидетельствует о том, что модель может быть доработана с помощью других генетических или клинических показателей, включая алгоритм FRAX.

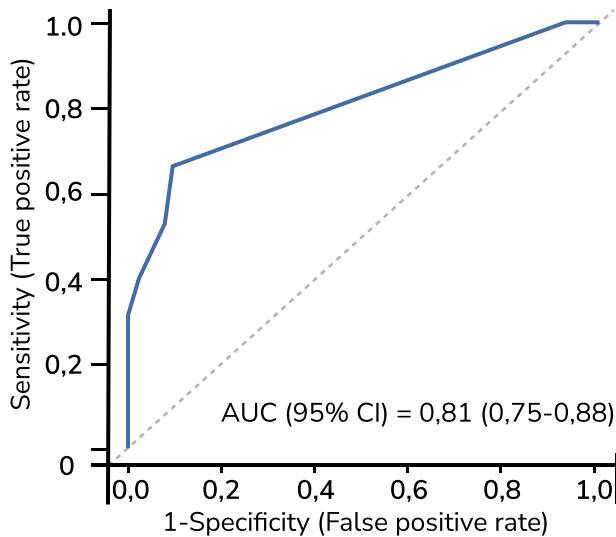
По результатам проведенных исследований разработан алгоритм выявления вероятности развития остеопороза и патологических переломов, включающий пять основных этапов:

1. Оценка антропометрических показателей, данных объективного обследования с использованием инструмента для оценки вероятности переломов FRAX®.
2. Оценка результатов рентгенологических методов исследования.
3. Оценка лабораторных показателей.
4. Определение генетических маркеров предрасположенности к развитию остеопороза и патологических переломов.
5. Интерпретация результатов молекулярно-генетического тестирования.
6. Проведение комплексной оценки клинических, лабораторных данных, результатов рентгеновской денситометрии и морфометрии, молекулярно-генетических факторов вероятности остеопороза и патологических переломов с целью определения тактики наблюдения и мероприятий по медицинской профилактике и лечению.

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ УЧАСТНИКОВ ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА (GRS) КОСТНЫХ ПЕРЕЛОМОВ**







Оценка прогностической ценности разработанной модели оценки взвешенного индивидуального риска костных переломов с помощью ROC-кривой с расчетом площади под кривой (AUC).

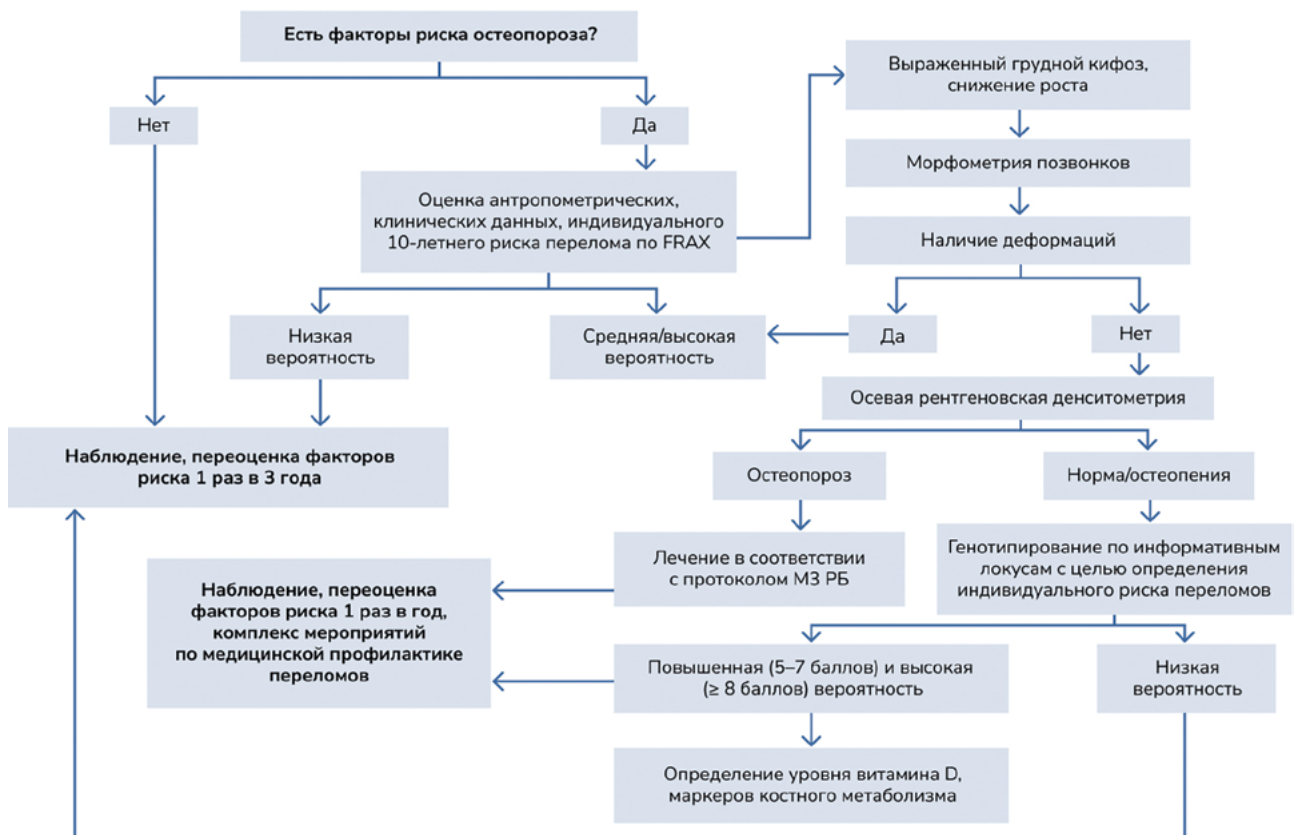
### Суть технологии

Проведение тестирования по информативным генетическим маркерам в комплексе с клиническими и лабораторно-инструментальными показателями позволит оценить индивидуальную вероятность развития тяжелого остеопороза и/или костных переломов и провести своевременные профилактические мероприятия.

Применение данной технологии позволяет:

- оценить индивидуальный риск развития тяжелого остеопороза,
- повысить точность ранней диагностики,
- оптимизировать лечение пациентов,
- минимизировать выход на инвалидность,
- обеспечить возможность экономии государственных средств,
- добиться прогресса в борьбе с патологическими переломами и инвалидизирующими осложнениями заболеваний.

### АЛГОРИТМ ВЫЯВЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ ОСТЕОПОРОЗА И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПЕРЕЛОМОВ



Стадия разработки проекта: высокая. В настоящий момент разработка применяется в Республиканском центре геномных биотехнологий НАН Беларуси для оказания услуг населению по генетическому тестированию. По результатам научной деятельности коллектива разработанный метод внедрен в клиническую практику Минского городского центра остеопороза и болезней костно-мышечной системы Первой городской клинической больницы и в работу Белорусского государственного медицинского университета, получено удостоверение на рационализаторское предложение БелМАПО.

### Необходимые доработки опытного образца

Разработка мультиплексной тест-системы анализа генетических маркеров для ускорения и удешевления этапа генетического тестирования.

### Преимущества и уникальность

Создание эффективных алгоритмов определения суммарного риска патологии расширит показания к применению инновационных технологий в медицине, позволит получать индивидуальные, максимально реалистичные данные для выявления высокой вероятности развития остеопороза, что достигается включением в модель расчета риска, в том числе генетических показателей, обладающих высокой прогностической значимостью. В отличие от других предлагаемых методик по генетическому тестированию разработанный метод учитывает индивидуальный вклад каждого маркера в общую вероятность костных переломов.

### Методические рекомендации по новой медицинской технологии

На основании выполненных исследований в Министерстве здравоохранения Республики Беларусь утверждена инструкция по применению «Метод выявления вероятности развития остеопороза с патологическими переломами», авторы: д.м.н., профессор Руденко Э.В., к.б.н., доцент Морозик П.М., к.м.н., доцент Руденко Е.В., к.м.н. Самоховец О.Ю., Кобец Е.В. Рег. № 118–1021, дата утверждения 08.12.2021.

### Области применения

Здравоохранение, персонализированная медицина.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



### МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ ОСТЕОПОРОЗА С ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ ПЕРЕЛОМАМИ (инструкция по применению)

**УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:** государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», учреждение здравоохранения «1-я городская клиническая больница» г.Минска

**АВТОРЫ:** д.м.н., профессор Руденко Э.В., к.б.н., доцент Морозик П.М., к.м.н., доцент Руденко Е.В., к.м.н. Самоховец О.Ю., Кобец Е.В.

Минск, 2021

1



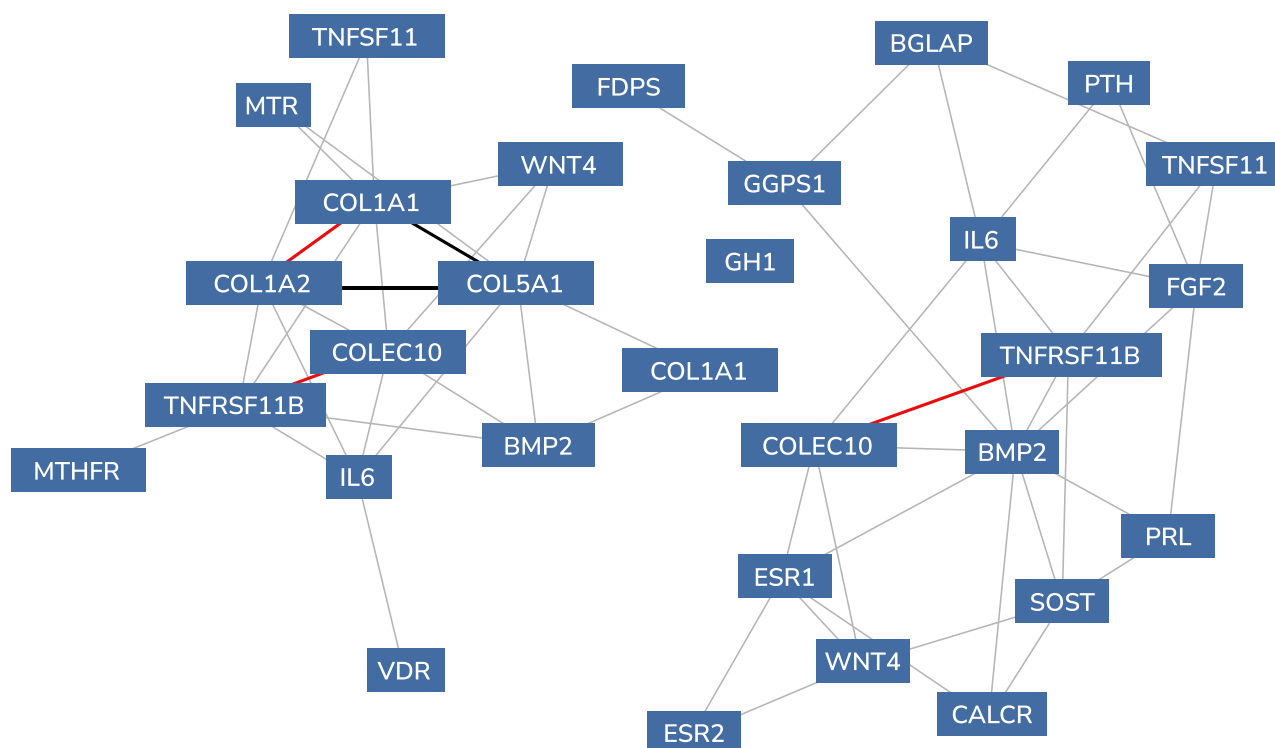
2

1. Методические рекомендации по разработанной медицинской технологии «Метод выявления вероятности развития остеопороза с патологическими переломами (инструкция по применению)».

2. Удостоверение на рационализаторское предложение «Алгоритм диагностики наследственной предрасположенности к развитию тяжелого остеопороза».



ГЕННАЯ СЕТЬ, ВОВЛЕЧЕННАЯ В МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ,  
ВКЛЮЧЕННАЯ В ИССЛЕДОВАНИЕ (ГЕНЫ БЕЛКОВ КОСТНОГО МАТРИКСА,  
ГЕНЫ, КОДИРУЮЩИЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ, ГЕНЫ ГОРМОНОВ И  
ГОРМОНАЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И ГЕНЫ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА)



### Целевые потребители

Метод предназначен для врачей-генетиков, врачей-гериатров, врачей общей практики, врачей по медицинской профилактике, врачей-реабилитологов, врачей-ревматологов, врачей-травматологов-ортопедов, врачей-эндокринологов и других врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с остеопорозом в стационарных и амбулаторных условиях.

### Основные публикации

Коллективом авторов опубликовано 7 научных статей по теме исследования, в том числе 3 в журналах

первого квартиля (Q1) международной базы данных Scopus и WOS (Frontiers in Endocrinology, PLOS One, Nutrients).

### Предполагаемый интерес для внедрения.

При внедрении в трансляционную, персонализированную и профилактическую медицину разработка позволит выйти на новые технологические подходы к профилактике и лечению костно-мышечной патологии в условиях ревматологических и травматологических отделений республиканских и частных медицинских учреждений, научных институтов, медицинских университетов, что ведет к снижению медико-социальной нагрузки и затрат на лечение и реабилитацию пациентов с остеопорозом ■

# ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД В ОЦЕНКЕ РИСКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ТЕРАПИИ ШИЗОФРЕНИИ



Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» ул. Франциска Скорины, 34, г. Минск, Беларусь, 220141

## Давыденко Олег Георгиевич

главный научный сотрудник, доктор биологических наук, член-корреспондент НАН Беларуси cytoplasmic@mail.ru

## Голоенко Инесса Михайловна

ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук

## Синявская Марина Георгиевна

заведующая лабораторией нехромосомной наследственности, кандидат биологических наук

## Левданский Олег Дмитриевич

старший научный сотрудник, кандидат биологических наук

## Кондратенко Анна Сергеевна

младший научный сотрудник



Белорусский государственный медицинский университет, проспект Дзержинского, 83, г. Минск, Беларусь, 220116

## Объедков Виктор Георгиевич

ведущий научный сотрудник, кандидат медицинских наук, доцент obyedkovvg@gmail.com

## Горгун Олег Викторович

научный сотрудник oleggorgun@gmail.com



Горгун Олег Викторович, научный сотрудник



Голоенко Инесса Михайловна, ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук



Объедков Виктор Георгиевич, ведущий научный сотрудник, кандидат медицинских наук, доцент

Предикция экстрапирамидных осложнений терапии антипсихотиками с учетом индивидуальных особенностей пациента в целях повышения качества его жизни и социальной адаптации. На основании ДНК-маркеров проводится определение особенностей метаболизма пациента с шизофренией, что является отправной точкой для подбора лекарственного препарата и снижения возможных лекарственно-индуцированных нарушений.



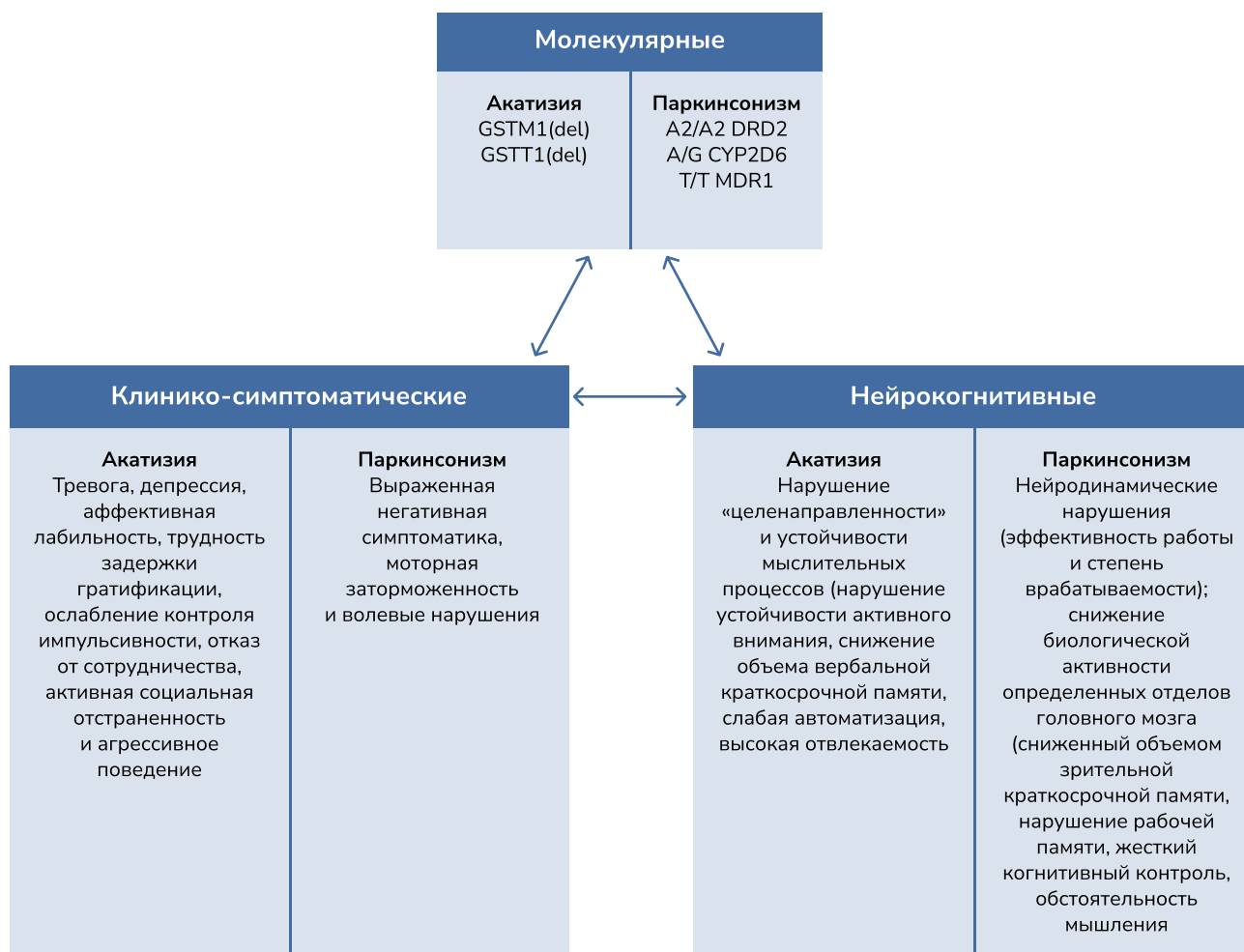
Осуществляемая коллективом ученых Института генетики и цитологии НАН Беларуси и Белорусского государственного медицинского университета программа исследований направлена на создание фармакогенетической панели молекулярных маркеров, позволяющих дифференцированно осуществлять предикцию таких острых лекарственно-индуцированных экстрапирамидных осложнений, как паркинсонизм и акатизия, для персонализированного выбора лекарственной антипсихотической терапии.

В результате исследований на основе фармакогенетической платформы был разработан способ, позволяющий выявлять наиболее распространенные для европейского населения генетические маркеры риска акатизии и паркинсонизма. Основанный на современных и до-

ступных молекулярно-генетических методах, разработанный коллективом подход позволяет осуществлять необходимый уровень прогноза возникновения лекарственно-индуцированных осложнений, которые до сих пор, несмотря на широкое применение при лечении шизофрении атипичных антипсихотиков, являются основным фактором отказа пациентов от приема психотропных лекарств.

Проводимые в настоящее время молекулярно-генетические, клиничко-нейропсихологические и психофизиологические исследования показали возможность дифференцирования по генетическим и клиническим маркерным профилям двух видов осложнений, острых лекарственных акатизии и паркинсонизма, и подтвердили отдельные патогенетические механизмы, лежащие

### МАРКЕРЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ АНТИПСИХОТИК-ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭКСТРАПИРАМИДНЫХ РАССТРОЙСТВ



в их основе. Молекулярно-генетическими маркерами риска лекарственно-индуцированной акатизии являются делеции в генах ферментов глутатион-S-трансфераз GST-M1, GST-T1 системы детоксикации ксенобиотиков, встречающиеся среди жителей Беларуси с частотой 42,2 % и 21,6 %. Молекулярно-генетическими маркерами риска лекарственно-индуцированного паркинсонизма являются генотип A2A2 полиморфного локуса Taq1A (rs1800497) гена DRD2/ANKK1 дофаминового рецептора второго типа, аллель A и генотип A/G полиморфного локуса CYP2D6\*4 гена фермента цитохрома P 450, генотип T/T полиморфного локуса rs1045642 (C3435T) гена P-гликопротеина MDR1.

Для оценки степени генетически обусловленного риска данных видов осложнений при антипсихотической терапии шизофрении установлены частоты встречаемости в популяции белорусов маркерных полиморфных локусов, составляющие для генотипа A2/A2 локуса Taq1A (rs1800497) гена DRD2/ANKK1 65,9 %; для аллеля A и генотипа A/G локуса CYP2D6\*4 22,9 % и 32,1 %; для генотипа T/T локуса rs1045642 (C3435T) гена MDR1 29,5 %.

Выявленные впервые совместно с НИЧ ГУО БГМУ молекулярные, клиничко-симптоматические и нейрокогнитивные маркеры позволяют проведение клинической диагностики и фармакогенетического тестирования для предупреждения и лечения антипсихотик-индуцированных экстрапирамидных расстройств у жителей Беларуси с целью повышения эффективности пациент-ориентированной терапии в психиатрии (рисунок 1). В рамках проекта создана база данных генетического полиморфизма больных шизофренией с антипсихотик-индуцированными экстрапирамидными осложнениями (№ 1341816971 от 20.11.2018), которая, несомненно, будет представлять интерес для специалистов.

### Преимущества и уникальность

Данная разработка решает проблему прогнозирования возникновения острых экстрапирамидных расстройств при терапии шизофрении лекарственными средствами из группы антипсихотиков и таким образом позволит улучшить качество и снизить затраты на лечение пациентов с шизофренией.

Практическая значимость работы заключается в перспективе более точного адресного применения алгоритмов клинического протокола ока-



Регистрационное свидетельство на Базу данных о генетическом полиморфизме локусов нейрометаболизма и детоксикации у лиц с антипсихотик-индуцированными экстрапирамидными осложнениями

зания медицинской помощи пациентам с психическими и поведенческими расстройствами.

По данным исследования подан и принят патент на изобретение (№ 23243 от 20.10.2020, Республика Беларусь).

### Контекст

Применение фармакогенетики в психиатрии сегодня очень актуально и имеет большие перспективы. Создание и внедрение в клиническую практику нейролептических препаратов (антипсихотиков) в середине XX столетия стало настоящей революцией в психиатрии и психофармакологии. Впервые стало возможным разработать принципы и методы рациональной фармакотерапии шизофрении и других форм психической патологии.

Несмотря на это, терапия значительной доли больных сегодня сопряжена как с различными побочными эффектами, так и с отсутствием от-



вета на используемое лекарственное средство. Показатель резистентности к проводимому лечению нейролептиками, по различным данным, составляет 30–40 %. Отдельные препараты вызывают развитие ряда серьезных побочных эффектов, отрицательные последствия которых во многих случаях существенно перевешивают их положительное клиническое действие (экстрапирамидные побочные эффекты, злокачественный нейролептический синдром, кардиотоксичность и др.).

Таким образом, сегодня безопасность психофармакотерапии зачастую является более значимой и актуальной, чем ее эффективность, а применение фармакогенетического генотипирования в ряде случаев — необходимым условием успешной терапии. Подход, предлагаемый в вышеописанной разработке, является поэтому актуальным и востребованным. Он способствует повышению эффективности ответа на терапию, сокращению периода и средств госпитализации ■



Сотрудники лаборатории нехромосомной наследственности ИГиЦ НАН Беларуси, занимающиеся молекулярной генетикой человека.

**Нижний ряд (справа налево):**

Голоенко И. М. – ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук;  
 Даниленко Н. Г. – доцент, главный научный сотрудник, кандидат биологических наук;  
 Синявская М. Г. – заведующий лабораторией, кандидат биологических наук;  
 Александрович В. В. – магистрант;  
 Иванова А. С. – аспирант.

**Верхний ряд:**

Давыденко О. Г. – член-корреспондент НАН Беларуси, профессор, главный научный сотрудник;  
 Левданский О. Д. – старший научный сотрудник, кандидат биологических наук;  
 Шатарнов О. П. – научный сотрудник;  
 Зайцев Н. К. – младший научный сотрудник.

# РАЗРАБОТКА СПОСОБА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ ПОЛИГЕННЫХ ПАТОЛОГИЙ



Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси  
ул. Академическая, 27,  
г. Минск, Беларусь, 220072

## Моссэ Ирма Борисовна

главный научный сотрудник лаборатории генетики человека, доктор биологических наук, профессор  
тел. +375-17-284-26-91, i.mosse@igc.by

## Седляр Никита Геннадьевич

научный сотрудник лаборатории генетики человека  
тел. +375-295-21-96-74, n.osennij@gmail.com



Моссэ Ирма Борисовна,  
главный научный  
сотрудник лаборатории  
генетики человека,  
доктор биологических  
наук, профессор

Суть метода заключается в возможности количественно определить риск развития различных полигенных заболеваний. Реализация метода представляет собой определение в генотипе пациента наличия полиморфных вариантов генов, ассоциированных с риском развития конкретной патологии, и последующую количественную оценку риска: каждый аллельный вариант гена в отдельности и в комплексах генов риска оценивается определённым количеством баллов согласно коэффициенту риска, а полученная сумма этих баллов сравнивается с аналогичной суммой баллов в контрольной группе. Полученное в результате значение показывает, во сколько раз увеличен риск развития данного заболевания.

Способ оценки генетической предрасположенности был разработан нами на примере риска невынашивания беременности. В исследовании приняли участие 2952 женщины, у которых были диагностированы две и более невыношенных беременностей, не имеющие детей (далее пациентки), и 646 женщин, имеющих не менее двух благополучно выношенных и рождённых детей. Для исследования был отобран

31 полиморфный вариант генов, ассоциированных с процессами беременности (гены систем гемостаза, регуляции артериального давления, ангиогенеза, метаболизма фолатов), проведено генотипирование образцов.

Установлено, что вклад отдельных генных вариантов риска потери беременности невысок (статистически редко выявляем). Поэтому представляло интерес сопоставить количество предполагаемых факторов риска в группе пациенток и в контрольной группе, а также исследовать их взаимодействие между собой.

Мы провели анализ распределения частот генотипов с разным количеством факторов риска невынашивания беременности в группах сравнения. В генотипах пациенток количество факторов риска оказалось значимо больше, чем в генотипах контрольной группы (Манна-Уитни  $p = 0,0002$ ).

В группе пациенток генотипы с низким количеством факторов риска (от 2 до 5) встречаются в 25,4 % случаев, а в контрольной группе — в 47,5 %. От 6 до 9 факторов риска обнаружены



в генотипах группы пациенток в 65,2 % случаев, в контрольной группе – в 49,7 %. Высокое количество факторов риска (от 10 до 14) в генотипах пациенток встречается в 10,3 % случаев, а в контрольной группе только в 2,8 %. Можно сделать вывод, что чем больше в генотипе аллельных вариантов, ассоциированных с нарушениями течения беременности, тем выше риск невынашивания.

В то же время при оценке генетического риска мультифакторных патологий необходимо учитывать, что генетическая предрасположенность зависит не только от количества в генотипе отдельных неблагоприятных аллельных вариантов генов, но также от их взаимодействия. Вклад комплексов генов может значительно превышать сумму вкладов отдельных полиморфизмов. В этой связи были проанализированы все возможные комбинации из 31 гена по парам, триплетам и квартетам.

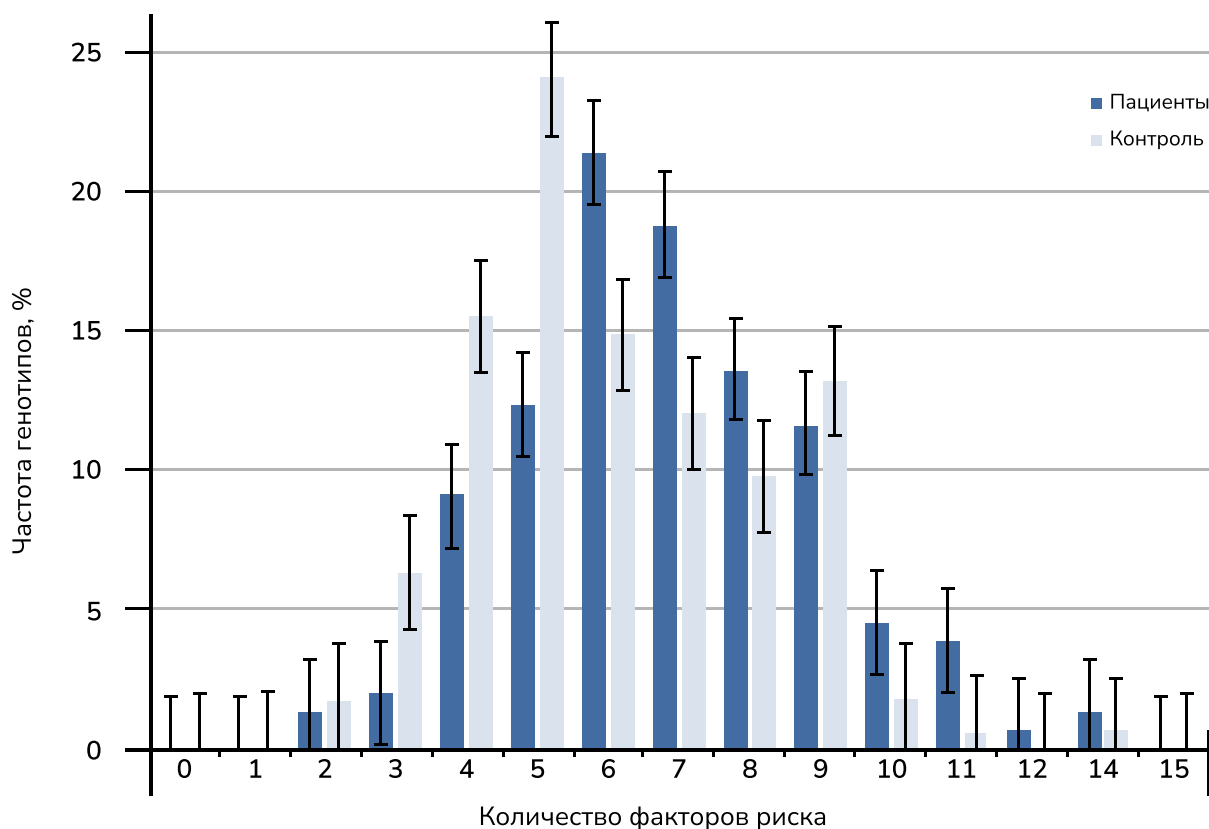
С целью автоматизации процесса поиска прогностически значимых комплексов была разработана специальная компьютерная программа,

которая позволила эффективно выявлять наиболее информативные сочетания генов. С помощью этой программы проанализировано 3 764 376 комплексов генов и выявлено 11 комплексов генов риска потери беременности с высокой статистической значимостью. Разработанная программа может использоваться для поиска информативных комплексов риска развития не только невынашивания беременности, но и других мультифакторных патологий.

Для количественной оценки предрасположенности к развитию патологии риск гомозиготного варианта был условно оценен в 10 баллов, а гетерозиготного соответственно в 5 баллов. Уровень риска комплексов генов оценивали согласно рассчитанному отношению шансов (OR) – каждый комплекс оценивали количеством баллов согласно его OR.

При генотипировании образцов ДНК выявляли в каждом из них единичные факторы и комплексы факторов риска и суммировали баллы. Суммы баллов риска, рассчитанных для каждого генотипа, сравнивали со средней суммой бал-

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ (В %) С РАЗНЫМ КОЛИЧЕСТВОМ ФАКТОРОВ РИСКА НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ И ГРУППЕ ПАЦИЕНТОК



лов, определенной таким же способом в контрольной группе, что позволило количественно определять уровни риска развития патологии для каждой женщины.

Способ был апробирован при количественной оценке риска развития патологий сердечно-сосудистой системы (инфаркта миокарда, флеботромбоза, фибрилляции предсердий и тромбоза легочной артерии) и может быть использован для определения генетической предрасположенности к развитию различных мультифакторных патологий.

В случае выявления высокого риска развития социально значимых патологий назначается профилактический и/или лечебный курс соответствующей терапии, что позволяет значительно уменьшить процент развития патологий или своевременно начать лечение.

### Преимущества и уникальность

В отличие от ряда других схожих работ представленный метод оценивает гораздо большее количество факторов риска – учитывается не только вклад отдельных факторов риска, но и взаимодействие генов в комбинациях, а реализация способа предельно проста.

Процедура оценки риска невынашивания беременности подробно описана в инструкции по применению «Метод определения вероятности невынашивания беременности» (Метод определения вероятности невынашивания беременности (инструкция по применению) / М-во здравоохранения Респ. Беларусь; А. В. Кильчевский, И. Б. Моссэ, Э. В. Дашкевич, И. В. Курлович, Н. Г. Седляр, М. В. Белуга, В. В. Веремеева. – Минск: [б.и.], 2021. – 19 с.).

Способ используется в работе Республиканского научно-практического центра «Мать и дитя» Министерства здравоохранения Республики Беларусь, а также в Республиканском Центре геномных биотехнологий Института генетики и цитологии НАН Беларуси.

**Наличие опытных образцов, результатов их испытаний, оценка уровня готовности технологии (TRL), необходимые доработки, оценка стоимости доработок**

Способ доработан и апробирован для количественной оценки риска развития невынашивания беременности и заболеваний сердечно-

сосудистой системы (инфаркта миокарда, флеботромбоза, фибрилляции предсердий и тромбоза легочной артерии).

### Возможный экономический эффект

Экономические потери в связи с развитием полигенных патологий значительны. Например, финансовые затраты по случаю потери беременности в среднем на одного человека составляют примерно 350 \$ (затраты на стационарное лечение, стоимость лекарственных средств, средний размер пособий по временной нетрудоспособности). Если с помощью генетического тестирования положительный исход беременности у обследованных пациенток с выявленным высоким риском невынашивания после проведения соответствующей терапии составит хотя бы 85 % (по нашим данным 85,2 % женщин с привычными выкидышами успешно родили детей после нашего молекулярно-генетического исследования и адекватного лечения), то при обследовании 2 000 человек экономия для 1700 успешно родивших женщин составит примерно \$595 000. Кроме того, профилактика осложнений и коррекция эффектов выявленных генов риска с помощью соответствующей терапии позволят повысить рождаемость и улучшить демографическую ситуацию в стране.

Аналогичные расчёты можно провести для любой полигенной патологии ■



Янчук Евгения Петровна,  
магистрант лаборатории генетики человека  
Института генетики и цитологии НАН Беларуси



# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СЛОЖНЫХ СЛУЧАЕВ В ПЕДИАТРИИ



Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», ул. Академическая, 27, г. Минск, Беларусь, 220072

## **Кильчевский Александр Владимирович**

научный руководитель лаборатории, академик НАН Беларуси, профессор, доктор биологических наук, тел. +375-297-489-066, Kilchev@presidium.bas-net.by

## **Михаленко Елена Петровна**

ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук тел. +375-297-670-926, E.Michalenko@igc.by

## **Мазур Оксана Чеславовна**

научный сотрудник тел. +375-336-673-154, O.Mazur@igc.by

## **Мальшева Ольга Михайловна**

младший научный сотрудник тел. +375-447-371-776, O.Malysheva@igc.by

В последние десятилетия наблюдается неуклонное снижение уровня младенческой смертности, однако заболеваемость новорожденных и детей остается стабильно высокой, что вносит значительный вклад в структуру ранней детской инвалидизации. Сегодня детская инвалидность является важнейшей как медико-социальной, так и экономической проблемой, поскольку влечет за собой большие потери для государства, в частности, уменьшает потенциал развития, отрицательно сказывается на производстве как внутреннего валового



Сотрудники Института генетики и цитологии НАН Беларуси в Республиканском центре геномных биотехнологий

продукта, так и национального дохода. Поэтому внедрение принципов персонализированной медицины в клиническую практику является необходимым условием развития современного здравоохранения.

Основой персонализированной медицины является возможность прогнозирования развития и диагностики ряда заболеваний, назначение схемы лечения и коррекция проводимой терапии с учетом индивидуальных особенностей пациента. Объединение и анализ клинической

и генетической информации позволят сократить время на постановку диагноза при редких заболеваниях и оказать наиболее подходящую помощь пациентам. Технология полноэкзомного секвенирования представляет собой важный инструмент современной генетики и персонализированной медицины.

Показаниями для проведения полноэкзомного секвенирования служат подозрение на генетическую этиологию заболевания, для которого нет целевого ДНК-теста, неспецифические симптомы, сложность дифференциальной диагностики, безрезультативность тестов первого уровня (известные ДНК-тесты дали отрицательный результат), к тому же финансовые и временные затраты высокопроизводительного секвенирования ниже множества отдельных тестов.

Реализуемый коллективом ученых лаборатории экологической генетики и биотехнологии Института генетики и цитологии НАН Беларуси, БГМУ и БелМАПО комплекс инновационных исследований направлен на разработку панелей генетических маркеров, позволяющих:

- оценивать риски развития осложнений бронхолегочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорожденных для проведения персонализированной терапии;

- проводить дифференциальную диагностику врожденных аномалий мочевых путей и почек (ВАМП);
- разработать алгоритм оценки вероятности прогрессирования хронической почечной недостаточности у детей с ВАМП;
- проводить генетическую диагностику наследственных заболеваний у детей.

Материалом для молекулярно-генетического исследования служит геномная ДНК, выделяемая из венозной крови. Высокопроизводительное секвенирование полного экзома проводится с использованием протокола Illumina-IDT Exome Enrichment на секвенаторе NextSeq 550 (Illumina) с последующей обработкой полученных данных (fastq-файлы) различными алгоритмами онлайн-платформы Illumina BaseSpace (например, Dragen Enrichment). Аннотирование VCF-файла выполняется с помощью онлайн-ресурса WANNONVAR.

При фильтрации вариантов, ассоциированных с развитием наследственных генетических заболеваний, из полученного списка замен удаляются некодирующие (интронные) и синонимичные варианты без изменения сайтов сплайсинга, варианты с незначительной частотой встречаемости аллелей (MAF), большей или равной 0,5 %, в базе данных ExAc, GnomadGenome, GnomadExome, миссенс-варианты, которые, со-

### ЭТАПЫ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ





## СХЕМА ФИЛЬТРАЦИИ ВАРИАНТОВ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

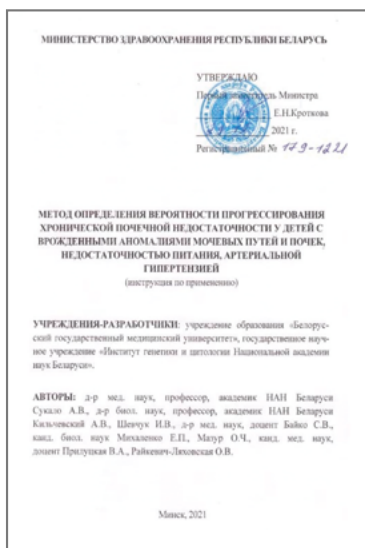


гласно программам предсказания PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), SIFT (<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>) и Mutation Taster (<http://mutationtaster.org/>), не являются патогенными. Для дальнейшей проверки и анализа отбираются обнаруженные варианты в генах, влияющих на функциональную активность их белков, особое внимание уделяется генам, предположительно ассоциированным с клиническими проявлениями заболевания.

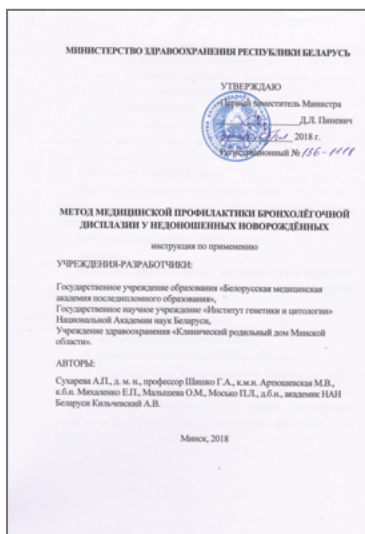
Внедрение полноэкзомного секвенирования в практическое здравоохранение может позволить достичь определенных социально-экономических эффектов: снижения финансовых затрат на диагностику, лечение и реабилитацию пациента, сокращения медика-

ментозной нагрузки на организм ребенка, снижения частоты и тяжести инвалидизации, улучшения качества жизни пациентов.

В качестве примера использования этой технологии в медицинской практике мы представляем клинический случай острой некротизирующей энцефалопатии (ОНЭ). Пациент Д. и пациент Е. являются кровными братом и сестрой. У обоих пациентов на фоне острой респираторной инфекции с температурой до фебрильных цифр наблюдалось появление и прогрессирование неврологической симптоматики (шаткость походки, регресс двигательных навыков, а затем и речи, с постепенным присоединением бульбарных нарушений). В декабре 2021 года после острой респираторной вирусной инфекции про-



1



2



3

1-3. Инструкции по применению, утвержденные Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

изошло ухудшение состояния, повлекшее применение искусственной вентиляции легких и введение детей в медикаментозный сон. Проведение магнитно-резонансной томографии показало двустороннее симметричное поражение белого вещества больших полушарий в субкортикальных отделах в лобных и височных долях, базальных ганглиев, обоих таламусов, обеих ножек мозга, ножек мозжечка. При этом общеклинические анализы крови не выявляли признаки воспаления. Вирусы простого герпеса, Эпштейна-Барр, цитомегаловирус, энтеровирусная инфекция при люмбальной пункции не обнаружены.

Полноэкзомное секвенирование позволило обнаружить гетерозиготный патогенный вариант с.С1754Т (p.T585M) в гене RANBP2. Этот ген на клеточном уровне отвечает за ядерно-цитоплазматический транспорт. Мутации в нем ассоциированы с острой некротизирующей энцефалопатией – редкой, но быстро прогрессирующей энцефалопатией после лихорадочного заболевания, обычно вирусной инфекции. Особенностью лечения ОНЭ, связанной с мутациями RANBP2, является введение кортикостероидов в течение 24 часов после появления симптомов, что улучшает прогноз у детей с данной патологией. Метилпреднизолон, внутривенные иммуноглобулины и другие иммунодепрессанты используются для уменьшения иммуноопосредованного повреждения клеток центральной нервной системы при данном заболевании.

В настоящее время пациенты проконсультированы медицинским генетиком, скорректирована схема лечения, разработан алгоритм профилактики простудных заболеваний. Дети выписаны в удовлетворительном состоянии под наблюдение участкового педиатра и невролога.

**Заключение**

Применение высокотехнологичных тестов в медицине способствует как снижению смертности и инвалидизации пациентов, так и существенной экономии расходов на медицинскую помощь при правильно поставленном диагнозе и тактике лечения.

Результаты нашей работы представлены в трех инструкциях по применению, утвержденных Министерством здравоохранения Республики Беларусь, и используются при оказании медицинской помощи новорожденным и детям в ряде учреждений здравоохранения страны ■

# МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ТЕСТ ДЛЯ ДООПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКИ УЗЛОВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8/2, 630090,

## Титов Сергей Евгеньевич

старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, кандидат биологических наук  
тел. +7-913-776-0820, titovse78@gmail.com

Рак щитовидной железы является самым распространенным заболеванием эндокринной системы и имеет тенденцию к росту во всех странах мира. Он встречается примерно в три раза чаще у женщин, чем у мужчин, и обычно представлен в виде узловых образований. Диагностика узлов щитовидной железы включает в себя ультразвуковое исследование щитовидной железы и лимфатических узлов шеи. Ультразвуковой метод позволяет выявить образования размерами менее 1 см, которые могут не определяться при пальпации; в соответствии с действующими рекомендациями в подобных случаях необходимо выполнить их пункцию под контролем УЗИ с последующим цитологическим исследованием аспирата.

Для классифицирования цитологических диагнозов чаще всего используется The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology, в которой используется шесть диагностических категорий, стратифицированных по риску злокачественности. Хотя цитологическая оценка

во многих случаях является довольно точной, примерно одна треть случаев попадает в неопределенную диагностическую категорию (Bethesda III, IV). В этой гетерогенной группе на основе цитоморфологических характеристик по объективным причинам невозможно точно установить степень злокачественности узла щитовидной железы.

В соответствии с клиническими рекомендациями ВОЗ (2017) большинство пациентов с неопределенным цитологическим заключением направляются на диагностическую операцию или молекулярное тестирование. При этом примерно 70–80 % узлов щитовидной железы по результатам послеоперационного гистологического исследования оказываются доброкачественными. По этой причине молекулярное тестирование все чаще используется для диагностики и оптимизации лечения пациентов с узлами щитовидной железы, которые имеют неопределенный цитологический диагноз.

Основной целью молекулярного тестирования на дооперационном этапе является выявление пациентов, которые могут избежать хирургических операций, при этом с минимумом риска развития рака. Для достижения этой цели требуется, чтобы тест обладал высокой чувствительностью и, соответственно, высокой прогностической ценностью отрицательного результата.

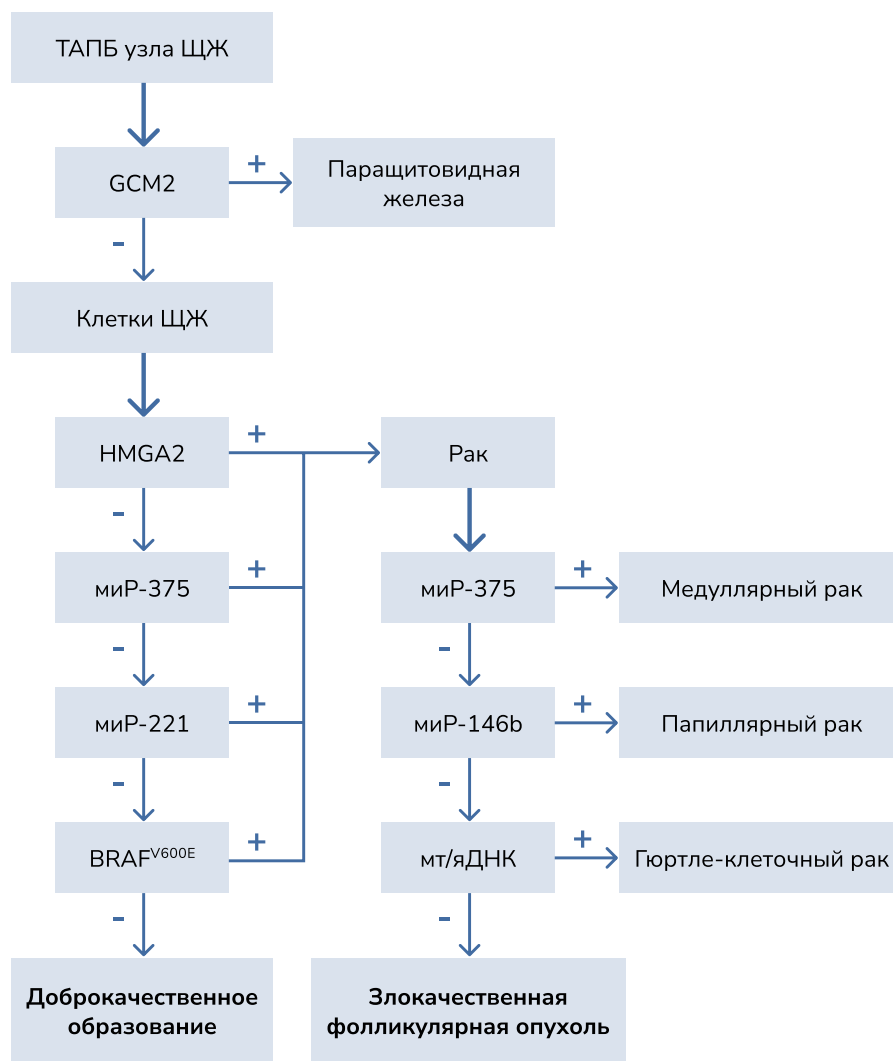
Молекулярное тестирование на данный момент не стандартизовано, используется несколько подходов: выявление соматических точечных замен (например, в генах BRAF и RAS) и транслокаций (например, RET-PTC, PAX8-PPAR $\gamma$ ). Другие подходы подразумевают использование



профиля экспрессии белок-кодирующих генов или микроРНК для диагностики узлов с неопределенным цитологическим заключением. Есть также варианты, объединяющие анализ соматических мутаций, уровней мРНК и микроРНК. Но в целом для современных молекулярных тестов считается важным, чтобы они могли точно отличать поражения паращитовидной железы, медуллярный рак и узловые поражения щитовидной, а среди последних точно выявлять доброкачественные узлы, которые не требуется оперировать.

Основные молекулярные тесты, которые уже на практике используются для диагностики поражений щитовидной железы, соответствуют этим тенденциям. Например, Afirma Genomic Sequencing Classifier (США) включает 8 компонентов: модули паращитовидной железы, медуллярного рака, выявления мутации BRAF V600E, обнаружения транслокаций RET/PTC1 и RET/PTC3, индекс фолликулярного содержания (определяет образцы с низким содержанием клеток щитовидной железы), ансамблевую модель (подозрение на рак/доброкачественный

### АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ УЗЛОВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ПАРАЩИТОВИДНОЙ И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ВЫЯВЛЕНИЯ РЯДА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ



\*(+) и (-) означают наличие или отсутствие повышенной экспрессии генов GCM2, HMGA2 и микроРНК, соотношения мт/яднк, либо наличие/отсутствие мутации V600E в гене BRAF.

образец), индекс клеток Гюртле и индекс неоплазии из клеток Гюртле. Другой молекулярный тест — ThyroSeq v3 (США) состоит из следующих компонентов: выявление клеток парашитовидной железы, С-клеток (медуллярный рак), клеток не щитовидной железы и геномный классификатор (злокачественный/доброкачественный образец).

Нами был предложен новый диагностический алгоритм, позволяющий выявлять злокачественные опухоли щитовидной железы на основе материала, полученного с цитологических препаратов. Алгоритм включает следующую молекулярную панель: анализ экспрессии онкогена HMGA2, микроРНК-146b, -221, -375, соотношения митохондриальной и ядерной ДНК, а также определения мутации BRAF V600E. Для выявления узлов парашитовидной железы применяется анализ экспрессии гена GCM2. Этот алгоритм не был изначально разработан для типирования узлов щитовидной железы, но в конечном счете для каждого типа злокачественной опухоли пришлось подобрать специфические маркеры.

Так, специфическими маркерами для папиллярного рака выступила мутация BRAF V600E и повышенный уровень экспрессии микроРНК-146b. Медуллярный рак характеризуется значительно повышенным уровнем экспрессии микроРНК-375. Нами было использовано отношение митохондриальной и ядерной ДНК, поскольку клетки Гюртле отличаются нако-

плением большого количества аномальных митохондрий, что встречается независимо от доброкачественной или злокачественной природы поражений. По классификации ВОЗ (2017) Гюртле-клеточная аденома и карцинома выделены в качестве самостоятельной онкопатологии в силу своего особого генетического профиля и клинически более агрессивного поведения по сравнению с папиллярным и фолликулярным раком щитовидной железы. Использование в нашем тесте отношения митохондриальной и ядерной ДНК позволяет выявлять не только Гюртле-клеточный рак, но также помогает в идентификации Гюртле-клеточных вариантов других опухолей.

Предназначенный для клинического применения молекулярный тест должен одновременно обладать высокой прогностической ценностью отрицательного результата (ПЦОР) и положительного результата (ПЦПР). В случае молекулярного тестирования образцов из группы с неопределенным цитологическим заключением ПЦОР имеет большее значение, чем ПЦПР. При этом нежелательно, чтобы остаточный риск злокачественности при отрицательном результате молекулярного тестирования превышал таковой для цитологического заключения «доброкачественный узел» (5 %), поскольку именно этот показатель будет определять, насколько безопасным будет клиническое наблюдение вместо диагностической операции. В исследовании, проведенном для оценки диагностических

#### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАЗЛИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ТЕСТОВ

Тест	Чувствительность, %	Специфичность, %	ПЦПР, %	ПЦОР, %	Тестовая выборка
Afirma GSC (США)	91	68	49	96	N=190
ThyGenX / ThyraMIR (США)	89	85	66	96	N=109
Thyroseq v3 (США)	94	82	64	98	N=257
mir-ТНУре (Бразилия)	95	81	62	98	N=95
ThyroidPrint (Чили)	91	87	70	97	N=270
Тест ИМКБ (Россия)	89	93	81	96	N=122

характеристик теста, риск злокачественности для образцов с неопределенным цитологическим заключением, охарактеризованных молекулярным тестом как доброкачественные, составил 4,8 %. С учетом общего риска злокачественности (~30 % для этой категории) в протестированной выборке из 122 пациентов, 79 пациентов могли бы избежать избыточного оперативного вмешательства в случае, если решение о нем опиралось бы на результаты молекулярного тестирования.

В таблице приведены диагностические характеристики различных молекулярных тестов для подтверждения злокачественности при неопределенном результате цитологического заключения (категории Bethesda III и IV).

Обращает на себя внимание тот факт, что прогностическая ценность отрицательного результата всех тестов, включая предложенный нами, выше 95 %, а вот ПЦПР у всех тестов значительно различается, поскольку в настоящее время нет консенсуса о том, какое минимальное значение должна иметь ПЦПР. Обсуждается возможность использования более агрессивной хирургической тактики для пациентов, у которых были выявлены определенные молекулярные маркеры злокачественности, однако доказательство клинической обоснованности такого подхода требует дополнительных исследований.

Таким образом, нами был разработан первый в России молекулярный тест для диагностики узлов щитовидной железы, отвечающий всем актуальным требованиям. Ожидаемый эффект от применения этого теста – значительное снижение количества диагностических операций, связанных с удалением доли щитовидной железы.

На основании выполненных исследований получены следующие патенты:

Патент 2548773 Российская Федерация. Способ определения доброкачественных и злокачественных новообразований щитовидной железы человека/Колесников Н. Н. и соавт. – Опубл. 24.03.2015.

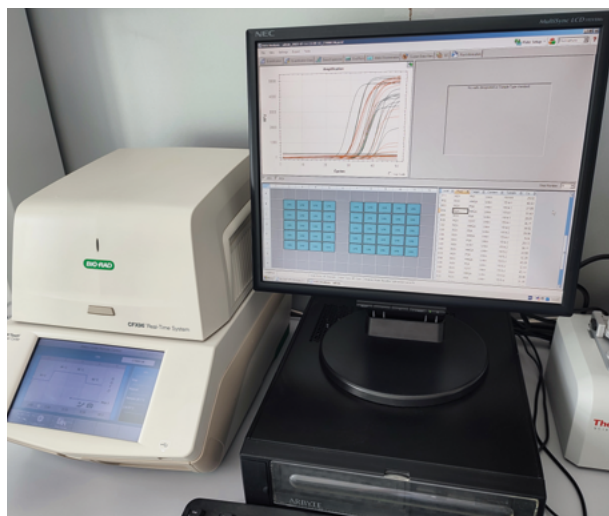
Патент 2569154 Российская Федерация. Способ дифференциальной диагностики новообразований щитовидной железы человека/Колесников Н. Н. и соавт. – Опубл. 26.11.15.

Патент 2757347 Российская Федерация. Способ дифференциальной диагностики узловых образований щитовидной железы человека/Титов С. Е. и Веряскина Ю. А. – Опубл. 13.10.2021.

Патент 2759128 Российская Федерация. Способ дооперационной дифференциальной диагностики анапластического рака щитовидной железы / Титов С. Е. и соавт. – Опубл. 09.11.2021 ■



1



2

1. Выделение нуклеиновых кислот из материала, нанесенного на предметное стекло;
2. Проведение ПЦР с детекцией результатов в реальном времени



# УГЛЕРОДМИНЕРАЛЬНЫЕ СОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ ОКСИДА АЛЮМИНИЯ СУМС-1

## СОКРАЩЕНИЕ СРОКОВ, МИНИМИЗАЦИЯ ЗАТРАТ И УЛУЧШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ С СИНДРОМОМ ИНТОКСИКАЦИИ, ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ



Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, 630060



Королев Максим Александрович,  
руководитель филиала,  
доктор медицинских наук

### Королев Максим Александрович

руководитель филиала, доктор медицинских наук  
тел. (383) 332-29-59, kormax@bk.ru

Разработаны, изучены в экспериментальных и клинических условиях углеродминеральные сорбенты на основе оксида алюминия. Гемосорбент СУМС-1 – углеродминеральный сорбент на основе оксида алюминия (преимущественный размер округлых частиц 0,4–1 мм) и нанесенного углерода (7–10 %). Сорбционная активность в отношении стафилококка составляет до 80 %, среднемолекулярных токсинов – до 80 %. Энтеросорбент СУМС-1 – порошок с размером частиц 0,1 мм, структурные параметры аналогичны гемосорбенту. Рекомендован для использования при хронических профессиональных отравлениях промышленными ядами,

гнойно-септических процессах. Разработаны технические условия, утверждены инструкции по медицинскому применению. Производство осуществлялось на новосибирском фармзаводе.

В основе механизма действия сорбентов СУМС-1 лежит извлечение токсических метаболитов, микробных клеток, токсинов из очага поражения (воспаление, ожог, травмированные ткани). Сорбционные свойства проявляются в дегидратации тканей и специфической сорбции кислых метаболитов, что приводит к повышению pH в очаге поражения и благоприятно влияет на течение патологического процесса, потенцируя действие лекарственных средств. Воздействие сорбента определяется способностью связывать и выводить из организма токсические продукты из мест его приложения (кровь, лимфа, раневые поверхности, желудочно-кишечный тракт). Показано,

что саногенные свойства сорбентов возрастают, если на поверхность сорбента наносятся активные ингредиенты – антибиотики, ферменты, серебро, литий, медь, цинк и др.

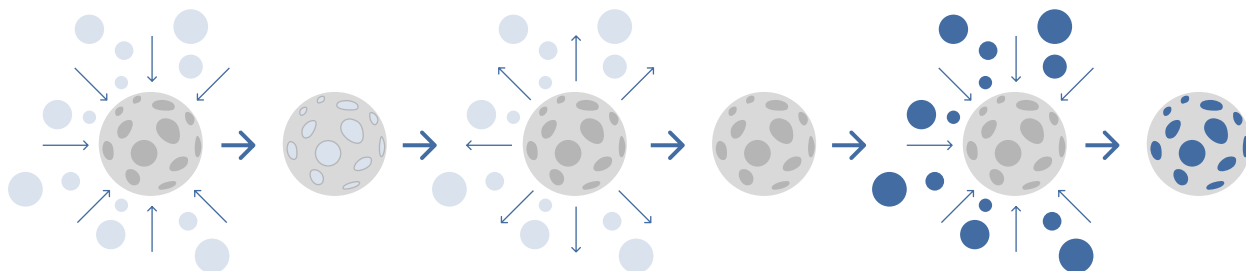
Сорбенты могут применяться в различных областях медицины: хирургии, токсиколо-

гии, медицине катастроф, военно-полевой терапии, при ожогах, инфекционных болезнях и др.

Запрос на индустриальное партнерство: разработка опытно-промышленного регламента, внедрение технологии на предприятиях ИП ■

### ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ СОРБЕНТОВ

Применяемая нами технология основана на использовании безопасного сорбента в качестве носителя для доставки активных компонентов в зону необходимого воздействия. Базовый сорбент представляет собой композицию оксида алюминия и кремний-органического полимера. В качестве активных компонентов могут быть использованы как натуральные компоненты, так и активные химические вещества.



Такая композиция позволяет объединить очищающие свойства сорбента с действием активных компонентов, создавая средство с двойным направлением действия – сорбент нейтрализует на своей поверхности токсины, бактерии, вирусы, собирая их из окружающей среды, а активные компоненты, напротив, выходят с поверхности сорбента, оказывая свой специализированный эффект.

### ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ СОРБЕНТОВ

Технология получения модифицированных сорбентов применяется для создания продуктов по трем направлениям практического применения:



Производство лекарственных средств



Производство гигиенических и косметических средств



Производство ветеринарных препаратов

# ПРОРЫВНЫЕ РАЗРАБОТКИ ИНСТИТУТА ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ СО РАН В ОБЛАСТИ БИОФАРМАЦЕВТИКИ И БИОМЕДИЦИНЫ



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8, 630090

## Пышный Дмитрий Владимирович

директор, член-корреспондент РАН,  
доктор химических наук  
тел. (383) 363-51-51, pyshnyi@niboch.nsc.ru



Пышный  
Дмитрий Владимирович,  
директор,  
член-корреспондент РАН,  
доктор химических наук

ИХБФМ СО РАН является одним из лидеров среди российских институтов биологического профиля в области разработки новых систем молекулярной диагностики и биофармацевтических препаратов направленного действия, а также различного типа «умных» материалов и методов для биомедицины.

В основе таких разработок лежит целый ряд оригинальных методов и платформенных решений, созданных сотрудниками института. Наибольшие успехи на пути внедрения в практическое использование достигнуты по следующим направлениям фундаментальных и ориентированных исследований:

1. Средства терапии онкологических заболеваний на основе онколитических вирусов.
2. Средства борьбы с бактериальными инфекциями на основе бактериофагов.
3. Препарат на основе гуманизированного антитела для экстренной профилактики и терапии клещевого энцефалита.

4. Новые биосовместимые материалы для тканевой инженерии и регенеративной медицины.
5. Современные системы молекулярной диагностики нуклеиновых кислот (НК): для выявления инфекционных агентов; различного типа точечных мутаций в НК; система параллельного анализа наборов маркеров для коррекции терапии онкологических заболеваний; новые методы и системы анализа ДНК и РНК в полногеномных и метагеномных исследованиях и многое другое.
6. Новые низкомолекулярные соединения для профилактики и терапии вирусных и бактериальных инфекций.
7. Биомедицинские технологии восстановления нормальной кишечной микрофлоры человека.
8. Олигонуклеотидные агенты и методы сборки генетических конструкций.

Остановимся на некоторых из платформенных решений, созданных сотрудниками ИХБФМ СО РАН. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, ГНЦ ВБ «Вектор»



Роспотребнадзора в партнерстве с ООО «Онкостар» (резидент «Сколково») разработали противоопухолевое лекарственное средство на базе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины. Препарат предназначен для терапии рака молочной железы. Оно создано на основе инактивированного рекомбинантного вируса осповакцины VV-GMCSF-Lact. Впервые в мире в противоопухолевый препарат введен ген, синтезирующий белок-убийцу раковых клеток. Прямых аналогов VV-GMCSF-Lact нет ни в России, ни за рубежом.

Вирус, попадая в организм, находит опухолевую клетку, заражает ее и начинает там размножаться (при этом здоровые клетки остаются незатронутыми). С одной стороны, он продуцирует белки, убивающие эту клетку, а с другой — успевает в ней размножиться и, попадая в кровоток, начинает распространяться по организму и искать другие мишени. Лекарство эффективно угнетает основную опухоль, ищет и подавляет рост метастазов и является, по сути, самореплицирующимся и самопродуцируемым.

Клинические испытания первого в России противоопухолевого препарата, созданного на основе генно-модифицированного онколитического вируса, стартовали в 2022 году. Их проводят в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии имени Н. Н. Петрова в Санкт-Петербурге.

Лекарственно устойчивые бактерии в настоящее время стали глобальной угрозой. Перспективным подходом к решению проблемы является применение бактериофагов — вирусов, вызывающих гибель бактерий, но не способных заразить человека. Фаги не вызывают побочных эффектов и не токсичны. В отличие от антибиотиков бактериофаги поражают конкретный вид и штамм бактерий и поэтому не нарушают нормальную микрофлору.

Сотрудники ИХБФМ выделили и охарактеризовали уникальные бактериофаги, эффективные против широкого спектра антибиотикорезистентных бактерий — *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*/*E. faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*. Определены и проанализированы полные геномы бактериофагов, проанализирован спектр их хозяев, изучены антимикробные свойства. Из охарактеризованных бактериофагов составлены фаговые коктейли, в том числе уникальный полиспецифический коктейль, содержащий бактериофаги против 11 видов патогенных бактерий, включая недавно распространившихся возбудителей нозокомиальных инфекций. Также разработана и опробована методика персонализированного применения препаратов бактериофагов. Использование ее в клинике обеспечило полное излечение 75–80 % паци-



Лекарственный препарат на базе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины

ентов с синдромом диабетической стопы, заболевания которых были вызваны резистентными бактериями, и антибиотикотерапия была безуспешной. Персонализированное применение бактериофагов оказалось эффективным при лечении гнойно-септических язв при синдроме диабетической стопы, инфекций послеоперационных ран, инфекций органов дыхания и выделительных органов.

В лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН разработан инновационный препарат «Энцемаб» для лечения и профилактики клещевого энцефалита, одного из наиболее патогенных для человека вирусных агентов на территории Российской Федерации. Препарат не имеет аналогов по эффективности, открывает возможность эффективной экстренной профилактики и лечения вирусного клещевого энцефалита. «Энцемаб» сконструирован на основе гуманизированного антитела, созданного методами синтетической биологии. Антитело представляет собой иммуноглобулин человека с встроенным в него фрагментом из мышинового антитела, прочно связывающим вирус клещевого энцефалита. Уровень гуманизации антитела, т.е. его сходства с антителами, полученными естественным образом в организме человека, — 98,2 %. Такие антитела практически не вызывают у человека каких-либо побочных реакций.

Доклинические испытания препарата были проведены институтом благодаря контракту, заключенному в рамках госпрограммы «Фарма-2020» с Минпромторгом Российской Федерации. В ходе исследований доказано, что препарат не токсичен для животных и не вызывает у них аллергических реакций. «Энцемаб» обеспечивает защиту от заболевания модельных животных, инфицированных сотнями летальных доз вируса клещевого энцефалита, и при этом требуются дозировки в сотни раз меньшие, чем дозировки коммерческого сывороточного иммуноглобулина. В 2019 году права на «Энцемаб» приобрела фармацевтическая компания АО «Фармасинтез», которая планирует организовать производство препарата и его клинические испытания.

В лаборатории органического синтеза ИХБФМ СО РАН разработан и запатентован ряд оригинальных антибактериальных препаратов на основе катионных амфифильных структур, обладающих рибонуклеазной активностью. В отличие от антибиотиков данные соединения воздействуют сразу на несколько бактериальных мишеней, что значительно снижает вероятность возникновения резистентности. Проведенные предварительные исследования показали высокую антибактериальную активность в отношении широкого круга в том числе антибиотикоустойчивых штаммов грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов. Относительная



Синтезатор ДНК/РНК ASM-800

простота синтеза в сочетании с возможностью получения на их основе гибридных структур с известными антибиотиками делает эти соединения перспективной платформой для создания высокоэффективных антибактериальных препаратов для нужд ветеринарии.

Ученые ИХБФМ СО РАН совместно с коллегами из Национального медицинского исследовательского центра (НМИЦ) имени академика Е. Н. Мешалкина Минздрава Российской Федерации разработали покрытие для стентов сосудов (матрикс), которое закрывает всю стентированную область сосуда и по заданной программе высвобождает лекарственные средства. Стенты с такими покрытиями предполагается использовать в сосудистой хирургии для повышения эффективности процедуры стентирования, а именно для предотвращения тромбозов и стенозов в области стентирования и ниже по кровяному руслу.

Матрикс, созданные в ИХБФМ СО РАН и предназначенные для изготовления покрытий стентов, изготавливаются методом электроспиннинга. Они состоят из наполненных

лекарством (паклитакселом или сиролимусом) волокон диаметром 0,5 мкм, которые укрывают снаружи весь стент и растягиваются при его установке, прижимаясь ко всей поверхности стентированного участка артерии. Эти матриксы обеспечивают физический барьер между кровью и стенкой артерии; в силу своей пористости они не влияют на транспорт биомолекул, но предотвращают проникновение клеток (крови к стенке и клеток или фрагментов стенки) в кровоток.

Материалы покрытия обеспечивают его хорошую био- и гемосовместимость, а специально разработанный дизайн волокна — двухфазное высвобождение лекарств из таких покрытий: сначала быстро, когда надо купировать острый этап воспаления, и медленно впоследствии, когда необходимо бороться с хроническим воспалением. Поскольку лекарство высвобождается во всю занятую поверхность сосуда и по заданной программе, удалось уменьшить его количество в покрытии стентов более чем в 100 раз по сравнению с коммерческими образцами покрытий стентов.



Тестирование моноклональных антител



Стенты с покрытиями, высвобождающими паклитасел, уже испытаны на животных и продемонстрировали очень хорошие результаты: в течение первых месяцев практически не образовывалось рубцовой ткани, а после её формирования не было тенденции к росту в отличие от голометаллических стентов, в которых наблюдалось постоянное линейное зарастание просвета сосуда. Стенты с покрытиями, содержащими сиролimus, находятся в процессе испытания. В случае успешного завершения этапа исследования функционирования стентов *in vivo* будут сформулированы дальнейшие рекомендации по прохождению испытаний стентов с лекарственно-наполненным покрытием, нанесенным методом электроспиннинга, с целью их использования в практической сосудистой хирургии.

В институте активно разрабатываются подходы к направленному конструированию олигонуклеотидов с заданными свойствами. Дизайн функциональных олигонуклеотидов и их производных осуществляется в том числе на основе компьютерного анализа. Созданы новые типы аналогов ДНК/РНК — фосфорилгуанидиновые и мезильные олигонуклеотиды. Потенциально они представляют собой платформенное решение для создания ген-направленных препаратов, антисмысловых олигонуклеотидов.

В Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН разработана и зарегистрирована тест-система для оперативной диагностики коронавируса SARS-CoV-2. В основе тест-системы — метод изотермической амплификации LAMP, с помощью которого выявляется вирусная РНК. Чувствительность метода очень высока, при этом он превосходит традиционную ПЦР по надежности и скорости анализа. Выполнение теста занимает 40 минут, что в два раза меньше времени, затрачиваемого на ПЦР. В результате увеличивается количество тестов, выполняемых лабораториями.

Для проведения теста не требуется дорогостоящего оборудования, установленного в стационарных лабораториях. В перспективе методика может быть использована для экспресс-диагностики вне стен специализированных лабораторий, например, прямо в терминале аэропорта, у постели больного и т.д. Подобное тестирование позволит как выявлять пациентов на ранней стадии инфекции для последующей терапии, так и прерывать эпидемические цепочки, снижая скорость распространения SARS-CoV-2.

Тест-система зарегистрирована в Росздравнадзоре и допущена к обращению на территории Российской Федерации. В ноябре 2021 года Институт получил регистрационное удостоверение на медицинское изделие «Набор реагентов для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 из мазков носоглотки и/или ротоглотки человека». Коммерческим партнером ИХБФМ СО РАН стало ООО «Современные лабораторные технологии», расположенное в наукограде Кольцово.

Ключевые компоненты, используемые в производстве, сделаны в России. В разработке использованы оригинальные высокоустойчивые к ингибиторам ферментные препараты, ранее полученные в ИХБФМ СО РАН. Предел обнаружения составляет  $2,5 \times 10^4$  копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 в 1 мл анализируемого образца при быстром гомогенном выделении РНК с помощью разработанного реагента NA-FAST, входящего в состав набора реагентов.

В ИХБФМ СО РАН разработан и внедрен эффективный и безопасный способ восстановления нормальной микрофлоры кишечника — пересадка (трансплантация) микробиоты. С помощью пересадки лечат синдром раздраженной кишки (с диареей или запорами), метаболический синдром, хронические воспалительные заболевания кишечника, клостридиальную инфекцию и аллергии.

Кроме того, Институт активно внедряет в исследовательскую практику новые подходы к организации научных исследований, такие как *civil science* (гражданская наука), позволяющая вовлечь в проектную деятельность большие общественные группы. Так, ИХБФМ СО РАН стал организатором проекта по гражданской науке для детей «Охотники за микробами», открытие-ориентированной программы для школьников 6–11-х классов, которые под руководством наставников собирали образцы из окружающей среды и выделяли из них микроорганизмы. На данный момент институт реализует исследовательскую программу «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов как основа для поиска новых противомикробных продуцентов и ферментов с уникальными свойствами» в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации ■

# СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИЙ 2282DEL4, R501X, R2447X В ГЕНЕ ФИЛАГГРИНА (FLG) ПРИ ВУЛЬГАРНОМ ИХТИОЗЕ И АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», ул. Тимакова, 2, г. Новосибирск, 630117

## Воевода Михаил Иванович

директор ФИЦ ФТМ, академик РАН, профессор, доктор медицинских наук  
тел. (383) 274-95-80, director@frcftm.ru



Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», проспект Академика Лаврентьева, 10, г. Новосибирск, 630090



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красный проспект, 52, г. Новосибирск, 630091

## Максимов Владимир Николаевич

профессор, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ, доктор медицинских наук  
тел. +7-913-903-44-89, medik11@mail.ru

## Воропаева Елена Николаевна

ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ, доктор медицинских наук

## Иванова Анастасия Андреевна

старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ, кандидат медицинских наук

## Маринкин Игорь Олегович

профессор, ректор ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук  
тел. (383) 222-32-04, rector@ngmu.ru

## Максимова Юлия Владимировна

профессор, заведующий кафедрой медицинской генетики и биологии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук

## Свечникова Елена Владимировна

профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук



Максимов Владимир Николаевич, профессор, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, доктор медицинских наук

**Метод позволяет быстро детектировать основные мутации в гене филаггрина (FLG) на стандартном отечественном оборудовании. В группе больных вульгарным ихтиозом у 71 % обнаружены указанные мутации. При atopическим дерматите данные мутации зарегистрированы у 16–25 % больных.**

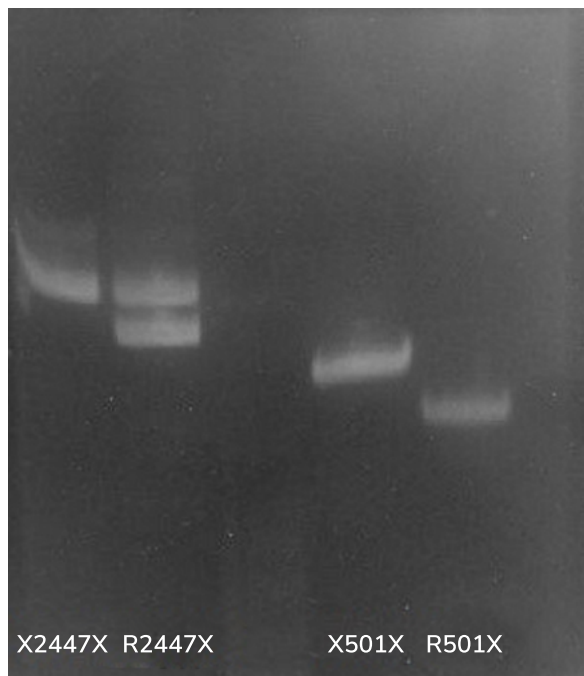
Наличие мутаций 2282del4, R501X, R2447X существенно влияет на тактику ведения пациента (в терапию добавляют эмоленты для замещения функции кожного барьера, снижают длительность применения глюкокортикоидов, ингибиторов кальциневрина). Персонализированный подход, основанный на знании этиологической основы развития заболевания у кон-

кретного пациента, позволяет быстрее добиться ремиссии и увеличить ее продолжительность за счет уменьшения влияния основного провоцирующего фактора — дефекта кожного барьера. Патент РФ № 2673804.

Доступных аналогов в виде готовых тест-систем на рынке нет (представлены только разработки) ■



1



2

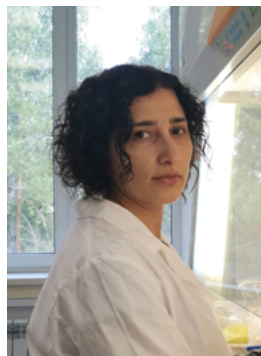
1. Электрофореграмма мутации 2282del4.
2. Электрофореграмма мутаций R501X, R2447X.



# ТЕХНОЛОГИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ МЕТОДОМ ТАРГЕТНОГО ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ



Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», пр. Академика Лаврентьева, 10, г. Новосибирск, 630090



Иваношук Динара Евгеньевна, научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТГПМ

## Шахтшнейдер Елена Владимировна

заместитель руководителя НИИТГПМ по научной работе, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, кандидат медицинских наук  
тел. (383) 373-10-68, shakhtshneyderev@bionet.nsc.ru

## Иваношук Динара Евгеньевна

научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТГПМ  
тел. (383) 363-49-63\*3301, dinara@bionet.nsc.ru

**В НИИТГПМ — филиале ФИЦ «Институт цитологии и генетики (ИЦиГ) СО РАН» разработана технология молекулярно-генетической диагностики семейной гиперхолестеринемии методом таргетного высокопроизводительного секвенирования.**

Семейная гиперхолестеринемия (СГХС) — заболевание, обусловленное группой генетических дефектов, приводящих к снижению скорости удаления липопротеинов низкой плотности из кровотока и выраженному повышению концентрации холестерина в крови. СГХС входит в число наиболее распространенных врожденных метаболических нарушений, встречается у одного из 135–250 человек. СГХС опасна ранним развитием осложнений, таких как ишемическая болезнь сердца, атеросклеротическое поражение сосудов мозга и артерий нижних конечностей. Средний возраст клинических проявлений ишемической болезни сердца — до 45 лет у мужчин и до 55 лет у женщин. Несмотря на распространенность этого заболевания и доступность эффективных методов лечения, СГХС часто остается не диагностированной и не леченной, особенно у детей. Таргетное секвенирование — инструмент быстрой и экономичной диагностики СГХС. В НИИТГПМ — филиале ИЦиГ СО РАН разработана авторская панель генов для молекулярно-генетической диагно-

стики СГХС с использованием таргетного высокотехнологичного секвенирования. Метод позволяет подобрать медикаментозную терапию с учетом персонализированной молекулярно-генетической информации. Данный способ также эффективен для подтверждения наличия или отсутствия патогенных мутаций у родственников пациентов. Технология внедрена в клиническую практику НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН.

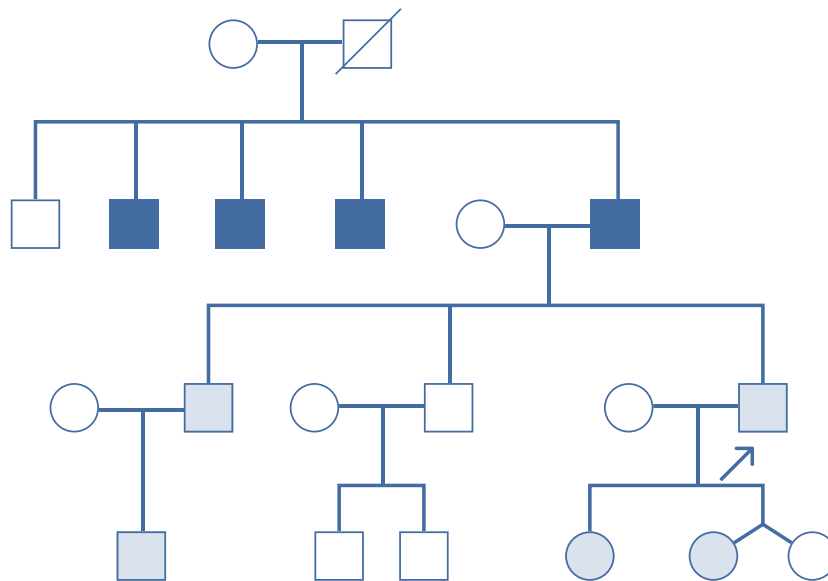
Представлена завершенная разработка: от проведения исследовательских работ до внедрения метода в клиническую практику с оказанием медицинской помощи пациентам. Части метода за-

щищены: свидетельство Российской Федерации о государственной регистрации базы данных № RU 2017620408.

Область применения технологии – персонализированная медицина.

Запрос на индустриальное партнерство: юридические лица, имеющие возможность как непосредственного финансирования совместных дальнейших разработок, так и работающие по договорам на НИОКР, с целью софинансирования совместных дальнейших разработок ■

### КАСКАДНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ



↗ Пробанд

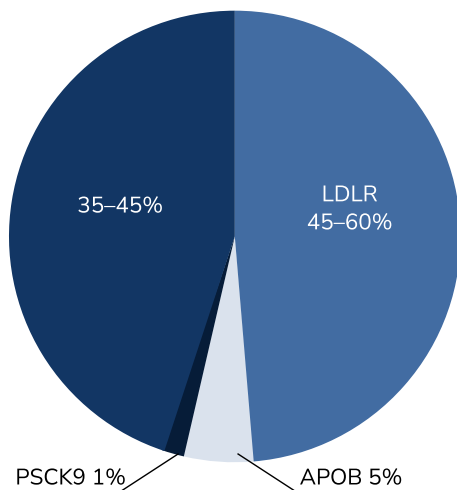
■, ○ Пациенты – носители варианта rs879255191

■ Мужчины, перенесшие ИМ в возрасте до 53 лет

◻ Погиб в возрасте до 40 лет

У пробанда определен редкий вариант в регуляторном районе гена LDLR, при дальнейшем обследовании у родственников пробанда выявлено нарушение липидного обмена и наличие патогенного варианта в гене LDLR, в том числе у трех детей в возрасте младше 10 лет, что позволяет проводить первичную профилактику ССЗ.

## ПОДТВЕРЖДЕНИЯ ДИАГНОЗА СЕМЕЙНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ



Рекомендовано проведение молекулярно-генетического исследования. Большинство случаев заболевания обусловлено патогенными вариантами генов LDLR, APOB, PCSK9. Высокотехнологичное секвенирование позволяет выявить новые варианты, ассоциированные с развитием семейной гиперхолестеринемии, у 35-45 % пациентов.





# СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ P.L265P В ГЕНЕ MYD88



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» ул. Тимакова, 2, г. Новосибирск, 630117

## **Воевода Михаил Иванович**

директор ФИЦ ФТМ, академик РАН, профессор, доктор медицинских наук  
тел. (383) 274-95-80, director@frcftm.ru



Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», проспект Академика Лаврентьева, 10, г. Новосибирск, 630090



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красный проспект, 52, г. Новосибирск, 630091

## **Агеева Татьяна Августовна**

профессор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук

## **Чуркина Мария Игоревна**

аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России,

## **Поспелова Татьяна Ивановна**

профессор, проректор по научной работе ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук

## **Максимов Владимир Николаевич**

профессор, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ, доктор медицинских наук  
тел. +7-913-903-4489, medik11@mail.ru

## **Воропаева Елена Николаевна**

ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ, доктор медицинских наук

## **Гуражева Анна Александровна**

младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ

## **Мельникова Елизавета Сергеевна**

младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ

## **Иванова Анастасия Андреевна**

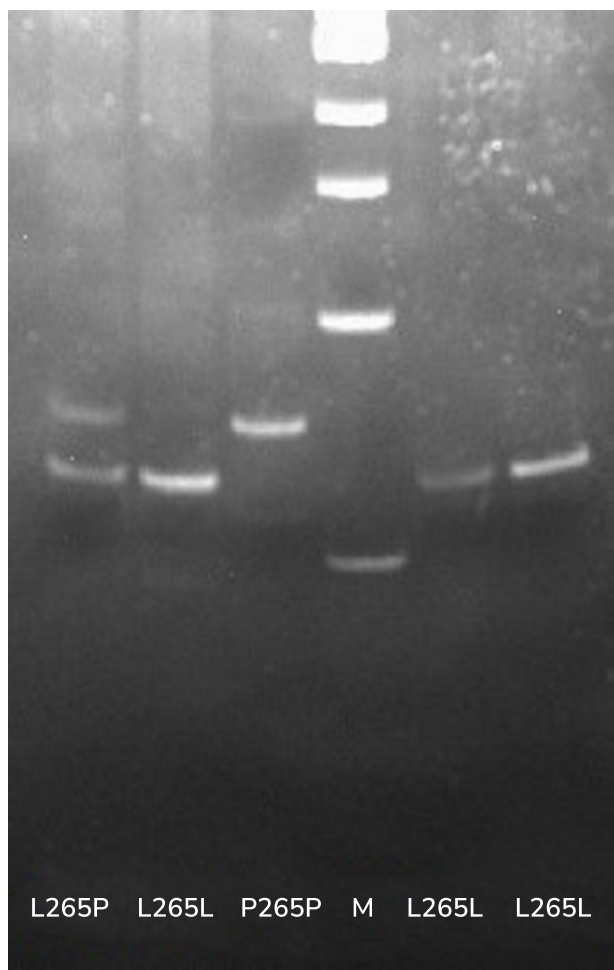
старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ, кандидат медицинских наук



Частное учреждение здравоохранения «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Новосибирск» Владимировский спуск, 2а, г. Новосибирск, 630003

## **Карпова Виктория Сергеевна**

врач-гематолог ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Новосибирск»



Электрофореграмма мутации p.L265P в гене MYD88.

**Изобретение относится к области медицинской генетики, молекулярной биологии и может быть использовано в онкологии и гематологии для быстрого выявления рекуррентной мутации p.L265P в гене MYD88 на стандартном оборудовании в широкой клинической практике.**

Подавляющее большинство случаев обнаружения MYD88 p.L265P приходится на гематологические злокачественные новообразования. Этот факт важен для дифференциальной диагностики опухолей с локализацией в центральной нервной системе. Наличие мутации MYD88 p.L265P помогает отличить варианты гематологических опухолей, имеющих схожие/перекрывающиеся клинические проявления и патоморфологическую картину, но различные подходы к терапии и прогноз.

Способ применим на свежем забранном, замороженном биоматериале, FFPE-образцах, в том числе архивных, большая часть фрагментов ДНК которых имеет длину около 200 п.н. Патент № 2756909.

Способ более чувствителен по сравнению с известным методом ПЦР – ПДРФ анализа FFPE-образцов; является простым, выполняется в течение 2 дней на доступном в клинической практике оборудовании ■



# ТЕХНОЛОГИЯ ДИАГНОСТИКИ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ МОНОГЕННЫХ ФОРМ САХАРНОГО ДИАБЕТА



Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», проспект Академика Лаврентьева, 10, г. Новосибирск, 630090



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» ул. Тимакова, 2, г. Новосибирск, 630117

#### Воевода Михаил Иванович

директор ФЦИ ФТМ, академик РАН, профессор, доктор медицинских наук  
тел. (383) 274-95-80, director@frcftm.ru

#### Рымар Оксана Дмитриевна

главный научный сотрудник, заведующая лабораторией клиничко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний НИИТГПМ, доктор медицинских наук  
тел. (383) 229-2745, ryमारod@bionet.nsc.ru

#### Шахтшнейдер Елена Владимировна

заместитель руководителя НИИТГПМ по научной работе, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, кандидат медицинских наук  
тел. (383) 373-1068, shakhtshneyderez@bionet.nsc.ru

#### Овсянникова Алла Константиновна

старший научный сотрудник лаборатории клиничко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний НИИТГПМ, доктор медицинских наук  
тел. (383) 229-2745, ovsyannikovaak@bionet.nsc.ru

#### Иванощук Динара Евгеньевна

научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТГПМ  
тел. (383) 363-4963\*3301, dinara@bionet.nsc.ru

Проведение дифференциальной диагностики типа сахарного диабета у пациентов младше 35 лет в большинстве случаев представляет сложную клиническую задачу: может быть определен сахарный диабет 1-го, 2-го типов, LADA, моногенные формы диабета или один из четырнадцати подтипов MODY. До 80 % случаев моногенного диабета не определяется или диагностируется как диабет 1-го или 2-го типов. Среди больных сахарным диабетом 1-го типа недиагностированный моногенный диабет составляет до 10 % случаев. Пациенты с сахарным диабетом 1-го типа имеют абсолютную потребность в экзогенном инсулине, тогда как при моногенном диабете в большинстве случаев эффективны таблетированные сахароснижающие препараты. При своевременной и адекватной диагностике моногенных типов сахарного диабета снижаются материальные затраты на лечение и улучшается качество жизни больных. Подтверждение моногенных типов диабета возможно только молекулярно-генетическими методами. Технология диагностики и персонализированной терапии моногенных форм сахарного диабета позволяет идентифицировать различные варианты диабета, прогнозировать клиническое течение, назначать адекватную



терапию, а также выявлять носителей мутаций среди родственников для проведения мероприятий по ранней первичной профилактике заболевания. Технология внедрена в клиническую практику и выполняется в НИИТГМ – филиале ФИЦ «Институт цитологии и генетики (ИЦиГ) СО РАН» в рамках оказания высокотехнологичной медицинской помощи. Метод направлен на диагностику клинических и молекулярно-генетических детерминант с последующим подбором персонализированной терапии.

Представлена завершенная разработка: от проведения исследовательских работ до внедрения метода в клиническую практику с оказанием высокотехнологичной медицинской помощи пациентам. Коллективом авторов разработан алгоритм дифференциальной диагностики типа сахарного диабета у пациентов молодого возраста, применен метод высокотехнологичного секвенирования с использованием авторской панели генов для диагностики моногенных форм диабета. Способ позволяет подобрать медикаментозную терапию с учетом персонализированной клинической и молекулярно-генетической информации. Данный метод также экономически эффек-

тивен для подтверждения наличия или отсутствия мутаций у родственников пациентов с диагностированным наследственным диабетом. Результаты внедрения метода показали важность идентификации мутаций у пациентов с мягкой бессимптомной гипергликемией, особенно в детском возрасте. Этот подход имеет решающее значение для определения лечения больного и скринингового обследования членов семьи пациента. Части метода защищены патентами на изобретения и полезные модели РФ: свидетельство РФ о госрегистрации базы данных № RU2016620109, свидетельство РФ о госрегистрации программы для ЭВМ № RU2019660636.

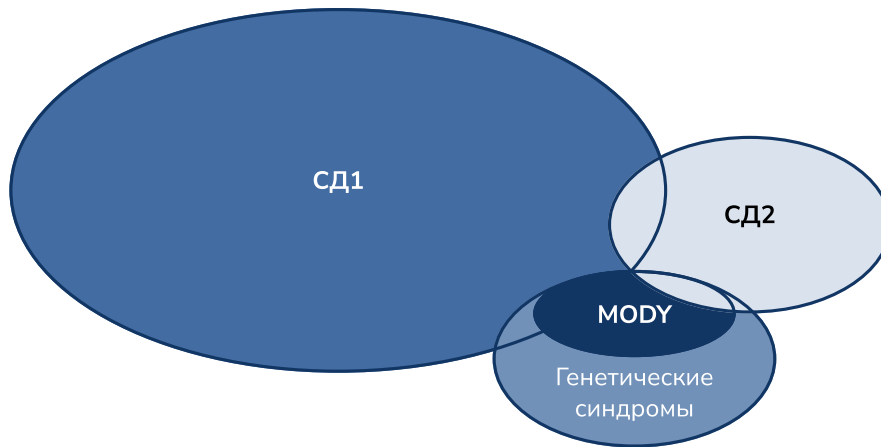
Область применения технологии – персонализированная медицина.

Запрос на индустриальное партнерство: юридические лица, имеющие возможность как непосредственного финансирования совместных дальнейших разработок, так и работающие по договорам на НИОКР, с целью софинансирования совместных дальнейших разработок ■



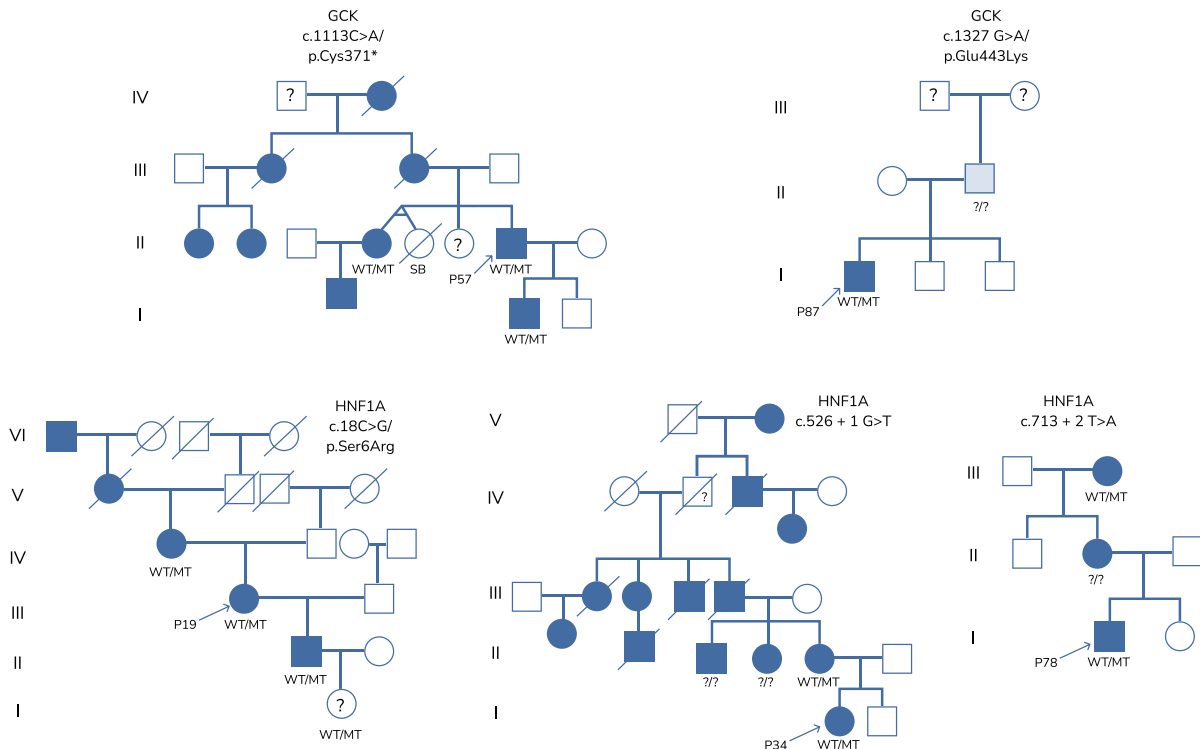
Коллектив авторов технологии на вручении Государственной премии Новосибирской области за разработку метода, 2020 год. Слева направо: Овсянникова А. К., Рымар О. Д., Воевода М. И., Иваношук Д. Е., Шахтшнейдер Е. В.

## ТИПЫ САХАРНОГО ДИАБЕТА У ЛИЦ 15-30 ЛЕТ



СД1 – сахарный диабет 1 типа, СД2 – сахарный диабет второго типа, MODY – диабет (5-10 % случаев), Генетические синдромы – другие наследственные формы сахарного диабета.

### ПРИМЕР РОДОСЛОВНЫХ СЕМЕЙ ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ТИПА MODY



Идентифицированы новые варианты в генах GCK и HNF1A. Символы черного цвета – пациенты с диабетом, символ серого цвета – пациент с преддиабетом. WT – аллель дикого типа; MT – измененный аллель; ?? – пациент не генотипирован. ? – статус заболевания не определен. SB – мертворождение.

# ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ «КАРАНАХАН»



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», пр-т Академика Лаврентьева, 10, г. Новосибирск, 630090

## Колчанов Николай Александрович

академик РАН, профессор, научный руководитель, доктор биологических наук  
тел. (383) 363-49-80, +7-913-919-2364  
kol@bionet.nsc.ru

## Богачев Сергей Станиславович

заведующий лабораторией индуцированных клеточных процессов, главный научный сотрудник, доктор биологических наук  
тел. (383) 363-49-63 доб. 3411, +7-964-096-81-19,  
labmolbiol@mail.ru

## Долгова Евгения Владимировна

старший научный сотрудник, кандидат биологических наук  
dolgova.ev@mail.ru

## Поттер Екатерина Анатольевна

старший научный сотрудник, кандидат биологических наук  
alamkina@gmail.com

## Проскурина Анастасия Сергеевна

старший научный сотрудник, кандидат биологических наук  
asproskurina@gmail.com



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», ул. Ядринцевская, 14, г. Новосибирск, 630099

## Черных Елена Рэмовна

заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией клеточной иммунотерапии, член-корреспондент РАН, профессор, доктор медицинских наук, ct\_lab@mail.ru

## Останин Александр Анатольевич

главный научный сотрудник, профессор, доктор медицинских наук  
ostanin62@mail.ru



Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, р. п. Кольцово, Новосибирская область, 630559

## Таранов Олег Святославович

заведующий отделом микроскопических исследований  
taranov@vector.nsc.ru



Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская клиническая больница № 1», ул. Залесского, 6, г. Новосибирск, 630047

## Сидоров Сергей Васильевич

доктор медицинских наук, профессор  
svsidorov@yandex.ru



**В лаборатории индуцированных клеточных процессов ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН» разработана технология лечения злокачественных новообразований «Каранахан», которая основана на уничтожении стволовых опухолевых клеток и представляет собой индивидуально подобранный для каждой опухоли временной режим инъекций цитостатика циклофосфида и сложнокомпозиционного препарата на основе ДНК.**

Активность человеческого организма зависит от различных временных циклов (циркадных, сезонных, годовых и т. д.). На клеточном и молекулярном уровне это проявляется в изменениях, зависящих от времени в сложном взаимодействии систем жизнеобеспечения клетки. Опухоль, как часть организма, также следует биологическим часам, а механизмы, запущенные в опухолевых клетках, также подвержены молекулярным сдвигам в зависимости от временных факторов. Становится все более очевидным, что учет временной динамики молекулярных событий во всем организме, органах, тканях, опухоли и опухолевых клетках является ключом к успешной терапии различных злокачественных новообразований.

Одним из эффективных терапевтических подходов при различных видах рака является иммунотерапия. На силу и время противоопухолевого иммунного ответа влияет сложный набор факторов окружающей среды (включая временные циклы), состояние хозяина и биологические особенности самой опухоли. В этой связи была выдвинута парадигма индивидуального иммунного статуса организма как отправной точки для последующих иммунотерапевтических вмешательств.

Эти новые концепции легли в основу технологий, основанных на хронометрической доставке терапевтических агентов к опухоли в зависимости от особенностей опухолевых и иммунных клеток, а также от иммунного статуса организма. Наиболее яркими из них являются вакцинация *in situ* и хронометрическая/метрономная химиотерапия низкими дозами циклофосфида. Основной особенностью противоопухолевого действия указанных подходов является их независимость от конкретной мишени или молекулы. В результате их применения индуцируется интегральный противоопухолевый иммунитет и разрушается проопухолевая активность опухольассоциированной стромы.

В лаборатории индуцированных клеточных процессов ИЦиГ СО РАН был разработан подход, получивший название технология «Каранахан». Этот подход так же, как и предыдущие техники, имеет хронометрический характер и состоит из привязанного к репаративному и клеточному циклам конкретной опухоли введения цитостатика циклофосфида и сложнокомпозиционного препарата на основе двуцепочечной ДНК. В результате применения технологии происходит эрадикация стволовых опухолевых клеток и индуцируется масштабный апоптоз комметированных опухолевых клеток.

**Краткая история и основные этапы создания технологии «Каранахан»**

История создания технологии началась в 2006 году на модели мышинной карциномы Кребс-2 и связана со следующими экспериментальными этапами. Было установлено, что стволовые опухолевые клетки интернализуют фрагменты двуцепочечной ДНК естественным природным механизмом (рисунок 1). В качестве маркерной молекулы интернализации был разработан и используется до настоящего времени двуцепочечный ДНК-зонд TAMRA ПЦР меченный AluI фрагмент человека. Это свойство позволяло идентифицировать стволовые клетки конкретной опухоли в массе опухолевых клеток и проследить изменение их количества после проведенных обработок.

Механизм интернализации двуцепочечной ДНК связан с взаимодействием фрагментов ДНК с гепарин-связывающим доменом структур гликокаликса, характерным именно для стволовых опухолевых клеток.

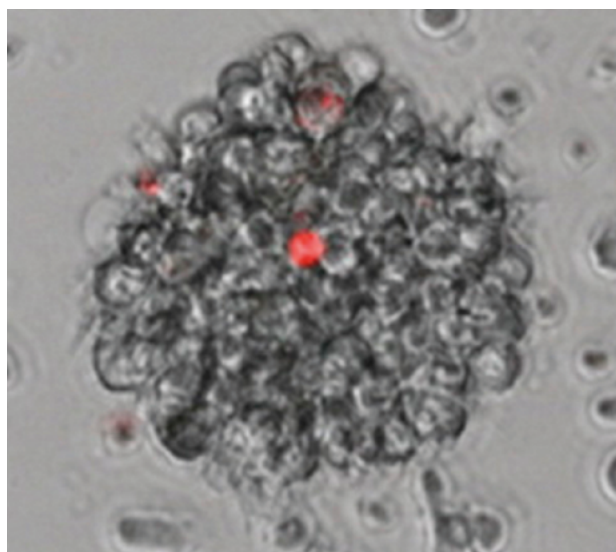
В первых экспериментах было показано, что цикл репарации межцепочечных сшивок, индуцированных циклофосфамидом у Кребс-2 клеток, имеет 12-часовой подъем количества двуцепочечных разрывов (фаза NER), 12-часовое плато и 12-часовую фазу гомологичной рекомбинации, при которой двуцепочечные разрывы полностью закрываются.

На первом этапе, используя многократные (12-кратные ежедневные) инъекции препарата двуцепочечной ДНК мышам-асцитоносам на фоне однократного введения циклофосфамида и последующей перевивки обработанных асцитных клеток в форме солидного графта здоровым мышам, было обнаружено следующее. Если препарат нативной двуцепочечной ДНК человека вводить в фазу NER (первые 12 часов от введения циклофосфамида для Кребс-2 клеток), то перевиваемые внутримышечные трансплантаты не приживаются. Если ту же самую двуцепочечную ДНК вводить в фазу гомологичной рекомбинации, то ничего не происходит, и графты развиваются нормально. С другой стороны, если таким же образом обработать асцит двуцепочечной ДНК спермы лосося, модифицированной Эмбихином, в фазу гомологичной рекомбинации (24–36 часов для Кребс-2 клеток), то опять трансплантаты не прижива-

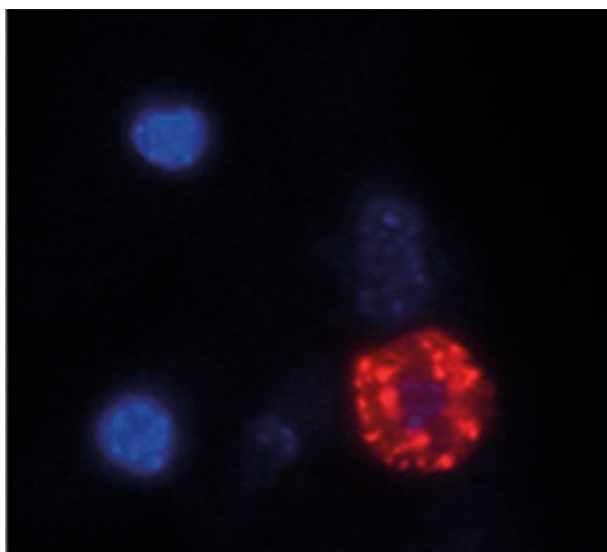
ются. При этом если так ДНК обработать асцит в первые 12 часов (фаза NER), то опять графты нормально растут. В этой серии исследований показана смертельная токсичность такой терапии как нативной ДНК человека, так и модифицированной ДНК спермы лосося. Оказалось, что токсичность модифицированной ДНК спермы лосося можно существенно понизить разбавлением модифицированного препарата нативной ДНК спермы лосося с сохранением эффекта разрушения перевивочного потенциала обработанного этой ДНК асцита.

Проведенный анализ показал, что трансплантаты не приживаются, если они лишены TAMRA+ стволовых опухолевых клеток, которые эрадицируются из асцита проведенной обработкой.

Были проверены многочисленные комбинации введения циклофосфамида и препарата двуцепочечной ДНК. Обнаружено, что если последовательно три раза вводить циклофосфамид, запирая репаративный цикл клеток, находящихся в репарации межцепочечных сшивок, введением циклофосфамида за час до окончания каждого предыдущего репаративного цикла (36 часов), то асцит полностью резорбируется. Тем не менее в результате такой обработки мыши погибали от системной воспалительной



1



2

Рис. 1. Детекция стволовых раковых клеток по способности захватывать ДНК зонд, TAMRA ПЦР меченный AluI фрагмент человека (красный цвет).

1) сфера множественной миеломы; 2) мышинный асцит Кребс-2.

реакции, причем у выживших мышей всегда возникали рецидивы.

Анализ вышеприведенных результатов позволил решить проблему токсичности многократного введения препаратов двуцепочечной ДНК. Мы предположили, что если создать сложнокомпозиционный препарат, состоящий из человеческой ДНК, ДНК спермы лосося и модифицированной ДНК спермы лосося, и вводить такой препарат однократно в точку демаркации двух фаз репарации межцепочечных сшивок (18 часов от введения циклофосфамида для Кребс-2 клеток), то произойдут следующие события. Нативная двуцепочечная ДНК человека не будет давать возможность клеткам, находящимся в фазе NER, завершить репаративный процесс, а смесь двуцепочечной ДНК спермы лосося не даст начаться процессу гомологичной рекомбинации в клетках «проскочивших» воздействию двуцепочечной ДНК человека в фазе NER. Первые эксперименты на мышах-асцитоносах, которым трехкратно вводили циклофосфамид и сложнокомпозиционный препарат на основе двуцепочечной ДНК, показали 100 % редукцию асцита и практически полное выживание экспериментальных животных без развития системной воспалительной реакции. То есть был найден нетоксичный режим введения циклофосфамида и сложнокомпозиционного препарата на основе двуцепочечной ДНК (три раза, привязанного к репаративному циклу).

Тем не менее рецидивы возникали у всех леченных мышей после полного рассасывания асцита на 14–15-е сутки от начала терапии. Мы оценили события, происходящие с клетками после такой обработки в последующие 9 суток. Во-первых, оказалось, что индуцируется всеохватывающий апоптоз комметированных опухолевых клеток. В определенный день остаточные опухолевые клетки синхронизируются в G2/M фазе клеточного цикла. Оказалось, что процент TAMRA+ стволовых опухолевых клеток в этот момент времени резко возрастает. Мы предположили, что возросший пул TAMRA+ стволовых опухолевых клеток представляет собой стволовые клетки Кребс-2, пережившие терапию. Возросший процент клеток этого типа на фоне катастрофического падения количества комметированных опухолевых клеток (общего количества клеток) свидетельствовал именно о таком развитии событий. Полученный результат обозначил важнейшую точку терапии, когда и остаточные комметированные клетки опухоли, и стволовые клетки синхронизированы в G2/M фазе.

Циклофосфамид в этой фазе клеточного цикла дает межцепочечные сшивки, но они определяются клеткой только в новой G1 фазе после митотического перехода. Одновременно мы знали, а потом показали экспериментально, что двуцепочечная ДНК в фазе G2/M не попадает внутрь клетки опухоли в результате митотического коллапса актиновой архитектуры клетки. И таким образом было сделано предположение, что если ввести четвертый раз циклофосфамид в синхронную G2/M фазу, а в следующую за ней фазу G1 ввести сложнокомпозиционный препарат на основе двуцепочечной ДНК, то мы сможем «добить» выжившие стволовые опухолевые клетки и завершить апоптоз оставшихся комметированных клеток опухоли. При этом временной отрезок между введением циклофосфамида и препарата ДНК попадал в требуемую для активации репаративного процесса G1/раннюю S-фазу.

Проведенные эксперименты на мышах-асцитоносах и мышах с солидными трансплантатами показали, что 75 % мышей полностью вылечились от быстротечной неизлечимой карциномы Кребс-2. При этом ~25 % мышей погибли от системной воспалительной реакции, а ~50 % мышей прожили до окончания наблюдения (180 дней от начала эксперимента) без признаков опухоли, две самки принесли здоровое потомство.

На протяжении 16 лет исследований были проведены бесчисленные эксперименты со всеми возможными контролями, которые сопровождают каждую экспериментальную работу. В результате была создана технологическая платформа, которую мы назвали технология «Каранахан», что означает на санскрите «убивающий причину».

### **Технология «Каранахан». Принципы.**

«Каранахан» является универсальной технологией лечения опухолей различной этиологии, основанной на уничтожении стволовых опухолевых клеток и разрушении свойств иммунных клеток поддерживать жизнеспособность опухоли.

При применении технологии «Каранахан» для каждой опухоли подбирается временной режим обработки цитостатиком и сложнокомпозиционным препаратом на основе ДНК по схеме «3+1» (рисунок 2). Время первых трех обработок определяется длительностью репаративного цикла опухолевых клеток после обработки их кросслинквирующим цитостатиком. Финальная обра-



ботка проводится в момент синхронизации стволовых опухолевых клеток после трехкратной обработки цитостатиком. Применение указанного режима приводит к полному уничтожению стволовых опухолевых клеток и элиминации опухоли в целом. Технология «Каранахан» является новым уникальным, ранее нигде в мире не применяемым подходом к лечению опухолей.

Технология основана на трех открытиях, совершенных в лаборатории индуцированных клеточных процессов ИЦиГ СО РАН.

1. Обнаружение универсального для низкодифференцированных туморогенных опухолевых клеток молекулярного маркера – способности захватывать фрагменты экстраклеточной двуцепочечной ДНК естественным природным механизмом и используемого в этой связи ДНК-зонда, меченого TAMRA флуорохромом.

2. Способность этих доставленных во внутренние клеточные компартменты ДНК фрагментов интерферировать процесс репарации межцепочечных сшивок таким образом, что стволовая опухолевая клетка или погибает, или теряет свои туморогенные свойства. Лишенная основы бесконечного существования опухоль уничтожается защитными системами организма.

3. Обнаружение механизма синхронизации стволовых опухолевых клеток в чувствительной для обработок фазе клеточного цикла и использование найденного временного расписания для их эрадикации.

**Основные процедурные элементы технологии «Каранахан»**

1. Определение присутствия в опухоли низкодифференцированных стволовых иницилирующих опухолевых клеток по способности захватывать TAMRA+ ДНК-зонд.
2. Определение временного профиля цикла репарации межцепочечных сшивок, индуцированных кросслинкирующим цитостатиком.
3. Определение дня синхронного выхода (синхронизация) в чувствительную для терапии G1 фазу клеточного цикла TAMRA+ стволовых иницилирующих опухолевых клеток данной опухоли после процедуры трехкратного ареста деления и накопления этих клеток в G2/M фазе клеточного цикла, основанного на знании временного профиля цикла репарации.

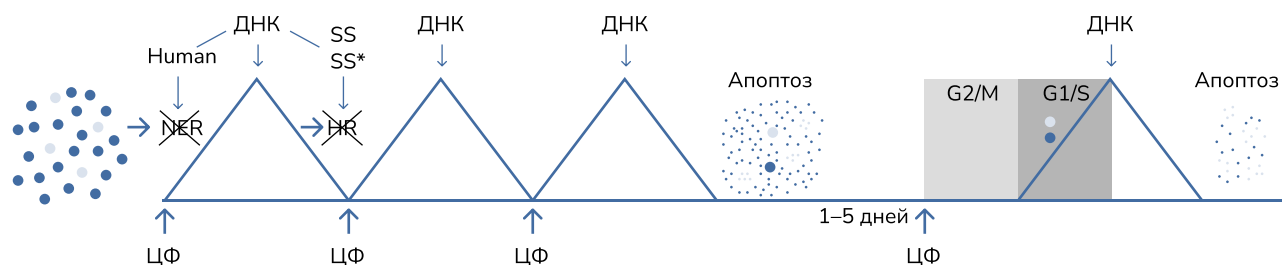


Рис. 2. Принципиальная схема технологии «Каранахан».

На первом этапе опухолевые клетки подвергаются трехкратному, привязанному к циклу репарации межцепочечных сшивок, воздействию циклофосфамида (CP) и сложнокпозиционного препарата на основе двуцепочечной ДНК (DNAmix). В результате такой обработки происходит элиминация большей части стволовых и индуцируется масштабный апоптоз комметированных опухолевых клеток. Одновременно происходит синхронизация оставшихся стволовых и комметированных опухолевых клеток в G2/M. На втором этапе проводится четвертая обработка циклофосфамидом и сложнокпозиционным препаратом на основе двуцепочечной ДНК, также привязанная к репаративному циклу, в момент синхронного нахождения оставшихся стволовых и комметированных клеток опухоли в G2/M и их синхронного перехода в G1. В результате четвертой обработки происходит конечная эрадикация стволовых опухолевых клеток и завершается апоптотическая деградация комметированных опухолевых клеток.



Рис. 3. Результаты терапии по технологии «Каранахан» на различных экспериментальных моделях опухолей мыши.

4. Введение в терапию обработок сложнокомпозиционным препаратом на основе двуцепочечной ДНК в точку демаркации фаз NER и гомологичной рекомбинации репаративного процесса таким образом, что одна составляющая препарата будет интерферировать процесс NER, а вторая – процесс гомологичной рекомбинации, что полностью лишит стволовую иницирующую опухолевую клетку возможности преодолеть терапевтический «удар», и она или погибнет, или потеряет туморогенность. Одновременно введение в терапию обработки сложнокомпозиционным препаратом на основе двуцепочечной ДНК приведет к масштабному лизису комметированных опухолевых клеток.

Условно технология разбивается на два фрагмента:

1. Предварительный – определение временных параметров репаративного цикла и дня финальной обработки, эрадицирующей стволовые иницирующие опухолевые клетки.
2. Терапевтический – обработка опухоли с введением в терапию сложнокомпозиционного препарата на основе двуцепочечной ДНК.

Общая схема технологии с определяющими ее элементами приведена на рисунке 2.

Данная технология лечения злокачественных новообразований была успешно апробирована

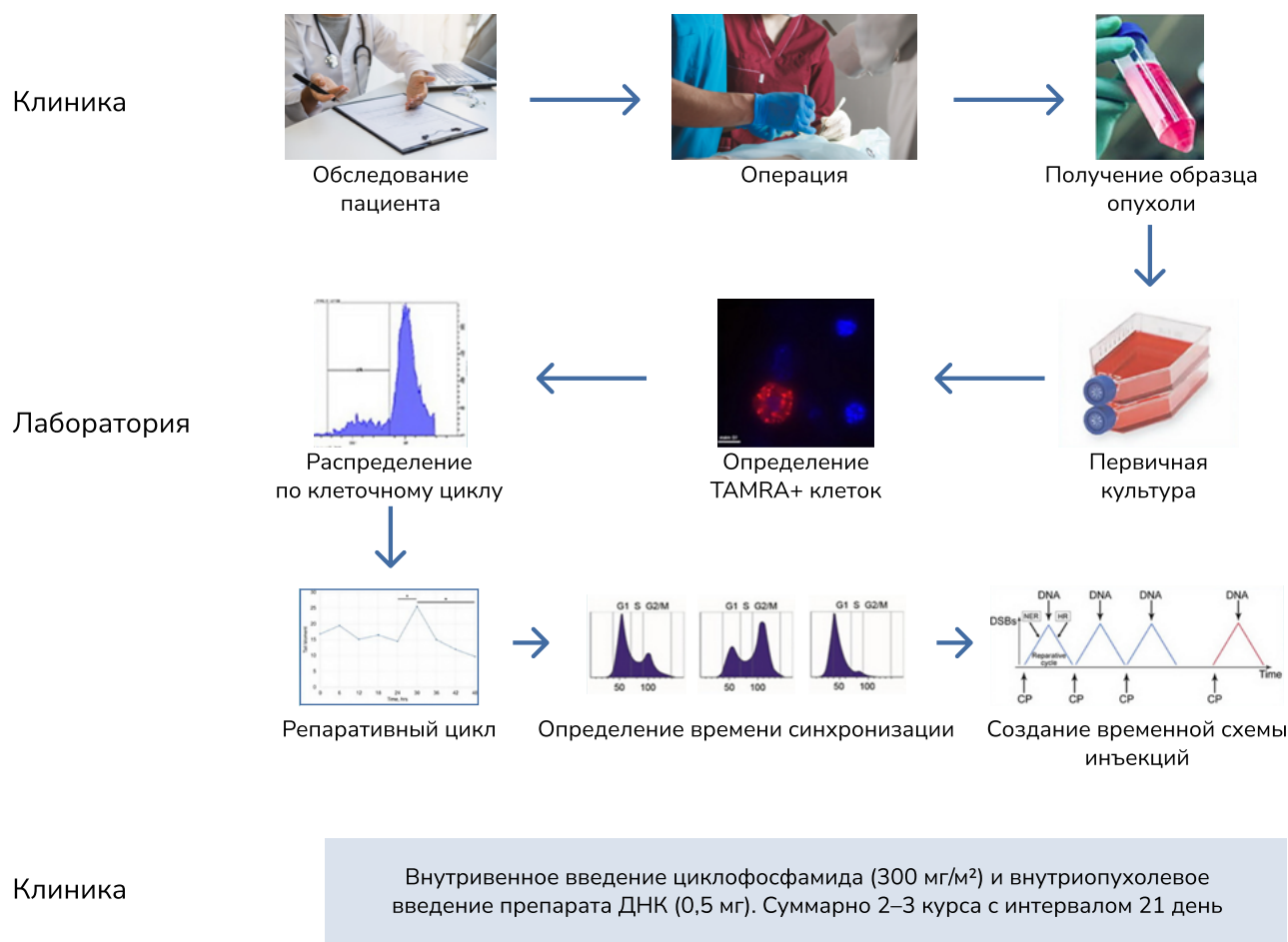


Рис. 4. Схема применения технологии «Карапахан» в клинической практике.



и показала свою эффективность на различных экспериментальных моделях, таких как карцинома Кребс-2 мышей в солидной и асцитной форме, гепатокарцинома мышей Г-29, лимфосаркома RLS мышей, устойчивая к действию циклофосамида, карцинома Льюиса, лимфома A20, первичные культуры глиобластомы человека, культура клеток глиобластомы человека U-87 (Рис. 3).

Одной из особенностей новой технологии является ее персонифицированный характер. При применении технологии «Каранакхан» определяется индивидуальный для каждой опухоли временной режим обработок кросслинкирующим цитостатиком и сложноконпозиционным препаратом на основе двуцепочечной ДНК, что необходимо для эрадикации стволовых опухолевых клеток (Рис. 4).

Технология защищена патентами RU 2662354 C1 от 25.07.2018 «Способ лечения онкологических заболеваний», RU 2595864 C1 от 04.08.2016 «Способ лечения асцитной формы рака», RU 2542410 C1 от 21.01.2015 «Способ эрадикации стволовых инициирующих раковых клеток», RU 2530170 C1 от 12.08.2014 «Способ детекции стволовых раковых клеток».

В настоящее время технология «Каранакхан» проходит клиническую апробацию при лечении рака молочной железы. Важнейшей качественной характеристикой нового подхода является возможность его применения в паллиативных, бесперспективных случаях с положительной терапевтической динамикой воздействия на прогрессирующую опухоль (протокол № 7 заседания Ученого совета НИИФКИ от 15 октября 2019 года, протокол № 120 заседания локального этического комитета при НИИФКИ от 07 ноября 2019 года.) ■



# ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОГНОЗА СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ



Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» ул. Тимакова, 2, г. Новосибирск, 630060



Королев Максим Александрович,  
руководитель филиала,  
доктор медицинских наук

**Королев Максим Александрович**  
руководитель филиала, доктор медицинских наук  
тел. (383) 332-29-59, kormax@bk.ru

**Разработанные технологии вносят вклад в решение проблемы формирования персонифицированного прогноза течения социально значимых заболеваний человека, позволяют оптимизировать профилактику и выбрать рациональную терапию. В целом они направлены на снижение инвалидизации и смертности от социально значимых заболеваний, уменьшение затрат на лечение.**

Проведены молекулярно-генетические исследования предрасположенности к социально значимым заболеваниям среди населения Сибири. Выявлены комбинированные генетические признаки, ассоциированные с высокой и низкой предрасположенностью к развитию сахарного диабета 2-го типа и диабетических ангиопатий, ревматоидного артрита, остеопороза, лимфедемы, возрастной макулярной дегенерации и ряда других заболеваний. Разработаны технологии персонифицированного прогноза течения ревматических заболеваний, сахарного диабета, остеопороза, а также методы персонифицированного ответа на терапию на основе комплексных генетических признаков. Создан рискметр сердечно-сосудистого риска при ревматоидном артрите.

Технологии основаны на биоинформационном анализе вариантов генотипов в полиморфных локусах промоторов генов цитокинов, факторов роста, матриксных металлопротеи-



наз и других биологически активных молекул, вовлеченных в воспаление, ангиогенез, атерогенез, ремоделирование соединительной ткани и другие процессы. Аналогов за рубежом не имеют.

Технологии могут применяться в практике медицинских учреждений, оказывающих специализированную и высокотехнологичную помощь по профилям «эндокринология», «ревматология», «хирургия», «офтальмология» и др. ■

### ФАРМАКОГЕНОМИКА РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ВЫБОРА ЭФФЕКТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНОГО

