

СТРЕСС ПОД КОНТРОЛЕМ



Научно-практический журнал
2019 год №2



Главный редактор

Акарачкова Е.С., Президент Международного общества «Стресс под контролем»,
член-корр. РАЕН, д.м.н.

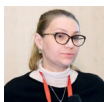
Зам. главного редактора

Замерград М.В., д.м.н., профессор Кафедры неврологии ГБОУ ДПО РМАПО

Редакционная коллегия

Артеменко Ада Равильевна	Котова Ольга Владимировна
Байдаулетова Алия Иманалиевна	Кулуа Тасо Карловна
Блинов Дмитрий Владиславович	Курушина Ольга Викторовна
Борисов Владимир Викторович	Лебедева Джинна Ивановна
Головкова-Кучерявая Мария Сергеевна	Мельникова Ирина Михайловна
Громова Ольга Алексеевна	Орлова Александра Сергеевна
Джобава Элисо Мурманова	Остроушко Надежда Игоревна
Исайкин Алексей Иванович	Преображенская Ирина Сергеевна
Кадырова Лидия Ринадовна	Радченко Ирина Александровна
Клименко Алеся Александровна	Сюняков Тимур Сергеевич
Кондрашов Артем Александрович	Царева Елена Вячеславовна
Косивцова Ольга Владимировна	Шавкута Галина Владимировна

Вступительное слово



Уважаемые читатели!

Перед вами не совсем обычный номер нашего журнала. В этом номере мы решили дать слово нашим молодым коллегам из Международной школы «Медицина будущего» и Кафедры патологии человека лечебного факультета Сеченовского Университета.

В данной номере информация представлена в необычном для журнальных статей виде. Но мы решили, что формат воркшопов будет интересен для современного читателя-клинициста.

Президент Международного общества «Стресс под контролем», член-корр. РАЕН, д.м.н.
Акарачкова Е.С.



Уважаемые коллеги!

Персонализированная медицина становится неотъемлемой частью работы многих специалистов. Студенты Сеченовского Университета активно интересуются последними разработками в данной области и с большим энтузиазмом согласились принять участие в создании данного номера журнала, посвященного основным достижениям персонализированного подхода в лечении и диагностике различных заболеваний. На занятиях «Фундаментальные основы персонализированной медицины» и «Основы научно-исследовательской деятельности», проводимых на кафедре патологии человека под руководством заведующего кафедрой, д.м.н., профессора С.Б. Болевича, д.б.н., профессора С.И. Воробьева, д.м.н., профессора Е.В. Силиной, д.м.н., профессора М.Л. Колотиловой и к.м.н., доцента А.С. Орловой, студенты готовили работы на интересующие их темы с учетом последних достижений персонализированного подхода в диагностике и лечении заболеваний. Для данного номера журнала мы отобрали наиболее актуальные широкому кругу читателей работы.

К.м.н., доцент кафедры патологии человека ЛФ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский университет)
Орлова А.С.

Содержание

	Стр.
Геномика – история становления как науки. Технология рекомбинантных ДНК А.Д. Москвичева	05-22
Люди, не чувствующие боль, миф или реальность? М.М. Орлова	23-34
Сравнение подтипов <i>MODY-диабета</i> на основе их этиологических и патогенетических особенностей Т.А. Семерюк, Д.В. Прохватаева	35-89
Молекулярные основы развития и функционирования нейрона А.Д. Птушкина	90-97
ДНК – микрочипы К.Г. Манукян	99-125
Мастоцитоз с молекулярной точки зрения К.М. Шкурлатовская	127-141



Геномика – история становления как науки. Технология рекомбинантных ДНК.

Выполнила студентка V курса, группы 01-94,
Международной школы «Медицина будущего»,
Москвичева Алена Дмитриевна.

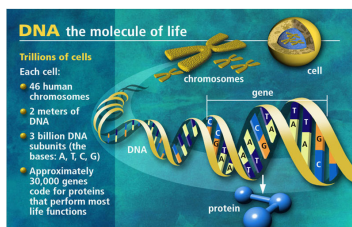
Москва
2019

Актуальность

- Информационный взрыв в области генной инженерии поистине головокружителен. Для того чтобы исследовать научные работы в данном направлении, необходимо усвоить фундаментальные основы технологии рекомбинантных ДНК;
- С помощью технологии рекомбинантных ДНК можно получать белки человека в количествах достаточных для терапевтических целей (инсулин, сывороточный альбумин);
- Перспективно применение технологии рекомбинантных ДНК для решения диагностических задач и при установлении степени риска развития ряда заболеваний;
- Появилась потенциальная возможность осуществления генной терапии наследственных заболеваний, используя технологию рекомбинантных ДНК.

Геном и геномика

Геном – вся совокупность наследственного материала, содержащегося в клетке и несущего биологическую информацию, необходимую для развития и функционирования всего организма

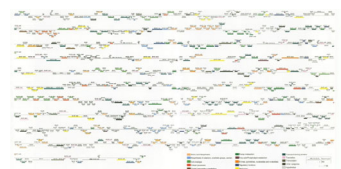


Геномика – направление в молекулярной биологии, занимающееся исследованием структуры и функций всей совокупности генов организма или значительной их части.

<https://annousghosn.wordpress.com/2013/10/23/famous-molecule/>

История развития геномики (1)

В 1977 г. был секвенирован первый полный геном бактериофага φX174 (5 375 нуклеотидов)



1995 г. - получение полной нуклеотидной последовательности (1 830 137 пар оснований) генома бактерии *Haemophilus influenzae*



Генная карта бактерии *Haemophilus influenzae*

<http://science.sciencemag.org/content/269/5223/496>

История развития геномики (2)

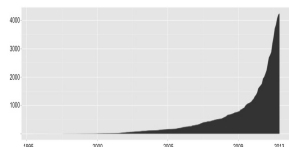
1990 г. – 2006 г. – проект «Геном человека» (англ. The Human Genome Project, HGP) - ключевое событие в формировании геномики
Главная цель проекта - определить последовательность нуклеотидов, составляющих ДНК, и идентифицировать 20—25 тыс. генов в человеческом геноме.
Официально завершённым международный проект считается после опубликования первичной структуры последней из секвенированных хромосом – хромосомы I.

Логотип проекта
«Геном человека»



<http://www.ornl.gov/hgmis>

С дальнейшим развитием и удешевлением технологий секвенирования появилась возможность начать большое число новых геномных проектов.



Экспоненциальный рост количества секвенированных (полностью либо в основном) бактериальных геномов, депонированных в базе данных GenBank.

http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/18-1/16_Vasilev.pdf

Технология рекомбинантных ДНК. Основные методы

- ✓ Специфическое расщепление ДНК рестрицирующими нуклеазами;
- ✓ Секвенирование всех нуклеотидов в очищенном фрагменте ДНК;
- ✓ Клонирование ДНК.

Специфическое расщепление ДНК рестрицирующими нуклеазами

Важным свойством каждой рестрикционной нуклеазы (или рестриктазы) является способность разрезать строго определенную – целевую – последовательность нуклеотидов ДНК.



Сверху — целевая последовательность рестриктазы SmaI, при работе которой образуются «тупые» концы.

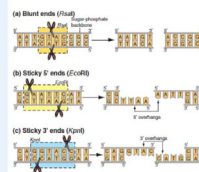
Снизу — целевая последовательность рестриктазы EcoRI, при работе которой образуются «липкие» концы.

<https://biomolecula.ru/articles/vazhneishie-metody-molekuliarnoi-biologii-i-gennoi-inzhenerii>

Специфическое расщепление ДНК рестрицирующими нуклеазами

Широко используемые рестриктазы

Enzyme	Sequence of Recognition Site	Microbial Origin
SmaI	5'- CCCGGG -3' 3'- GGGCCC -5'	<i>Staphylococcus aureus</i> T8
EcoRI	5'- GAATTC -3' 3'- CTTAAG -5'	<i>Escherichia coli</i>
BamHI	5'- GATCCT -3' 3'- AGATCT -5'	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> H
HindIII	5'- AAGCTT -3' 3'- CTAAGC -5'	<i>Haemophilus influenzae</i>
KpnI	5'- GTACAC -3' 3'- GTGCA -5'	<i>Klebsiella pneumoniae</i> O15
ClaI	5'- ATATC -3' 3'- ATATC -5'	<i>Corynebacterium latum</i>
BclI	5'- TAGCTA -3' 3'- AGCTAG -5'	<i>Bacillus subtilis</i>
NciI	5'- CCGAGC -3' 3'- GGCTCG -5'	<i>Nocardia asteroides</i>

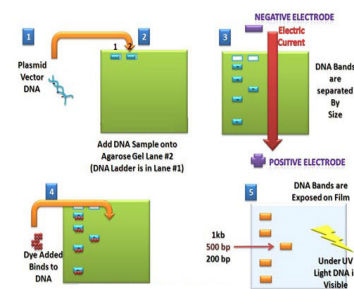


<https://www.slideshare.net/BioinformaticsInstitute/biotechnology-201203>

Разделение молекул ДНК: электрофорез в геле

Визуализировать результаты электрофореза можно с помощью добавления в гель веществ, флуоресцирующих в присутствии ДНК (например, бромистого этидия).

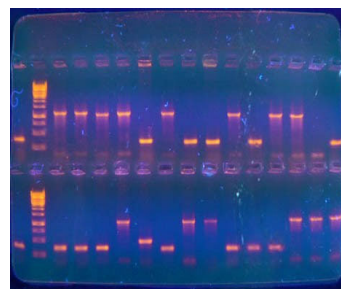
Схема проведения электрофореза ДНК в агарозном геле



<https://biomolecula.ru/articles/vazhnishie-metody-molekuliarnoi-biologii-i-gennoi-inzhenerii>

Разделение молекул ДНК: электрофорез в геле

Электрофорез в агарозном геле с использованием бромистого этидия для визуализации результатов в ультрафиолете. Вторая слева дорожка — маркер с известными длинами фрагментов.



<https://biomolecula.ru/articles/vazhnishie-metody-molekuliarnoi-biologii-i-gennoi-inzhenerii>

Секвенирование нуклеотидов в очищенном фрагменте ДНК

Общий принцип пробоподготовки для большинства современных (NGS) секвенаторов включает: фрагментирование ДНК, амплификацию фрагментов с помощью ПЦР, привязку к субстрату.

В 2017 году на рынке представлены сразу несколько перспективных разработок в области секвенирования нуклеиновых кислот.

Эти подходы применены в секвенаторах нового поколения:

- Ion Proton и Ion Personal Genome Machine (Thermo Fisher Scientific) — технология ионного полупроводникового секвенирования;
- MiSeq и NovaSeq (Illumina) — технология секвенирования на молекулярных кластерах с использованием флуоресцентно меченых нуклеотидов;
- MinION, GridION X5, PromethION и SmidgION (Oxford Nanopore Technologies) — нанопоровое секвенирование

http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/18-1/16_Vasiljev.pdf

Секвенирование нуклеотидов в очищенном фрагменте ДНК

NGS(next-generation sequencing)-системы



http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/18-1/16_Vasiljev.pdf

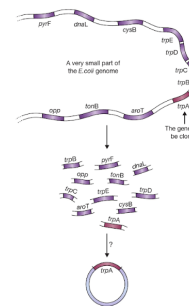
Клонирование ДНК

Процесс клонирования включает:

встраивание необходимого фрагмента ДНК в плазмиду с помощью рестриктаз и лигаз;
трансформацию бактерий в культуру;
отбор бактерий, трансформация которых прошла успешно (при добавлении соответствующего гена в плазмиде антибиотика);
рост культуры клеток с последующим выделением плазмид или белкового продукта

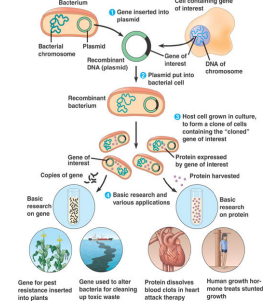
Клонирование ДНК

Встраивание необходимого фрагмента ДНК в плазмиду



<https://books.google.ru/books?id=pi3dCQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=ru&v=onepage&q&f=false>

Клонирование ДНК в бактериальной клетке

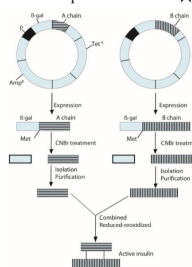


<http://www.myshared.ru/slide/986691/>

Применение технологии рекомбинантных ДНК для производства инсулина, альтеплазы и сывороточного альбумина

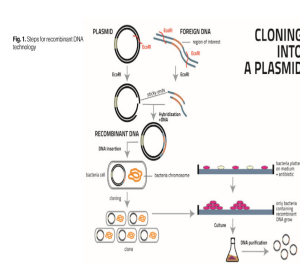
Применение технологии рекомбинантных ДНК дает возможность получать белки человека в значительных количествах и использовать их в терапевтических целях (инсулин, альтеплаза, сывороточный альбумин).

Производство инсулина с применением технологии рекомбинантных ДНК



<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S173411401371466X>

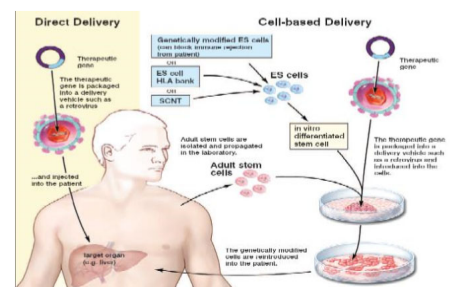
Применение технологии рекомбинантных ДНК в биотехнологии



Использование вирусов в качестве «вектора» для осуществления генной терапии

Перспективно применение рекомбинантных вирусов для осуществления генной терапии.

Способы осуществления генной терапии



<http://www.pscipub.com/Journals/Data/JList/Applied%20Science%20Reports/2013/Volume%202/Issue%202/1.pdf>

Список литературы

1. Васильев Г.В. Геномика. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014;18(1):158-165.
2. Sanger F, Air GM, Barrell BG et al. Nucleotide sequence of bacteriophage ϕ X174 DNA. Nature. 1977; 265(5596): 687.
3. Fleischmann RD, Adams MD, White O et al. Whole-genome random sequencing and assembly of Haemophilus influenzae Rd. Science. 1995; 269(5223): 496-512.
4. Brown TA. Gene cloning and DNA analysis: an introduction. John Wiley & Sons, 2016.
5. Bollon AP. Recombinant DNA products: Insulin, interferon and growth hormone. – CRC Press, 2017.
6. Флямер И. Важнейшие методы молекулярной биологии и геномной инженерии//Биомолекула – 2011. <https://biomolecula.ru/articles/vazhneishie-metody-molekuliarnoi-biologii-i-gennoi-inzhenerii>
7. Недолужко А, Пташник О. Секвенирование нуклеиновых кислот//Биомолекула – 2017. <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-sekvenirovanie-nukleinovyykh-kislot>
8. Stryjewska A, Kierura K, Librowski T, Lochyński S. Biotechnology and genetic engineering in the new drug development. Part I. DNA technology and recombinant proteins. Pharmacological Reports. 2013; 65(5): 1075-1085.
9. Chen Z, He Y, Shi B, Yang D. Human serum albumin from recombinant DNA technology: challenges and strategies. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2013; 1830(12): 5515-5525.
10. Gavanji S, Begum M, Newaz AW, Dewan B, Kamal M. Application of recombinant DNA technology — A review. App. Sci. Rep. 2013; 2: 29-31.

ФГАОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Кафедра патологии человека лечебного факультета



Люди, не чувствующие боль, миф или реальность?

Выполнила студентка II курса, группы 500-03,
Международной школы «Медицина будущего» (ДОП)
Орлова Мария Михайловна

Москва
2019

Актуальность

Врожденная аналгезия — состояние, при котором человек не чувствует физической боли. Около миллиона людей в настоящее время не чувствуют физическую боль, что приносит им множество проблем со здоровьем. Мутации в гене SCN9A - известная на сегодняшний день причина врожденной аналгезии. Универсальной методики борьбы с этим отклонением не разработано. Обнаружение отклонений в гене SCN9A дает возможность создать новые высокоэффективные анальгетики.



<https://michgan.ru/zdorove/ty-chuvstvuesh-bol-cto-proisxodit-v-nervnoj-sisteme.html>

Боль

Боль — системная реакция организма, возникающая на действие повреждающего фактора и направленная на избавление организма от него.

П. К. Анохин

Как системная реакция организма боль состоит из 3-х процессов:

возбуждение рецепторов;
проведение импульсов в центральную нервную систему и возбуждение центральных структур;
комплекс эффективных реакций, направленных на избавление организма от вредного фактора.



Соматические
реакции



Теории механизма возникновения болевых ощущений

На сегодняшний день приняты две теории механизма возникновения болевых ощущений, которые дополняют друг друга: теория специфичности и теория интенсивности

Теория Фрея
(теория специфичности)



Болевые ощущения возникают при возбуждении специфических рецепторов (ноцицепторов)

Теория Гольдшейдера
(теория интенсивности)

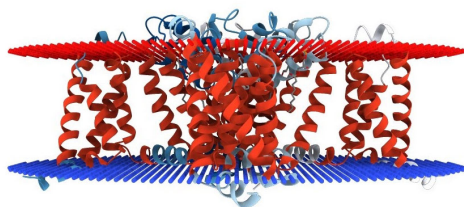


Болевые ощущения могут возникать в любых рецепторах, но при действии на них очень сильных раздражителей

Натриевый канал ноцицепторов

- Белок Nav1.7 образует потенциалзависимый натриевый канал
- α -субъединицу белка Nav1.7 кодирует ген SCN9A
- Экспрессия гена SCN9A повышена в нейронах периферической нервной системы, которые отвечают за болевое восприятие

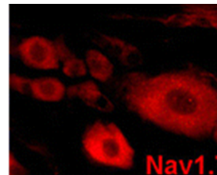
3D-структура натриевого канала Nav1.7 (PDB ID: 3rvy)



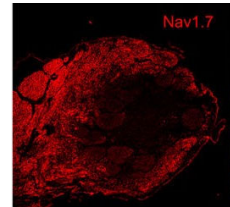
<http://opm.phar.umich.edu/protein.php?pdbid=3rvy>

Натриевый канал ноцицепторов

Иммунофлуоресцентное
окрашивание
белка Nav1.7



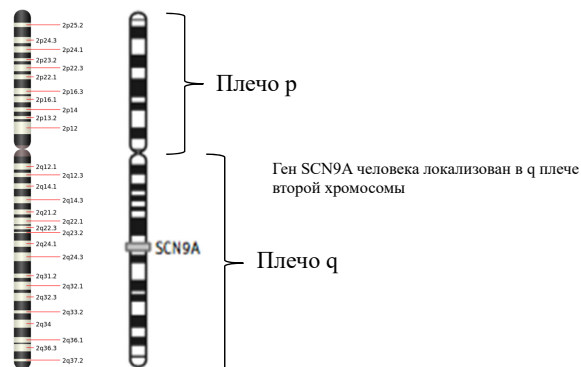
Распределение
белка Nav1.7
в нейронах



<https://link.springer.com/article/10.1186/s12871-017-0438-8>

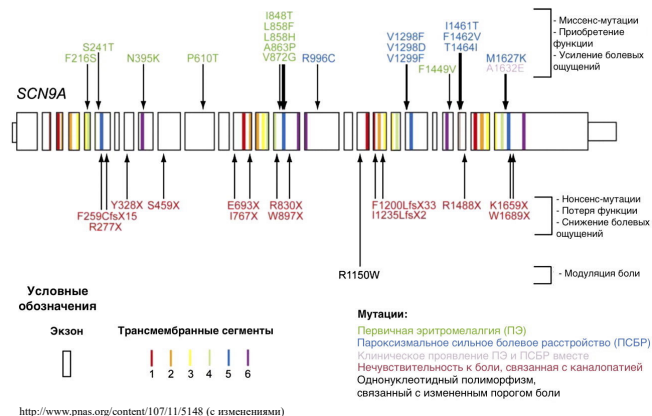
Локализация гена SCN9A

Хромосомная идеограмма 2-й хромосомы человека



http://www.turkcewiki.org/wiki/Dosya:Chromosome_2.svg
<http://home.cc.umanitoba.ca/~first/PLNT3140/118/118.1.html>

Структура гена SCN9A



<http://www.pnas.org/content/107/11/5148> (с изменениями)

Люди, не чувствующие боль, - реальность

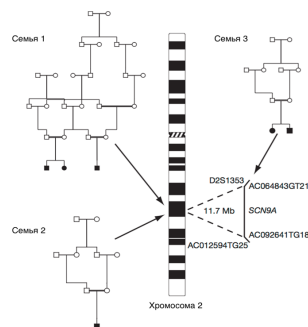
Исследовали три семьи с врожденной анальгезией, проживающие в северном Пакистане и принадлежащие к одному клану. Анализа генетических маркеров выявил: во всех трех семьях причиной аномалии оказалась мутация гена SCN9A, но конкретные мутации в каждой семье разные: замена (в двух случаях) или делеция (в третьем случае) одного нуклеотида в кодирующей части гена. Обнаруженные мутации приводят к полной потере функциональности гена SCN9A.



<http://www.nature.com/articles/nature05413>; <http://www.leedsinspired.co.uk/events>

Люди, не чувствующие боль, - реальность

Родословная клана и обнаруженные мутации гена SCN9A



<http://www.nature.com/articles/nature05413>; <http://www.leedsinspired.co.uk/events>

Генная терапия SCN9A

Генная терапия - один из возможных способов лечения хронической боли, мишенью которой может быть ген **SCN9A**



<http://neja.phct.ru/bioinzheneriya>

Список литературы

1. Yang Y, Wang Y, Li S et al. Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia. J Med Genet. 2004;41(3):171-4.
2. Cox JJ, Reimann F, Nicholas AK et al. An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain. Nature. 2006;444(7121):894-8.
3. Kurban M, Wajid M, Shimomura Y, Christiano AM. A Nonsense Mutation in the SCN9A Gene in Congenital Insensitivity to Pain. Dermatology. 2010;221(2):179-83.
4. Staud R, Price DD, Janicke D et al. Two Novel Mutations of SCN9A (Nav1.7) are Associated with Partial Congenital Insensitivity to Pain. Eur J Pain. 2011;15(3):223-30.
5. Cummins TR, Sheets PL, Waxman SG. The roles of sodium channels in nociception: implications for mechanisms of pain. Pain. 2007;131(3):243-57.
6. Reimann F, Cox JJ, Belfer I. Pain perception is altered by a nucleotide polymorphism in SCN9A. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107(11):5148-53.
7. Назаров И.П. Патофизиология болевых синдромов, принципы лечения (сообщение). Сибирское медицинское обозрение. 2010. №6 (43). С. 11-20.
8. Раимкулов Б.Н., Раимкулова К.Б., Раимкулова Х.Б. и др. Общая характеристика боли. Механизм развития боли. Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2016. №2. С. 304-307.
9. Заклязьминская Е.В. Генетические факторы болевой чувствительности. Клин. и эксперимент. хир. Журн. им. акад. Б.В. Петровского. 2016. №3. С. 6-12.
10. Яворская Н.П. Боль: от молекулярных механизмов к клиническим аспектам. Международный неврологический журнал. 2013. №3 (41). С. 130-135.

ФГАОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
Кафедра патологии человека лечебного факультета



Сравнение подтипов *MODY*-диабета на основе их этиологических и патогенетических особенностей

Выполнили:
Студентка 5 курса группы 01-87 группы
Международной школы «Медицина будущего» (ДОП)
Семерюк Татьяна Александровна;
Студентка 2 курса группы 500-03
Международной школы «Медицина будущего» (ДОП) Прохватаева Дина Вячеславовна

Москва
2019

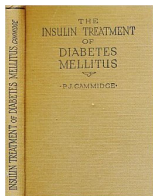
Актуальность

- По данным ВОЗ, **более 420 млн.** больных сахарным диабетом по всему миру и продолжение стремительного роста числа заболевших – на **5-7% ежегодно**
- Все чаще диабет обнаруживается у лиц молодого возраста – **моложе 25 лет**
- Больные сахарным диабетом в **2-3 раза чаще** умирают от сердечнососудистых заболеваний и в **10 раз чаще** теряют зрение по сравнению со здоровыми людьми
- Проблема верификации типа сахарного диабета – почти в **80%** случаев MODY-диабет не определяется или неправильно диагностируется как диабет 1-го или 2-го типа, что приводит к некорректной терапии заболевания
- Назначение неадекватной терапии увеличивает затраты на лечение таких пациентов – в Российской Федерации – **375 млрд. рублей** ежегодно

Определение

- MODY-диабет представляет собой гетерогенную группу заболеваний, в основе которых лежат мутации различных генов.
- Самое частое клиническое проявление MODY-диабета – мягкое бессимптомное повышение концентрации глюкозы у детей, подростков или молодых людей с семейным анамнезом диабета в последовательных поколениях

Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) диабет зрелого типа у молодых



П. Кэмидж
«Лечение сахарного диабета
инсулином», 1928 (1)



Стефан Фаянс
профессор терапии внутренних
болезней медицинского
факультета Мичиганского
университета (2)



Роберт Таттерсолл
профессор метаболической
медицины Ноттингемского
университета (3)

https://www.amazon.co.uk/Insulin-Treatment-Diabetes-Mellitus/dp/B07954788T/ref=sr_1_2/258-1054305-3508761?__source=books&ie=UTF8&qid=1525621321&sr=1-2

2) <http://journeytoimaging.com/science/>

3) Tattersall R. The dark ages of diabetes // The British Journal of Diabetes & Vascular Disease. – 2002. – Т. 2. – №. 6. – С. 423-426.

Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) диабет зрелого типа у молодых

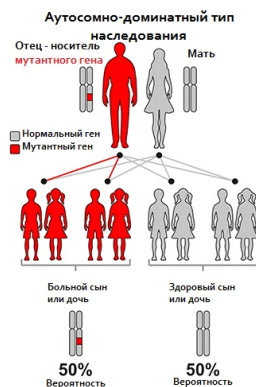
Моногенная форма сахарного диабета с аутосомно-доминантным типом наследования и высокой пенетрантностью. Первое упоминание в литературе одного из подтипов (по-видимому MODY2) принадлежит Кеммиджу, который еще в 1928 году указал на то, что "доминантный тип имеет практически всегда мягкое течение, даже у больных молодого возраста, и может персистировать в течение многих лет без выраженных проявлений или значительного влияния на общее состояние здоровья". В 1975 году Стефан Фаянс и Роберт Таттерсолл впервые использовали термин "диабет зрелого типа у молодых лиц".

https://www.amazon.co.uk/Insulin-Treatment-Diabetes-Mellitus/dp/B07954788T/ref=sr_1_2/258-1054305-3508761?__source=books&ie=UTF8&qid=1525621321&sr=1-2

2) <http://journeytoimaging.com/science/>

3) Tattersall R. The dark ages of diabetes // The British Journal of Diabetes & Vascular Disease. – 2002. – Т. 2. – №. 6. – С. 423-426.

Наследование



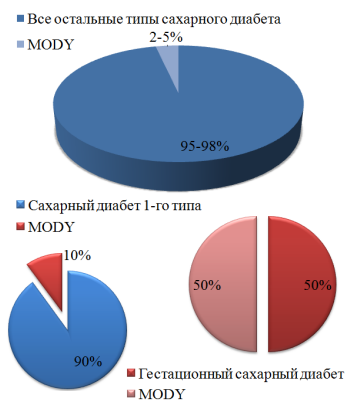
В 1974 году Таттерсолл приводил наблюдение трех семей с MODY и впервые после Кеммиджа указал на аутосомно-доминантный тип наследования.

Термином MODY обозначали СД, диагностированный в молодом возрасте, но протекающий в мягкой форме, подобно СД 2-го типа, но без снижения чувствительности к инсулину.

В дальнейшем MODY стали классифицировать как генетически обусловленный СД с дефектом функционирования β-клеток ПЖ.

<https://www.niddk.nih.gov/health-information/diabetes/overview/what-is-diabetes/monogenic-neonatal-mellitus-mody>

Распространенность



В среднем MODY выявляется в 2—5% случаев среди общего числа случаев СД и в половине случаев при гестационном СД.

Среди больных СД-1 не диагностированный MODY определяется у 10%.

MODY включает в себя несколько клинически и генетически гетерогенных подтипов.

<https://www.niddk.nih.gov/health-information/diabetes/overview/what-is-diabetes/monogenic-neonatal-mellitus-mody>

Диагностические критерии MODY-диабета

- 1. Гипергликемия, диагностируемая в возрасте до 25 лет у одного, оптимально, у двух членов семьи
- 2. Аутосомно-доминантный тип наследования с вертикальной передачей диабета в трех поколениях и похожим фенотипом болезни у всех членов семьи
- 3. Отсутствие инсулинотерапии более 5 лет после установления диагноза или сохраненный уровень С-пептида у пациентов, получающих терапию инсулином
- 4. Уровни инсулина часто в пределах нормы, хотя находятся на нижней границе, что указывает на первичный дефект в функции β-клеток
- 5. Распространенность избыточного веса или ожирения при MODY – как в популяции

Kim S-H. Maturity-Onset Diabetes of the Young: What Do Clinicians Need to Know?Diabetes & Metabolism Journal. 2015; 39(6):468-477. doi:10.4093/dmj.2015.39.6.468.

Диагностический алгоритм проведения молекулярно-генетического тестирования для выявления MODY-диабета у молодых лиц с диабетом



Kim S-H. Maturity-Onset Diabetes of the Young: What Do Clinicians Need to Know?Diabetes & Metabolism Journal. 2015; 39(6):468-477. doi:10.4093/dmj.2015.39.6.468.

Признак MODY	Отличие от СД I или II типа
Раннее выявление (до 25 лет)	СД II типа чаще выявляется после 50 лет
Отсутствие ожирения	Ожирение очень характерно для СД II типа
Наследственный характер (повышенный уровень глюкозы в двух и более поколениях)	При наличии СД I типа у родственников риск заболеть высокий, но значительно ниже 100%
Отсутствие кетоацидоза (запах ацетона и кетоновых тел в моче) при выявлении диабета	Кетоацидоз характерен для начала СД I типа
Сохранение секреции инсулина β-клетками, о чем свидетельствует нормальный уровень С-пептида	Низкий уровень С-пептида очень характерен для СД I типа
Отсутствие антител против клеток поджелудочной железы, к инсулину, тирозинфосфатазе и глутаматдекарбоксилазе	Наличие антител очень характерно для начала СД I типа (потом антитела могут исчезнуть из крови)
Длительная (от 1 года и больше) ремиссия («медовый месяц диабетика») без периодов высокого уровня глюкозы в крови	Длительный «медовый месяц» не характерен для СД I типа, обычно он длится не более 1-3 месяцев
Состояние компенсации на фоне малой потребности в инсулине (уровень гликозилированного гемоглобина HbA1c находится в рекомендованных для больных СД I типа значениях — ниже 8%)	При СД I типа нужно регулярное введение значительных доз инсулина для поддержания рекомендованного уровня сахара в крови
Отсутствие ассоциации с HLA-антигенами	При СД I типа у 50% выявляются HLA-антигены DR4, DQB*0302 и/или DR3, DQB*0201, наличие которых многократно увеличивает риск болезни

Barret T.G. Differential diagnosis of type 1 diabetes: which genetic syndromes need to be considered? T.G. Barret/Pediatric Diabetes—20010—3681—P.15-23.

Гены, мутации в которых приводят к развитию MODY-диабета

- 1. Ген ядерного фактора гепатоцитов 4α (HNF4A; MODY1)
- 2. Ген глюкокиназы (GCK; MODY2)
- 3. Ген ядерного фактора гепатоцитов 1α (HNF1A; MODY3),
- 4. Ген транскрипционного фактора PDX1 (PDX1; MODY4),
- 5. Ген фактора транскрипции 2 (TCF2) или ядерный фактор гепатоцитов 1β (HNF1B; MODY5)
- 6. Ген фактора нейrogenной дифференцировки 1 (NEUROD1; MODY6)
- 7. Ген Klfppel-подобного фактора 11 (KLF11; MODY7)
- 8. Ген карбоксил-этер-липазы (CEL; MODY8)
- 9. Ген PAX4 (PAX4; MODY9)
- 10. Ген инсулина (INS; MODY10),
- 11. В-лимфоциткиназа (BLK; MODY11)
- 12. АТФ-связывающая кассета, субсемейство C (CFTR/MRP), член 8 (ABCC8; MODY12),
- 13. Ген KCNJ11 (MODY13)

Клинические и молекулярно-генетические характеристики различных типов диабета MODY
Сахарный диабет: многообразие клинических форм / Петеркова В.А., Курава Т.Л., Зильберман [и др.]; под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. - М.: Изд-во «Медицинское информационное агентство», 2016

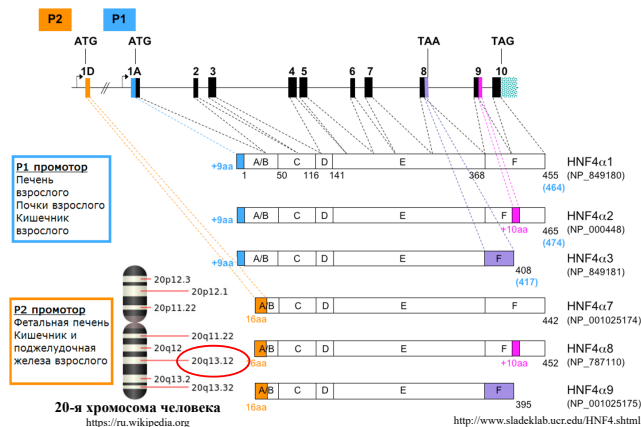
Под-тип	MODY-ген, экспрессия	Расположение генов в хромосоме	Белок	Частота (% от MODY)	Патофизиология	Клиническая характеристика	Лечение
MODY 1	HNF-4α Печень, почки, ПЖ, кишечник	20q13	Ядерный фактор гепатоцитов 4α	5	Дисфункция β-клеток	Неонатальная гиперинсулинемия, низкий уровень триглицеридов	Чувствительны к препаратам сульфонилмочевины
MODY 2	GCK ПЖ, печень, ГМ, эндокринные клетки кишечника	7p13	Глюкокиназа	15-20	Дисфункция β-клеток	Гипергликемия 5,5-8,5 ммоль/л натощак с рождения	Диета
MODY 3	HNF-1α Печень, ПЖ, почки, кишечник	12q24	Ядерный фактор гепатоцитов	30-50	Дисфункция β-клеток	Глюкозурия, высокий риск макро- и микрососудистых осложнений	Чувствительны к препаратам сульфонилмочевины
MODY 4	PDX/PPF-1 ПЖ	13q12	Фактор активации инсулина	<1	Дисфункция β-клеток	Встречается редко Гомозиготные: агенезия поджелудочной железы	Диета и пероральные сахароснижающие препараты или инсулин

Под-тип	MODY-ген, экспрессия	Расположение генов в хромосоме	Белок	Частота (% от MODY)	Патофизиология	Клиническая характеристика	Лечение
MODY 5	HNF-1β Печень, почки, желудок, легкие, яичники, ПЖ	17q12	Ядерный фактор гепатоцитов 1β	5	Дисфункция β-клеток	Аномалия развития почек, половых органов, гипоплазия поджелудочной железы, нарушенная функция печени	Инсулин
MODY 6	NeuroD1 ПЖ	2q31	Нейрогенный фактор дифференцировки	<1	Дисфункция β-клеток	Встречается редко. Проявляется во взрослом возрасте. Гипоплазия мозжечка, задержка психического развития, сенсорная слухота, зрительные расстройства	Пероральные сахароснижающие препараты или инсулин
MODY 7	KLF11 ПЖ	2p25	Kruppel-подобный фактор	<1	Дисфункция β-клеток	Встречается редко Клинически схож с СД 2	Пероральные сахароснижающие препараты или инсулин

Подтип	MODY-ген, экспрессия	Расположение генов в хромосоме	Белок	Частота (% от MODY)	Патофизиология	Клиническая характеристика	Лечение
MODY 8	CEL Молочные железы, ПЖ	9q34	Липолитический фермент эстера карбоновой кислоты	<1	Нарушение эндокринной и экзокринной функции поджелудочной железы	Экзокринная недостаточность, липоматоз поджелудочной железы (описана в 2х семьях из Норвегии)	Пероральные сахароснижающие препараты или инсулин
MODY 9	PAX4 ПЖ	7q32	Транскрипционный фактор	<1	Дисфункция β-клеток	Встречается редко Возможен кетоацидоз	Диета и пероральные сахароснижающие препараты или инсулин
MODY 10	INS ПЖ	11p15	Инсулин	<1	Мутация гена инсулина	Чаще всего инсулиноподобный СД. В родословной могут быть случаи неонатального СД. Может манифестировать как перманентный неонатальный СД	Пероральные сахароснижающие препараты или инсулин

Подтип	MODY-ген, экспрессия	Расположение генов в хромосоме	Белок	Частота (% от MODY)	Патофизиология	Клиническая характеристика	Лечение
MODY 11	BLK ПЖ	8p23	В-лимфоцитная тирозинкиназа	<1	Дефект секреции инсулина	Встречается редко. Избыточный вес, относительный дефект секреции инсулина	Диета или пероральные сахароснижающие препараты или инсулин
MODY 12	ABCC8 ПЖ	11p15	Рецептор к сульфонилмочевине	<1	Дисфункция АТФ-чувствительного калиевого канала	Фенотип похож на MODY 3 и MODY 1. В родословной могут быть случаи неонатального СД. Гомозиготные: перманентный неонатальный СД; гетерозиготные: транзиторный неонатальный СД	Пероральные сахароснижающие препараты (сульфонилмочевина)
MODY 13	KCNJ11 ПЖ	11p15	Kir6.2 (субъединица АТФ-зависимого K ⁺ -канала)	<1	Дисфункция АТФ-чувствительного калиевого канала	В родословной могут быть случаи неонатального СД. Гомозиготные: неонатальный СД	Диета или пероральные сахароснижающие препараты или инсулин

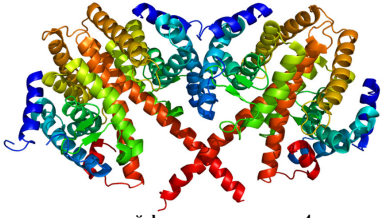
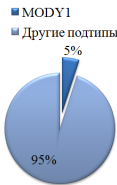
Подтип MODY1. Структура гена HNF4A



Подтип MODY1. Структура гена HNF4A

Ген HNF4A, кодирующий ядерный фактор гепатоцитов 4α, локализован на длинном плече 20-й хромосомы. Этот фактор относится к надсемейству стероидных/тиреоидных рецепторов и является регулятором экспрессии ядерного фактора гепатоцитов 1α. Кодируемый белок содержит 465 аминокислот и состоит из 5 функциональных доменов. Ген HNF4A кодирует 9 изоформ, которые возникают в результате альтернативного сплайсинга и транскрипции 2-х независимых промоторов - P1 (печеночным) и P2 (поджелудочным). Ген HNF4A играет ключевую роль в развитии, дифференциации и функционировании β-клеток ПЖ. Он регулирует экспрессию генов, участвующих в секреции инсулина, глюконеогенезе, синтезе желчных кислот и липидном обмене. Гепатоцитарные ядерные факторы не только играют ключевую роль в установлении и поддержании дифференцировки клеток печени – гепатоцитов, но и являются белками, связывающимися с промоторами генов клеток целого ряда эпителиальных тканей. Гепатоцитарные ядерные факторы не только кооперируют с гомеобелками при регуляции панкреатоспецифических генов, но и непосредственно контролируют экспрессию ряда специфических панкреатических транскрипционных факторов (Pdx1, Pax4).

Мутации, ассоциированные с MODY1



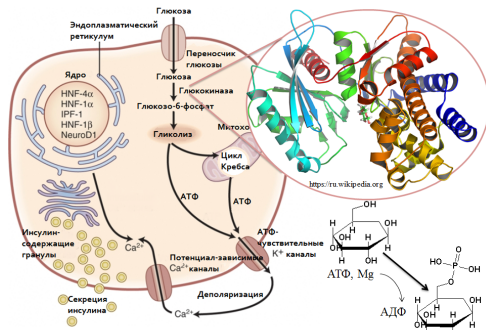
ядерный фактор гепатоцитов 4α

Локализация	Мутации
Экзоны	Q268X (нонсенс-мутация, US), E276Q (миссенс-мутация в 7-м экзоне, GB), N392 (AAC AAT во 2-м экзоне, DE), F75fsdelT, K99fsdelAA, G115S, V121I, R125W, R127W, R154X, V199I, R244Q, IVS5-2delA, S34X, R127W, D206Y, E276D, L332P, I314F, R311H (8-й экзон), L332insCTG
Интроны	IVS5nt+1G>A

Мутации, ассоциированные с MODY1

На мутации в гене HNF4A приходится примерно 5% случаев MODY. Первой была описана мутация Q268X, проявляющаяся в уменьшенной секреции инсулина β-клетками поджелудочной железы с сохранением нормальной чувствительности к инсулину, снижением функции α- и δ-клеток. В последующем описаны и другие мутации в гене, которые также ассоциированы с развитием MODY. Снижение функции HNF4A ухудшает активность β-клеток, что проявляется изменениями в дозозависимых связях между концентрацией глюкозы в плазме и уровнем секреции инсулина. Пик заболеваемости приходится на подростковый период (9–13 лет). У детей и молодых взрослых диабет протекает бессимптомно, однако у многих больных на фоне возникновения интеркуррентных заболеваний развиваются классические клинические проявления. У одних больных нарушения углеводного обмена носят непостоянный характер на протяжении многих лет, у других происходит быстрое ухудшение состояния, вплоть до развития явного диабета с потребностью в инсулине. Кроме MODY мутации в промоторе P2 связаны с риском развития сахарного диабета 2-го типа, макросомией и гиперинсулинемическими гипогликемиями у новорожденных.

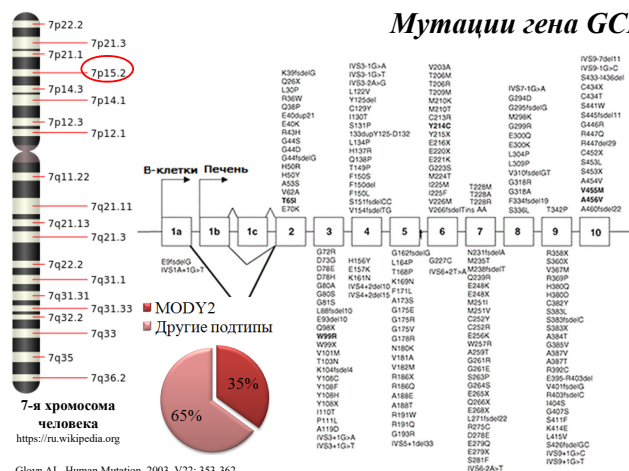
Подтип MODY2. Глюкокиназа



<https://www.diapedia.org/other-types-of-diabetes-mellitus/41040851179/monogenic-diabetes>
<http://orgchem.tsu.ru/orgchem2/glycolys/glycolys.htm>

Подтип MODY2. Глюкокиназа

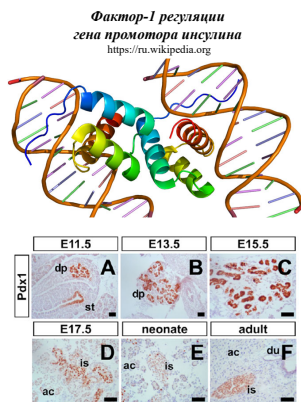
Ген GSK кодирует глюкокиназу, которая катализирует первый шаг во многих путях метаболизма глюкозы. Глюкокиназа обладает относительно низким сродством к глюкозе, что способствует регуляции активности фермента в ответ на физиологические изменения концентрации глюкозы в крови и эффективному клиренсу глюкозы из крови после еды.



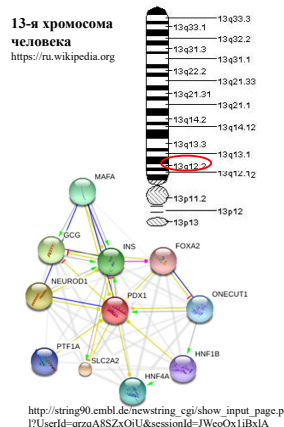
Мутации гена GSK

Ген глюкокиназы расположен на коротком плече 7-й хромосомы и имеет сложную структуру из 12 экзонов. MODY2 может быть вызван более чем 600 мутациями в гене GSK. При этом список мутаций постоянно пополняется. Большинство известных мутаций расположено в 7-м и 8-м экзонах. Экспрессия гена контролируется двумя специфическими промоторами. В гетерозиготной форме мутации в гене GSK являются причиной развития MODY2, встречающегося в 35% всех случаев MODY, тогда как в гомозиготной форме они связаны с развитием неонатального сахарного диабета, семейной гиперинсулинемической гипогликемией сахарным диабетом 2-го типа и гестационным сахарным диабетом. Снижение активности мутантной глюкокиназы может приводить к уменьшению притока глюкозы в β -клетки и повышению порога концентрации глюкозы, стимулирующей секрецию инсулина. У больных с мутациями глюкокиназы нарушены процессы накопления гликогена и увеличена скорость глюконеогенеза. Нарушения углеводного обмена у носителей мутаций могут быть выявлены уже в первые годы жизни. MODY2 характеризуется стабильной или мягкой гипергликемией. За исключением периода беременности пациенты с MODY2 не нуждаются в фармакологическом лечении. Кроме того, несмотря на длительный анамнез гипергликемии у пациентов с мутациями в гене GSK, распространенность микро- и макрососудистых осложнений при MODY2 невелика.

Подтип MODY 4 и ген PDX1(IPF1)



Murtaugh, L. C. Pancreas and beta-cell development: from the actual to the possible. Dev. Camb. Engl. 134, 427–438 (2007).

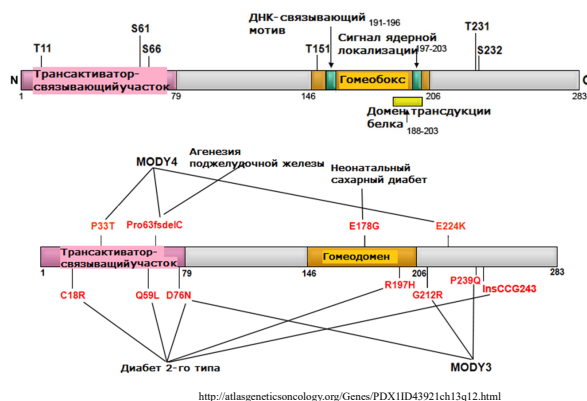


Подтип MODY 4 и ген PDX1(IPF1)

MODY4 ассоциирован с мутациями в гене PDX1, расположенном на длинном плече 13-й хромосомы. Ген PDX1 представляет собой панкреатический и дуоденальный гомеобокс-1. PDX1 — гомеодомен, который играет роль в регуляции экспрессии тысячи генов. PDX1 регулирует дифференцировку двенадцатиперстной кишки, желудка и играет главную роль в регуляции развития поджелудочной железы. Ген PDX1 кодирует белок, являющийся транскрипционным активатором для генов, кодирующих инсулин, соматостатин, глюкокиназу, ГЛЮТ-2. Протеин вовлечен в глюкозозависимую регуляцию экспрессии гена инсулина. Pdx1 необходим для формообразования и дифференцировки панкреатических зачатков. И эндокринные, и экзокринные клетки поджелудочной железы происходят из мультипотентных клеток-предшественников, экспрессирующих Pdx1. В регуляцию транскрипции гена Pdx1 вовлечены различные гепатоцитарные ядерные факторы.

Мутации гена PDX1(IPF1)

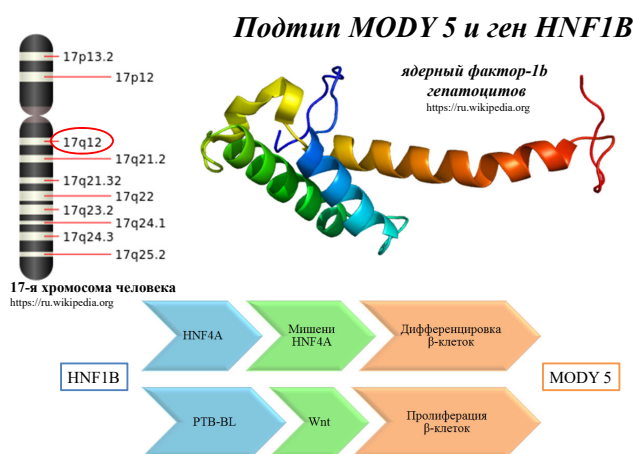
Функциональные домены и участки фосфорилирования PDX-1



<http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/PDX1/ID43921ch13q12.html>

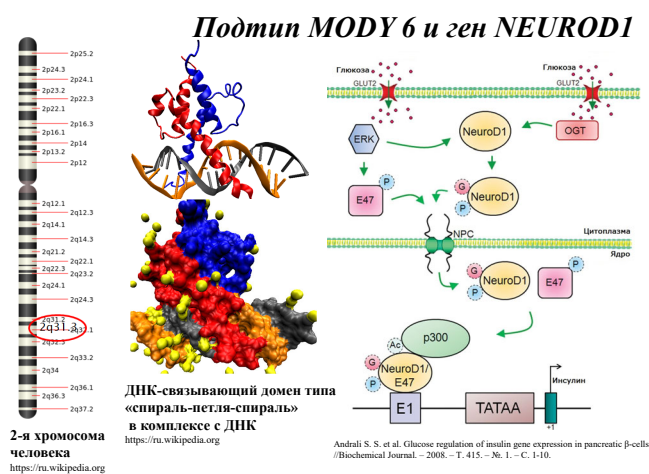
Мутации гена PDX1(IPF1)

Делеция FS123TER (pro63fsdelC) в гомозиготной форме служит причиной развития агенезии поджелудочной железы, которая может привести к раннему развитию инсулинозависимого сахарного диабета, тогда как гетерозиготное носительство этой мутации — причина развития MODY4. Некоторые варианты дефекта гена (C18R, D76N, R197H) связаны с риском развития сахарного диабета 2-го типа. Так же мутации в данном гене ассоциированы с развитием сахарного диабета новорожденных. Клинический фенотип MODY4 варьируется от нормальной толерантности к глюкозе до явного диабета, может сопровождаться ранним развитием микроваскулярных осложнений.



Подтип MODY 5 и ген HNF1B

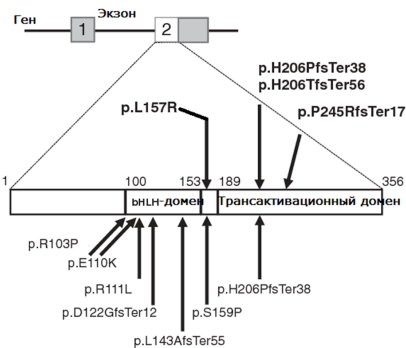
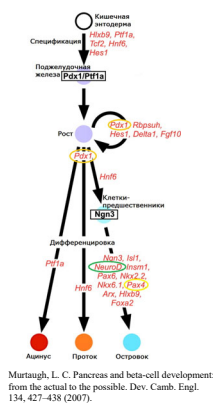
Ген HNF1B локализован на длинном плече 17-й хромосомы и кодирует гомеодоменсодержащий транскрипционный фактор, вовлеченный в раннее развитие почек, печени, поджелудочной железы, половых путей. Всего описано около 30 мутаций в данном гене. Связанные с HNF1B заболевания представляют собой комбинацию почечных и внепочечных проявлений. Поражение почек представлено гиперэкзогенными почками, ренальной кистозной гиподисплазией и др. Поражение почек включает почечные кисты, единичную почку, аномалии лоханки. Экстрауренальный фенотип включает MODY5, экзокринную недостаточность поджелудочной железы, атрофию поджелудочной железы, изменения в функционировании печени, аномалии половых путей у женщин и даже незначительную умственную отсталость. Диабет редко манифестирует до 10-летнего возраста. Механизм развития MODY5 представляет собой комбинацию печеночной инсулинорезистентности и дисфункции β-клеток. Пациенты не чувствительны к препаратам сульфонилмочевины и зачастую нуждаются в инсулинотерапии.



Подтип MODY 6 и ген NEUROD1

Ген NEUROD1, локализованный на длинном плече 2-й хромосомы, кодирует транскрипционный фактор bHLH, контролирующий детерминацию и дифференцировку клеток в период эмбрионального развития. NEUROD1 играет важную роль в развитии и функционировании нервной и нейроэндокринной тканей, деятельности нейронов центральной и периферической нервной системы. Ген экспрессируется в нейронах, передней доле гипофиза, клетках островков Лангерганса поджелудочной железы и энтероэндокринных клетках. Мишенью данного транскрипционного фактора являются гены, кодирующие секретин, инсулин, глюкагон. NEUROD1 — ключевой регулятор морфогенеза островков поджелудочной железы. Полиморфизмы в функциональной части гена NEUROD1 меняют транскрипционную активность транскрипционных факторов, что сказывается на способности дифференциации и восстановления β-клеток.

Мутации гена NEUROD1

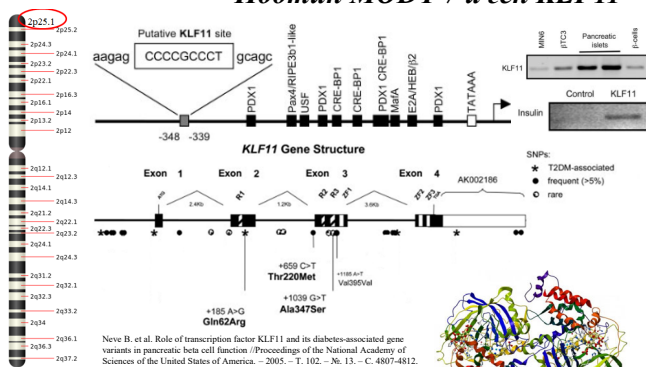


Horikawa Y. et al. NEUROD1-deficient diabetes (MODY6). Identification of the first cases in Japanese and the clinical features // Pediatric diabetes. – 2018. – Т. 19. – № 2. – С. 236-242.

Мутации гена NEUROD1

Мутации в гене NEUROD1 ассоциированы в первую очередь с развитием MODY6, сахарного диабета 2-го типа, неонатального сахарного диабета. С MODY6 связаны 2 распространенные мутации в данном гене: миссенс-мутация (ARG111LEU), ведущая к нарушению связывания транскрипционного фактора NEUROD1 с E1-боксом гена инсулина, и точковая мутация (206+C), связанная с C-концевым обрывом трансляции гена NEUROD1 и более тяжелым течением сахарного диабета. Тактика лечения очень индивидуальна: от диетотерапии до терапии инсулином. У пациентов наблюдается низкий уровень инсулина в плазме. Кроме того, есть данные о вкладе гена NEUROD1 в развитие некоторых онкологических заболеваний, таких как нейробластома, мелкоклеточный рак легких, карцинома поджелудочной железы.

Подтип MODY 7 и ген KLF11



Neve B. et al. Role of transcription factor KLF11 and its diabetes-associated gene variants in pancreatic beta cell function // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2005. – Т. 102. – № 12. – С. 4807-4812.

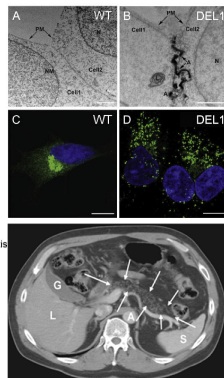
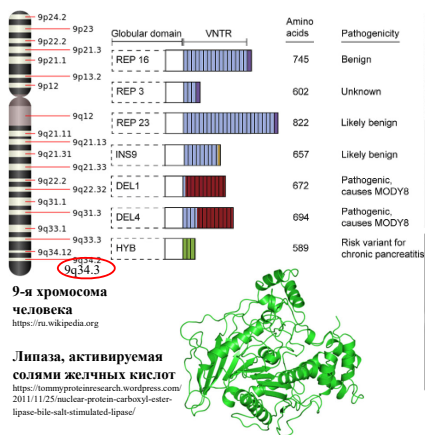
2-я хромосома человека
<https://ru.wikipedia.org>

Каталаза-1
<http://www.ebi.ac.uk/EMBL/GenBank/CCDS/Protein/CCDS100.1>

Подтип MODY 7 и ген KLF11

Ген KLF11, расположенный на коротком плече 2-й хромосомы, содержит 4 экзона и кодирует транскрипционный фактор, член семейства Sp/KLF. Наибольший уровень экспрессии отмечен в эмбриональных эритроидных клетках, мышцах, поджелудочной железе и тканях репродуктивной системы. Данные белки являются активаторами или репрессорами транскрипции. KLF содержит 3 «цинковых пальца» для связывания с ДНК на карбоксильном конце белка, они участвуют в регуляции пролиферации, дифференцировки, развития и программировании смерти клеток. KLF11 связывается с промотором гена инсулина и регулирует его активность в зависимости от уровня глюкозы. KLF11 является одним из звеньев в цепи регуляции гена PDX1, ассоциированного с MODY4. С MODY4 ассоциированы 3 несинонимичные замены - Thr220Met, Ala347Ser и Gln62Arg – для которых показана усиленная репрессия промотора каталазы-1, что может делать β-клетки более чувствительными к окислительному стрессу.

Подтип MODY 8 и ген CEL

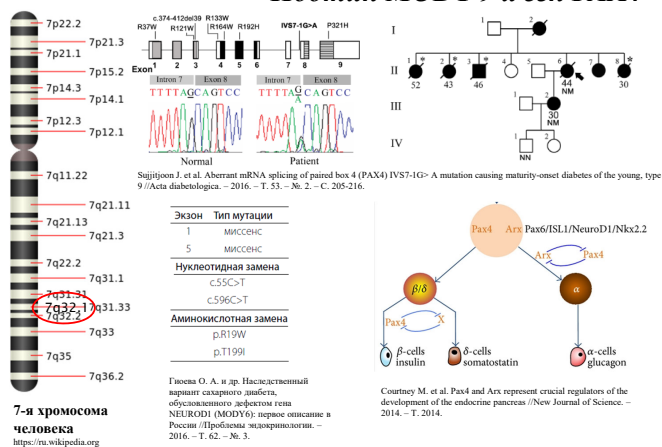


Johansson B. B. et al. The role of the carboxyl ester lipase (CEL) gene in pancreatic disease //Pancreatology. – 2017.

Подтип MODY 8 и ген CEL

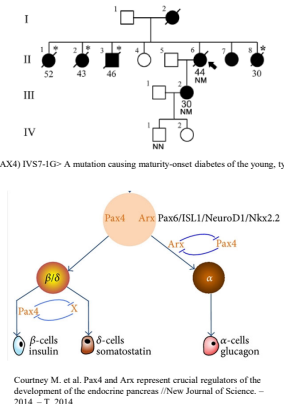
Ген CEL локализован на длинном плече 9-й хромосомы кодирует гликопротеин, секретируемый ацинарными клетками поджелудочной железы и молочными железами во период лактации. Этот белок является ферментом, активируемым желчными солями и участвует в метаболизме жиров. С MODY8 и экзокринной дисфункцией поджелудочной железы ассоциированы с делециями в области VNTR гена CEL, вызывающие сдвиг рамки считывания. Механизм развития этой формы диабета неизвестен, однако существует предположение, что мутантный гликопротеин токсичен для клеток поджелудочной железы. Заболевание характеризуется нарушениями функций поджелудочной железы и аккумуляцией в ней жировой ткани, экскрецией липидов с калом, снижением уровня витамина E, а после 40 лет – развитием невропатологии, связанной с демиелинизацией. Одновременно с манифестацией диабета в железе формируются кисты, являющиеся фактором риска развития онкологического процесса. Данный процесс связан с активацией сигнального пути MAPK.

Подтип MODY 9 и ген PAX4

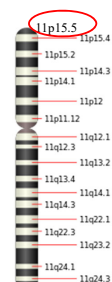


Подтип MODY 9 и ген PAX4

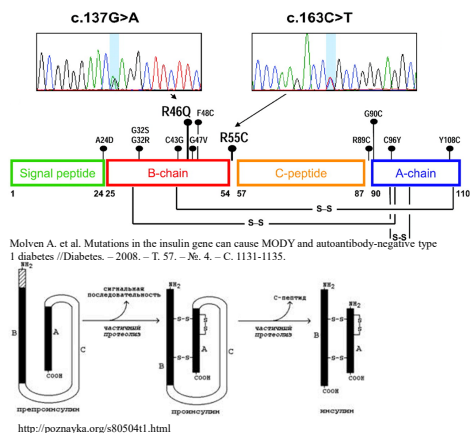
Ген PAX4, локализованный на длинном плече 7-й хромосомы, кодирует ядерный транскрипционный фактор и экспрессируется в норме в ядрах α - и β -клеток поджелудочной железы. Промотор гена содержит по 4 сайта для связывания транскрипционных факторов HNF4a, HNF1a, PDX1, NEUROD1, а также 2 сайта связывания для самого PAX4, что делает возможным авторегуляцию PAX4. Показано, что ген PAX4 отвечает за регенерацию β -клеток. Кроме MODY, мутации в данном гене ассоциированы с редким подтипом сахарного диабета 2-го типа (Ketosis-Prone Diabetes).



Подтип MODY 10 и ген INS



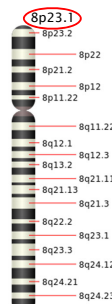
11-я хромосома человека
<https://ru.wikipedia.org>



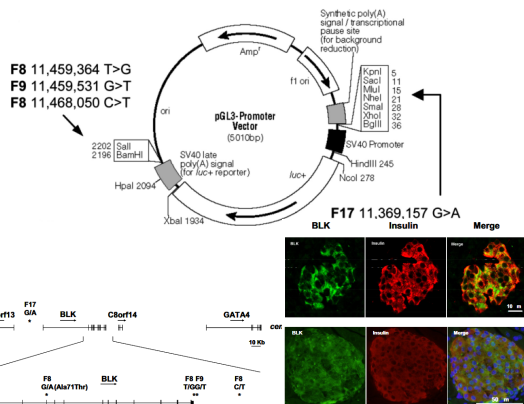
Подтип MODY 10 и ген INS

Ген INS кодирует профермент (проинсулин), который синтезируется β-клетками островков Лангерганса и клетками тимуса. Проинсулин превращается в А- и В-цепи инсулина и С-пептид. Наличие аллеля гена INS с длинными повторами VNTR создает защитный эффект в отношении развития аутоиммунных эндокринных заболеваний, но повышает риск развития гестационного и инсулиннезависимого сахарного диабета. При аллелях с короткими повторами VNTR, повышен риск развития аутоиммунных заболеваний (особенно сахарного диабета 1-го типа), а также рака поджелудочной железы. Мутации в гене INS также вызывают диабет новорожденных.

Подтип MODY 11 и ген BLK



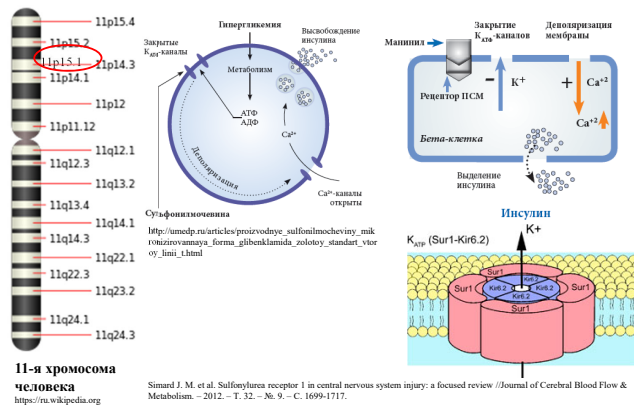
8-я хромосома человека
<https://ru.wikipedia.org>



Подтип MODY 11 и ген BLK

Ген BLK кодирует рецепторную тирозинкиназу семейства SRC протоонкогенов, участвующих в пролиферации и дифференцировке клеток. Белок стимулирует синтез и секрецию инсулина в ответ на повышение уровня глюкозы в крови и усиливает экспрессию нескольких факторов транскрипции β-клеток поджелудочной железы. Мутации в гене BLK ведут к снижению секреции инсулина, а также снижают индуцирующий эффект BLK в отношении экспрессии факторов транскрипции PDX1 и Nkx6.1. Показано, что мутации в промоторе гена BLK связаны с развитием некоторых аутоиммунных заболеваний.

Подтипы MODY 12 и 13 Гены KCNJ11 и ABCC8



Подтипы MODY 12 и 13 Гены KCNJ11 и ABCC8

MODY12 и 13 развиваются в результате мутаций в генах KCNJ11 и ABCC8 соответственно. Они локализованы на коротком плече 11-хромосомы и кодируют субъединицы чувствительных к АТФ калиевых каналов β-клеток поджелудочной железы. Ген KCNJ11 кодирует белок Kir6.2, а ABCC8 — рецептор к сульфонилмочевине (SUR1). Закрытие чувствительных к АТФ калиевых каналов необходимо для секреции глюкозостимулированного инсулина, а открытие - ингибирует секрецию инсулина. Мутации в генах ассоциированы с развитием MODY, гестационного и неонатального сахарного диабета, сахарного диабета 2-го типа. Кроме того, наличие мутаций в генах KCNJ11 и ABCC8 может вызывать чрезмерную секрецию инсулина и развитие гиперинсулинизма в младенческом возрасте. При подтверждении мутации в генах KCNJ11 и ABCC8 лиц с гипергликемией переводят на лечение препаратами группы сульфонилмочевины, что связано с чувствительностью таких пациентов к препаратам данной группы.

Сравнение подтипов MODY-диабета

Подтип	Ген	Локализация	Кодирует
MODY 1	HNF4A	20q13.12.	ядерный фактор гепатоцитов 4α
MODY 2	GCK	7p15.3—p15.1	глюкокиназу (гексокиназу-4)
MODY 3	HNF1A	12q24.2	ядерный фактор гепатоцитов 1α
MODY 4	PDX1	13q12.2	панкреатический и дуоденальный гомеобокс-1
MODY 5	HNF1B	17q12	HNF1B гомеобокс B
MODY 6	NEUROD1	2q31.3	транскрипционный фактор bHLH
MODY 7	KLF11	2p25.1	транскрипционный фактор из семейства Sp/KLF
MODY 8	CEL	9q34.3	липазу, активируемую солями желчных кислот
MODY 9	PAX4	7q32.1	ядерный транскрипционный фактор
MODY 10	INS	11p15.5	проинсулин
MODY 11	BLK	8p23.1	нерецепторную тирозинкиназу семейства SRC протоонкогенов
MODY 12	KCNJ11	11p15.1	белок Kir6.2

Сравнение подтипов MODY-диабета

Подтип	Возраст манифестации	Гликемия при манифестации	Этиология, патогенез, клинические симптомы, сопутствующие заболевания и лечение
MODY 1	17 (5-18)	15 (9-20) ммоль/л	Снижение функций β-, α- и δ-клеток; бессимптомно/явный диабет; кетоацидоз при ожирении; на ПГТТ через 2 часа увеличение более, чем на 5,0 ммоль/л, прогрессирование гипергликемии с возрастом, высокая чувствительность к сульфонилмочевине; макросомия с гиперинсулинемическими гипогликемиями у новорожденных; риск СД-2
MODY 2	10 (0-18)	11 (5,5-16) ммоль/л	Снижение активности мутантной глюкокиназы; выявление -случайное (гликемия натощак 5,5–8,0 ммоль/л), на ПГТТ через 2 часа увеличение менее 3,5 ммоль/л, незначительное прогрессирование с возрастом, НСД, СД-2, ГСД

Сравнение подтипов MODY-диабета

Подтип	Возраст манифестации	Гликемия при манифестации	Этиология, патогенез, клинические симптомы, сопутствующие заболевания и лечение
MODY 3	14 (4-18)	17 (11-26) ммоль/л	На ПГТТ через 2 часа увеличение более, чем на 5,0 ммоль/л, низкий почечный порог; прогрессирование гипергликемии с возрастом, высокая чувствительность к сульфонилмочевине; риск развития микро- и макрососудистых осложнений очень велик; новообразования в печени; почти 50% пациентов – инсулинотерапия
MODY 4	45 (17-60)	-	Врожденная форма диабета с агенезией поджелудочной железы и резко выраженными проявлениями синдрома мальабсорбции; инсулинзависимый СД, НСД
MODY 5	10+	-	Комбинация печеночной инсулинорезистентности и дисфункции β-клеток; атрофия ПЖ; почечные и внепочечные проявления, аномалии

Сравнение подтипов MODY-диабета

Подтип	Возраст манифестации	Этиология, патогенез, клинические симптомы, сопутствующие заболевания и лечение
MODY 6	40+	СД-2, НСД, низкий уровень инсулина в плазме; нейробластома, мелко клеточный рак легких, карцинома ПЖ; от диетотерапии до терапии инсулином
MODY 7	30+	Усиленная репрессия промотора каталазы-1, β-клетки более чувствительны к окислительному стрессу; терапия инсулином
MODY 8	-	Механизм развития этой формы СД неизвестен; экзокринная дисфункция ПЖ; экскреции липидов с калом и недостаточность панкреатической эластазы, сниженный уровень витамина Е, аккумуляция жировой ткани в ПЖ, развитие СД и невропатологий, связанных с демиелинизацией; кисты и рак ПЖ
MODY 9	-	Нарушение процессов регенерации β-клеток ПЖ

Сравнение подтипов MODY-диабета

Подтип	Возраст манифестации	Этиология, патогенез, клинические симптомы, сопутствующие заболевания и лечение
MODY 10	-	НСД, СД-1
MODY 11	-	Уменьшение секреции инсулина в такой степени, что он становится не определяемым, снижение индуцирующего эффекта BLK в отношении экспрессии факторов транскрипции Pdx1 и Nkx6.1; системная красная волчанка, склеродермия, ревматоидный артрит и синдром Шегрена
MODY 12 MODY 13	-	Открытие чувствительных к АТФ калиевых каналов ингибирует глюкозостимулированную секрецию инсулина; гиперинсулинизм в младенческом возрасте; СД-2, ГСД и НСД; чувствительность к препаратам сульфонилмочевины

Список литературы

1) Barret TG. Differential diagnosis of type 1 diabetes: which genetic syndromes need to be considered. Pediatric Diabetes. 2010;118-126

2) Barret TG. The emergence of type 2 diabetes in childhood. Ann. Clin. Biochem. 2006;188-190

3) Delvecchio M., Di Paola R, Mangiacotti D, et al. Clinical heterogeneity of abnormal glucose homeostasis associated with the HNF4A R311H mutation //Italian journal of pediatrics. 2014; 40(1):58-60.

4) Horikawa Y, Enya M, Mabe H et al. NEUROD1-deficient diabetes (MODY6): Identification of the first cases in Japanese and the clinical features. Pediatric diabetes. 2018; 19(2):236-242.

5) Sujitjoo J, Koopitwut S, Chongjaroen N, et al. Aberrant mRNA splicing of paired box 4 (PAX4) IVS7-1G> A mutation causing maturity-onset diabetes of the young, type 9. Acta diabetologica. 2016; 53(2):205-216.

6) Billings LK, Jablonski KA, Warner AS et al. Variation in maturity-onset diabetes of the young genes influence response to interventions for diabetes prevention. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2017; 8: 2678-2689.

7) Delvecchio M, Ludovico O, Bellacchio E et al. MODY type 2 P59S GCK mutant: founder effect in South of Italy. Clinical genetics. 2013; 83(1):83-87.

8) Hattersley AT, Patel KA. Precision diabetes: learning from monogenic diabetes. Diabetologia. 2017;60(5):769-777.

9) Kim SH. Maturity-Onset Diabetes of the Young: What Do Clinicians Need to Know? Diabetes and Metabolism Journal. 2015: 468-477.

10) Igudin EL, Spirin PV, Prasolov VS et al. Functional characterization of two novel splicing mutations in glucokinase gene in monogenic diabetes MODY2. Molekuliarnaia biologiya. 2014; 48(2):288-294.

Список литературы

- 11) López-Garrido MP, Herranz-Antolin S, Alija-Merillas MJ et al. Co-inheritance of HNF1a and GCK mutations in a family with maturity-onset diabetes of the young (MODY): implications for genetic testing //Clinical endocrinology. 2013; 79(3):342-347.
- 12) Fajans SS. The use of tolbutamide in the treatment of young people with mild diabetes mellitus – a progress report. Diabetes. 1962; 123-126.
- 13) Froguel P, Velho G. Molecular genetics of maturity-onset diabetes of the young. Trends in Endocrinology & Metabolism. 1999; 10(4): 142-146.
- 14) Torsvik J., Johansson BB, Dalva M et al. Endocytosis of secreted carboxyl ester lipase in a syndrome of diabetes and pancreatic exocrine dysfunction. Journal of Biological Chemistry. 2014; 289(42):29097-29111.
- 15) Воевода М.И., Иванова А.А., Шахтштейн Е.В. и др. Молекулярная генетика MODY. Терапевтический архив. 2016; 88(4): 117-124.
- 16) Дедов И.И. Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнений. Сахарный диабет. 2013; 3 (60): 4-10.
- 17) Генри М. Кроненберг, Шломо Мелмед и др. Сахарный диабет и нарушения углеводного обмена. год редакции И.И.Дедова, Г.А. Мельниченко. Эндокринология по Вильямсу //Рид Элсивер. 2010; 1: 3-488
- 18) Зубкова Н.А., Гюева О.А., Петров В.М. и др. Наследственный вариант сахарного диабета, обусловленного дефектом гена NEUROD1 (MODY6): первое описание в России. Сахарный диабет. 2017; 5: 384-387.
- 19) Петеркова В.А. Кураева Т.Л., Прокофьев С.А. и др. Молекулярная генетика и клинические особенности моногенных форм сахарного диабета. Вестник Российской Академии медицинских наук, 2012.-N 1.-С.81-86.

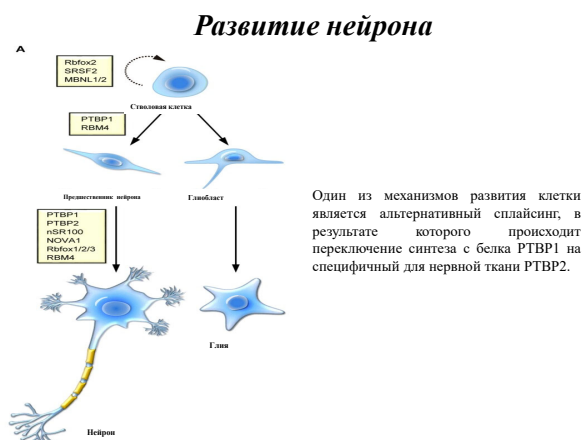
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
Кафедра патологии человека лечебного факультета



Молекулярные основы развития и функционирования нейрона

Выполнила студентка II курса, группы 500-01,
Международной школы «Медицина будущего» (ДОП)
Птушкина Алина Дмитриевна

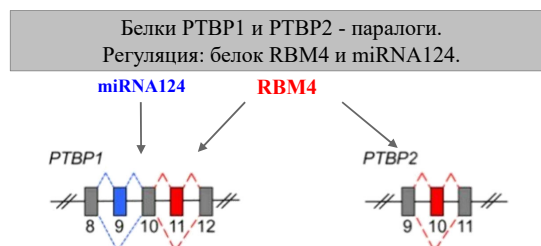
Москва
2019



Su C-H, D D and Tarn W-Y. Alternative Splicing in Neurogenesis and Brain Development. Front. Mol. Biosci. 2018; 5:12.

Альтернативный сплайсинг

В клетках всех тканей действуют два фактора сплайсинга: PTBP1 и RBM4. PTBP1 подавляет включение 10 экзона в мРНК PTBP2; RBM4 подавляет включение 11 и 10 экзона в мРНК PTBP1 и PTBP2 соответственно. Синтезируются укороченные молекулы, не способные выполнять свои функции. микроРНК-124 – не кодирующая нейронспецифичная молекула. Она подавляет включение 9 экзона в мРНК PTBP1. В PTBP2 нет последовательности, аналогичной девятому экзону, в следствие чего данная микроРНК никак не влияет на синтез белка, способствуя его накоплению.



Ответ на стимуляцию

Нейрон может ответить на раздражение синтезом белка уже через 15 минут, несмотря на то, что транскрипция может занимать несколько часов.

Происходит это благодаря постоянной транскрипции и неполному сплайсингу. В ядре накапливаются пре-мРНК с неисключёнными интронами.

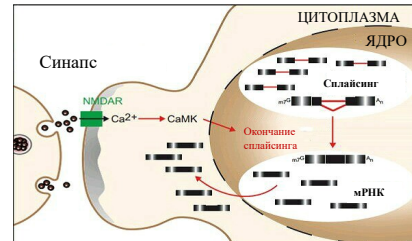
После открытия кальциевого канала NMDA-рецептора активируется кальмодулин-зависимая протеинкиназа, которая фосфорилирует ряд белков, что приводит к окончательному исключению всех интронов и выходу мРНК в цитозоль, где происходит трансляция.

Таким образом, синтез белка зависит от активности нейрона и трансляции, но не зависит от транскрипции.

Mauger et al. Targeted Intron Retention and Excision for Rapid Gene Regulation in Response to Neuronal Activity. 2016, Neuron 92, 1266–1278

Ответ на стимуляцию

Необходимы:
NMDA-рецепторы, Ca²⁺/кальмодулин-зависимая киназа

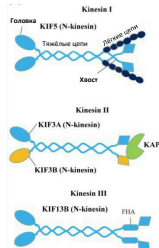


Mauger et al. Targeted Intron Retention and Excision for Rapid Gene Regulation in Response to Neuronal Activity. 2016, Neuron 92, 1266–1278

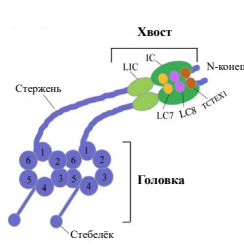
Двигательные белки

Кинезины состоят из: моторного домена (головки), имеющего сайты связывания для тубулина микротрубочек и АТФ спирально закрученных тяжёлых цепей лёгких цепей (хвоста), специфически связывающих груз. Антероградный транспорт. Динеины состоят из: моторного домена со стержнем для связывания с тубулином и с кольцевым комплексом АТФаз тяжёлых цепей, образующих стержень лёгких цепей, находящихся на N-конце и специфически связывающих груз. Ретроградный транспорт.

Кинезины



Динеины



Qingxin Xiao, Xiaohui Hu, Zhiyi Wei and Kin Yip Tam. Cytoskeleton Molecular Motors: Structures and Their Functions in Neuron. Int J Biol Sci. 2016; 12(9): 1083–1092.

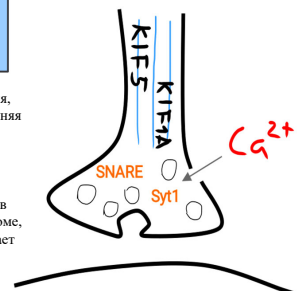
Пресинаптическая пластичность

KIF1A переносит синаптотегмин (Syt)
KIF5 переносит белки SNARE-комплекса

SNARE:

Синаптобrevин
Синтаксин
SNAP-25

Синаптотегмин связывает ион кальция, связывается с синаптобrevином, изменяя конформацию комплекса. Везикулы движутся к плазмолемме, связываются с ней, выделяя нейромедиатор. При мутации в генах моторных белков синтезированные белки остаются в коме, не влияя на пластичность, что вызывает смерть организма.



Список литературы

- 1) Умрюхин А. Нейромедиаторные гиппокампальные механизмы стрессорного поведения и реакций избегания. Вестник новых медицинских технологий. 2013;1: 55.
- 2) Rossbach O, Hung LH, Khrameeva E, Schreiner S et al. Crosslinking-immunoprecipitation (iCLIP) analysis reveals global regulatory roles of hnRNP L. RNA Biol. 2014;11(2):146-55.
- 3) Исламов Р., Самигуллин Д., Ризванов А. и др. Синтез мембранного белка слияния синаптических везикул SNAP25 в двигательном нервном окончании мыши. Доклады Академии наук. 2015; 1: 108–110.
- 4) Перфилова В., Тюренков И. Глутаматные ионные рецепторы: структура, локализация, функции. Успехи физиологических наук. 2016; 1: 80–96.
- 5) Васильева Н., Пивоваров А. Моторные белки микротрубочек и механизмы синаптической пластичности. Журнал высшей нервной деятельности. 2016; 2: 148–162.
- 6) Рубцов П. Роль вторичных структур при-мРНК в регуляции альтернативного сплайсинга. Молекулярная биология. 2016; 6: 935–943.
- 7) Xiao O, Hu X, Wei Z, Tam KY. Cytoskeleton Molecular Motors: Structures and Their Functions in Neuron. International Journal of Biological Sciences. 2016; 9: 1083-1092.
- 8) Мингазов Э. Угрюмов М. Экспрессия генов белков везикулярного цикла в дофаминергических нейронах при моделировании болезни Паркинсона. Доклады Академии наук. 2016; 4: 459–461.
- 9) Mauger, Lemoine F, Scheiffele P. Targeted Intron Retention and Excision for RapidGene Regulation in Response to Neuronal Activity. Neuron. 2016; 6: 1266-1278.
- 10) Su CH, D D, Tarn WY. Alternative Splicing in Neurogenesis and Brain Development. Front Mol Biosci. 2018;5:12.
- 11) Forrest MP, Parnell E, Penzes P. Dendritic structural plasticity and neuropsychiatric disease. Nature Reviews Neuroscience. 2018;19:215-234.

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
Кафедра патологии человека лечебного факультета



ДНК - микрочипы

Выполнила студентка 5 курса 94 группы
Международной школы «Медицина будущего» (ДОП)
Манукян Карина Грайровна

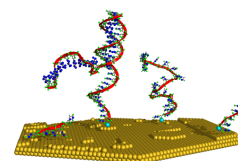
Москва
2019

Актуальность

Геном человека состоит из 3,2 миллиардов нуклеотидов.

В геномах разных людей обнаружено около 3 млн нуклеотидных замен (снимков), с числом и характером которых связаны как индивидуальные различия, так и возникновение многих заболеваний – рак, астма, диабет, мигрень, инсульт и т.д.

Поэтому появление во второй половине 90-х годов ДНК –микрочипов стало новой биотехнологической революцией, которая существенно расширила возможности ранней диагностики и лечения в современной медицине.



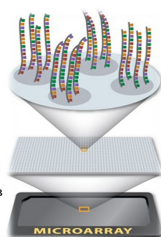
ДНК-микрочип

ДНК-микрочип (англ. DNA microarray) представляет собой множество одноцепочечных фрагментов ДНК — **зондов**, которые иммобилизованы (ковалентно сшиты) со специальным носителем («платформой»). Каждый зонд имеет строго определённую последовательность нуклеотидов и место на микрочипе. Одинаковые зонды располагаются вместе, образуя **пробу микрочипа**.

ДНК-микрочип содержит от 100 до 1млн проб на платформе площадью 1 см² (чипе).

Проба включает около 1млн фрагментов одноцепочечной синтетической ДНК (зондов).

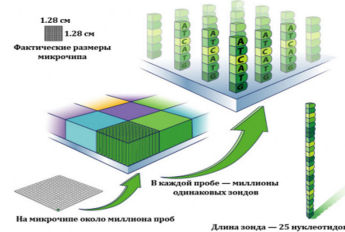
Длина одноцепочечных фрагментов ДНК: короткие – 15-25 нуклеотидов, длинные – 25-60 нуклеотидов и кДНК фрагменты – от 100 до 3000 нуклеотидов



Singh A., Kumar N. A review of DNA microarray technology. Int J Cur Res Rev, Nov 2013/ Vol 05 (22)

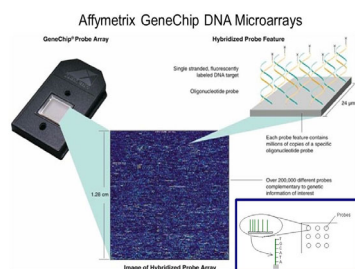
ДНК-микрочип

ДНК-микрочип, фактический размер которого составляет 1,28 см на 1,28 см, содержит до 1млн проб.



ДНК-чип представляет собой пластину площадью около 1 см², на которой в строго определенном порядке размещены ячейки, каждая из которых содержит одноцепочечные полинуклеотиды одной определенной последовательности оснований. Количество таких полинуклеотидных ячеек, а следовательно и количество различных нуклеотидных последовательностей, может превышать 1 млн. на 1 см², их длина варьирует от 9-10 до 1000 нуклеотидов.

Singh A., Kumar N. A review of DNA microarray technology. Int J Cur Res Rev, Nov 2013/ Vol 05 (22)



В качестве материала подложки используют стекло, кремний, различные полимеры, гидрогели (например, на основе полиакриламида) и даже золото. Наиболее распространенные подложки – из стекла.

Чем больше в образце молекул ДНК с определенной последовательностью, тем большее их количество свяжется с комплементарным зондом, и тем сильнее будет оптический сигнал в точке микрочипа, куда был «посажен» соответствующий зонд.

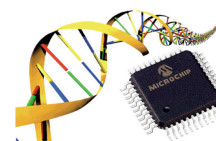
После гибридизации поверхность микрочипа сканируется, и в результате каждой последовательности ДНК ставится в соответствие тот или иной уровень сигнала, пропорциональный числу молекул ДНК с данной последовательностью, присутствующих в смеси.

Singh A., Kumar N. A review of DNA microarray technology. Int J Cur Res Rev, Nov 2013/ Vol 05 (22)

Использование ДНК-микрочипов

Анализ изменения генной экспрессии - позволяет сравнивать экспрессию генов разных образцов одновременно (например, клеток на различных стадиях митоза):

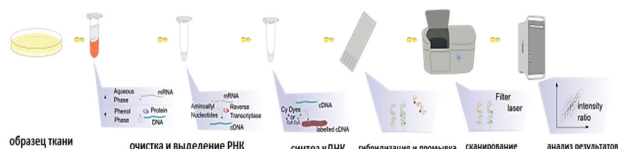
- идентификация мутаций в генах, связанных с различными заболеваниями
- выявление изменений в геноме
- выявление однонуклеотидных полиморфизмов
- секвенирование мутантных геномов
- генотипирование



Magic Z. cDNA microarrays: identification of gene signatures and their application in clinical practice. J BUON. 2007 Sep;12 Suppl 1:S39-44

Основные этапы работы ДНК-микрочипов:

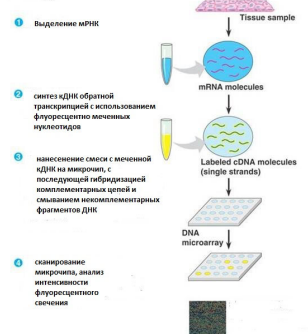
1. Сбор образцов
2. Выделение мРНК
3. Синтез кДНК
4. Гибридизация и промывка
5. Сканирование микрочипа
6. Анализ полученных данных



Jares P. DNA microarray applications in functional genomics. Ultrastruct Pathol. 2006 May-Jun;30(3):209-19.

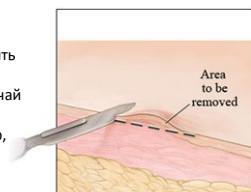
Основные этапы работы ДНК-микрочипов:

Gene Chip Technology



Этап I: Сбор образцов

Образцы для исследования могут быть взяты как от одного индивидуума (например, до и после лечения - случай парных сравнений), так и от группы различных индивидуумов, например, больных и здоровых, и т. д.

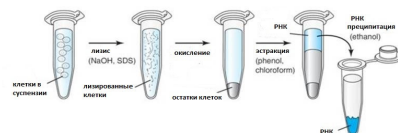


Abdullah-Sayani A, et al. Technology Insight: tuning into the genetic orchestra using microarrays—limitations of DNA microarrays in clinical practice. Nat Clin Pract Oncol. 2006 Sep;3(9):501-16

Этап II: выделение мРНК

мРНК экстрагируется из образца ткани с помощью специальной колонки или растворителя – фенола – хлороформа (фенол-хлороформная экстракция)

После выделения мРНК из образца, необходимо изолировать мРНК от рРНК и тРНК



мРНК имеет **хвост поли –А** (полиадениловый хвост), поэтому используют колонку с шариками с **хвостами поли – Т** (политимидиловый), для того чтобы связать мРНК

Для выхода мРНК промывают буферным раствором, который разрушает гибридные связи (изменяет рН)

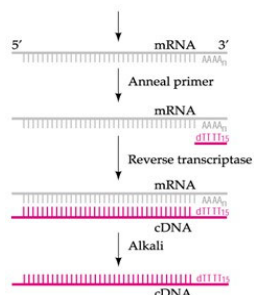
Abdullah-Sayani A, et al. Technology Insight: tuning into the genetic orchestra using microarrays—limitations of DNA microarrays in clinical practice. Nat Clin Pract Oncol. 2006 Sep;3(9):501-16

Этап III: синтез меченной ДНК

Меченная кДНК образуется из ранее выделенной мРНК, обработанной обратной транскриптазой с использованием меченных нуклеотидов

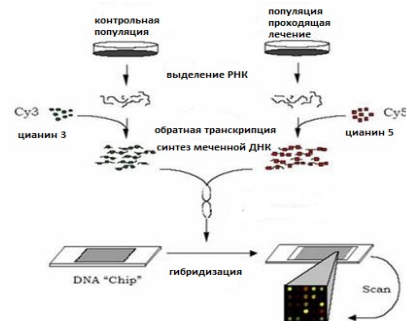
К мРНК добавляют специальный раствор, состоящий из поли-Т праймеров, обратной транскриптазы и флуоресцентно окрашенных нуклеотидов

В первую очередь мРНК связывают с праймером и обратной транскриптазой, затем добавляют флуоресцентно помеченные нуклеотиды, образующие комплементарную нить ДНК



Abdullah-Sayani A, et al. Technology Insight: tuning into the genetic orchestra using microarrays—limitations of DNA microarrays in clinical practice. Nat Clin Pract Oncol. 2006 Sep;3(9):501-16

Этап III: синтез меченной ДНК



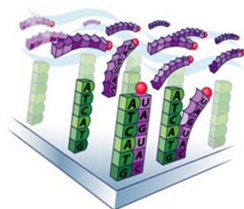
Цианин 3 обеспечивает **зеленое свечение** меченных нуклеотидов при сканировании ДНК-микрочипа, цианин 5 - **красное свечение**

Этап IV: Гибридизация

Гибридизация - основной принцип, лежащий в основе работы ДНК-микрочипов

Основана на образовании водородных связей между комплементарными парами нуклеотидных оснований нитей ДНК

Большее количество комплементарных пар оснований в нуклеотидной последовательности означает более жесткое нековалентное соединение между нитями ДНК.

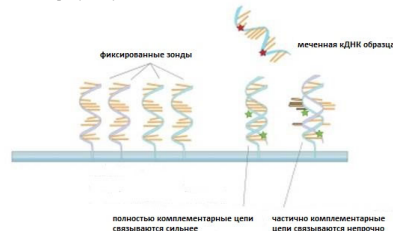


Некомплементарные фрагменты генетических кодов смываются, а совпадающие — закрепляются на чипе. После смывания неспецифических последовательностей склеивания только сильно парные пряди останутся гибридами.

Pollack JR. A perspective on DNA microarrays in pathology research and practice. Am J Pathol. 2007 Aug;171(2):375-85. Epub 2007 Jun 28.

Этап IV: Гибридизация

Флуоресцентно помеченные целевые последовательности, которые связываются с последовательностью зонда, генерируют сигнал, который зависит от условий гибридизации (например, температуры) и промывки после гибридизации. Общая мощность сигнала от точки (объекта) зависит от количества привязки целевого образца к зондам, присутствующим на этом месте.



В микрокастицах используется относительное количественное определение, в котором интенсивность объекта сравнивается с интенсивностью одного и того же объекта при другом условии, и идентичность объекта известна его положением.

Pollack JR. A perspective on DNA microarrays in pathology research and practice. Am J Pathol. 2007 Aug;171(2):375-85. Epub 2007 Jun 28.

Этап V: Сканирование ДНК-микрочипа

Сканер включает в себя лазер, камеру и компьютер

Лазер – заставляет гибридные связи флуоресцировать

Камера – записывает изображения, когда лазер сканирует платформу

Компьютер позволяет немедленно просмотреть полученные результаты, а также сохраняет данные



Pollack JR. A perspective on DNA microarrays in pathology research and practice. Am J Pathol. 2007 Aug;171(2):375-85. Epub 2007 Jun 28.

Этап VI: Анализ данных

Двухканальный ДНК-микрочип

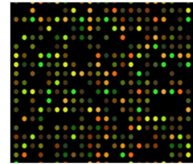
Каждый образец помечается двумя разными флуорофорами

Гибридизация двух образцов происходит на одном микрочипе

Это позволяет:

проводить сравнения образцов напрямую
дешевле
сравнить соотношение двух генов между собой и
оценить связь между их уровнями экспрессии, если
таковая имеется

Чувствителен к ошибкам, более сложный дизайн



Одноканальный ДНК-микрочип

Каждый образец помечается одним флуорофором

Экспрессия сравнивается между несколькими массивами

Обычно используется *in situ*;

Требует вдвое больше массивов = \$\$

Менее подвержены ошибкам

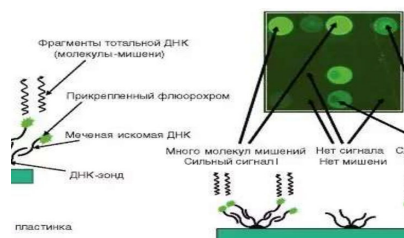
Более простой дизайн



Trevino V, Falciani F, and Hugo A. Barrera-Saldaña. DNA microarrays: a powerful genomic tool for biomedical and clinical research. Mol Med. 2007 Sep-Oct; 13(9-10): 527-541

Этап VI: Анализ данных

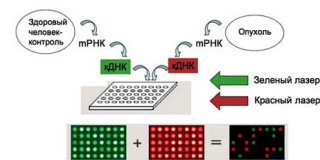
Одноканальный ДНК-микрочип



Trevino V, Falciani F, and Hugo A. Barrera-Saldaña. DNA microarrays: a powerful genomic tool for biomedical and clinical research. Mol Med. 2007 Sep-Oct; 13(9-10): 527-541

Этап VI: Анализ данных

Двухканальный ДНК-микрочип



Сканируется дважды:

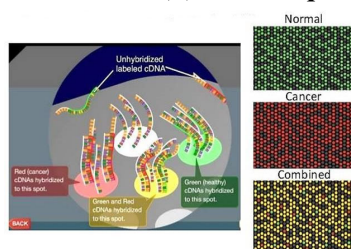
Первый раз – измерение интенсивности **зеленого свечения (Cy3)**

Второй раз – измерение интенсивности **красного свечения (Cy5)**

Полученные изображения накладываются с образованием конечного результата

Trevino V, Falciani F, and Hugo A. Barrera-Saldaña. DNA microarrays: a powerful genomic tool for biomedical and clinical research. Mol Med. 2007 Sep-Oct; 13(9-10): 527-541

Двухканальный ДНК - микрочип

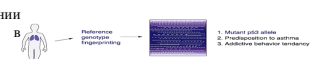


YELLOW - если ген экспрессируется и в больной (Cu5) и в нормальной (Cu3) тканях, то в данном пятне будет гибридизоваться ДНК, меченная и красной, и зеленой красками, и в результате получится желтый цвет
RED - если ген экспрессируется только в больной (Cu5) ткани, то в данном пятне будет гибридизоваться только ДНК, меченная красной краской
GREEN - если ген экспрессируется только в здоровой (Cu3) ткани, то в данном пятне будет гибридизоваться только ДНК, меченная зеленой краской
BLACK - если ген не экспрессируется ни в больной, ни в здоровой ткани

Minvielle S. DNA microarrays: technology and new insights in oncology. Rev Med Interne. 2007 Sep;28(9):662-6. Epub 2007 Jun 26

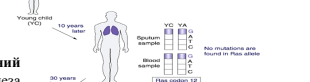
Практическое применение ДНК - микрочипов в медицине

Открытие новых генов и изучении функциональных и экспрессивных уровней в зависимости от различных условий



Диагностика генных мутаций

Диагностика различных заболеваний (онкологических заболеваний, лейкозов, туберкулеза и т.д.)

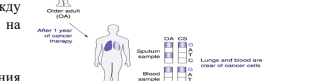


Разработка новых лекарств

Фармакогеномика - выявление связи между генетическим профилем пациента и его реакцией на проводимую лекарственную терапию



Токсикогеномика - для оценки влияния определенных химических веществ (токсичных) на геном человека



Jordan BR. DNA microarrays in the clinic: how soon, how extensively? Bioessays. 2007 Jul;29(7):699-705.

ДНК-микрочипы: «за» и «против»

«Преимущества»	«Недостатки»
- более быстрые и более точные результаты - в разы дешевле, чем при использовании альтернативных технологий (электрофорез, ПЦР в реальном времени) - допускается, при наличии детектора несложной конструкции, работа вне лаборатории. - могут быть использованы для исследования любых биоматериалов - позволяют изучить множество генов одновременно - многие готовые образцы зондов доступны на рынке	- вероятность потенциального загрязнения - возможен ложноположительный результат при перекрестной гибридизации с подобными, схожими семействами генов - возможны ошибки в процессе сканирования из-за фонового шума

Заключение

ДНК-микрочипы – это новейший инструмент биологии и медицины XXI века. Благодаря своим особенностям технология ДНК-чипов находит все более широкое применение в фундаментальных и прикладных исследованиях. Главной отличительной чертой этой технологии является возможность одновременного анализа огромного количества различных ДНК-последовательностей

На практике применение микрочипов уже сегодня позволяет:

- Осуществить точную постановку диагноза;
- Выявлять новые подтипы заболевания и уточнять классификации;
- Прогнозировать течения болезни и клинического исхода;
- Выявлять гены и сигнальные пути, вовлеченные в патогенез онкогематологических заболеваний;
- Проводить поиск новых мишеней для направленной дифференцированной терапии;
- Разрабатывать и создавать более простые и дешевые диагностические тесты, в том числе и на основе технологии микрочипов;
- Включать микрочипы в проспективные клинические исследования;
- Подтверждать результаты анализа на микрочипах для внесения в клинические протоколы лечения, дизайн клинических протоколов с учетом новых данных о природе заболеваний, полученных с помощью технологии микрочипов.

В ближайшем будущем такие биочипы заменят целые диагностические лаборатории с их многочисленным штатом и громоздким, зачастую весьма дорогостоящим оборудованием, при этом позволят увеличить в тысячи и десятки тысяч раз производительность большинства диагностических методов и резко снизить себестоимость анализов.

Список литературы

- 1) Trevino V, Falciani F, Barrera-Saldaña HA. DNA microarrays: a powerful genomic tool for biomedical and clinical research. *Mol Med*. 2007;13(9-10):527-41.
- 2) Jares P, Campo E. Genomic platforms for cancer research: potential diagnostic and prognostic applications in clinical oncology. *Clin Transl Oncol*. 2006;8(3):161-72.
- 3) Jares P. DNA microarray applications in functional genomics. *Ultrastruct Pathol*. 2006;30(3):209-19
- 4) Minvielle S. DNA microarrays: technology and new insights in oncology. *Rev Med Interne*. 2007;28(9):662-6.
- 5) Gheyas AA. Microarray resources for genetic and genomic studies in chicken: a review. *Genesis*. 2013;51(5):337-56.
- 6) Wadlow R. DNA microarrays in clinical cancer research. *Curr Mol Med*. 2005;5(1):111-20.
- 7) Magic Z. cDNA microarrays: identification of gene signatures and their application in clinical practice. *J BUON*. 2007;12:39-44.
- 8) Rhodes DR, Chinnaiyan AM. DNA microarrays: implications for clinical medicine. *J Invest Surg*. 2002;15(5):275-279.
- 9) Pollack JR. A perspective on DNA microarrays in pathology research and practice. *Am J Pathol*. 2007;171(2):375-85.
- 10) Jordan BR. DNA microarrays in the clinic: how soon, how extensively? *Bioessays*. 2007;29(7):699-705.
- 11) Martínez-Climent JA, Fontan L, Fresquet V, et al. Integrative oncogenomic analysis of microarray data in hematologic malignancies. *Methods Mol Biol*. 2010;576:231-77.
- 12) Abdullah-Sayani A, Bueno-de-Mesquita JM, van de Vijver MJ. Technology Insight: tuning into the genetic orchestra using microarrays—limitations of DNA microarrays in clinical practice. *Nat Clin Pract Oncol*. 2006;3(9):501-516.
- 13) Mei N, Fuscoe JC, Lobenhofer EK, Guo L. Application of microarray-based analysis of gene expression in the field of toxicogenomics. *Methods Mol Biol*. 2010;597:227-41.

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)

Кафедра патологии человека лечебного факультета



Мастоцитоз с молекулярной точки зрения

Выполнила
Шкурлатовская Карина Максимовна, группа 01-90

Москва
2019

Актуальность

В настоящее время при лечении онкологических заболеваний показывают высокую эффективность таргетные препараты, действие которых направлено на определённые аномалии у конкретного пациента. Мастоцитоз не стал исключением.

Термин «**Мастоцитоз**» объединяет группу **редких гетерогенных** заболеваний, характеризующихся аномальной пролиферацией и инфильтрацией неопластическими **тучными клетками (ТК)** кожи и/или различных внутренних органов.

Ежегодная заболеваемость: 5-10 случаев на 1 миллион населения в год связана с.

- Гиподиагностика мастоцитоза
- Пациенты с минимальными клиническими проявлениями часто не обращаются к врачам
- Широкая вариабельность клинической картины заболевания
- Одно из опаснейших проявлений – **анафилактический шок**

Valent P, Horny HP, Li CY et al. Mastocytosis (mast cell disease). In: World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Eds: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. IARC Press, Lyon, France. 2001: 291–302

Клиническая картина

Симптомы обусловлены:

1. Чрезмерной пролиферацией ТК в различных органах
2. Выбросом ТК огромного количества медиаторов

ТК находятся абсолютно во всех органах и тканях. Выявляются характерные поражения кожи в виде гиперпигментированных пятен и/или папул буровато-красного цвета; также поражаются печень — от гепатомегалии, гепатопатии до печёночной недостаточности; костная система — образование участков остеопороза и остеосклероза; лимфоузлы — лимфоаденопатия; пищеварительный тракт — диарея, боли в животе, язвенные поражения; селезенка — спленомегалия; костный мозг — замещение не-ТК линий, что ведет к цитопениям; нервная система - неврологические и психические нарушения и т.д.



Nicola Wagner, Petra Staubach Mastocytosis – pathogenesis, clinical manifestation and treatment, 2018 Deutsche Dermatologische Gesellschaft (DDG). Published by John Wiley & Sons Ltd. / JDDG



Д. В. Прохунская, О. С. Маковецкая Клинические особенности мастоцитоза у пациентов детского возраста Вестник дерматологии и венерологии 2017; (1): 12—20

Нагорная Н.В., Бордюгова Е.В., Коваль А.П., Дубовая А.В. Мастоцитоз у детей: обзор литературы и собственное клиническое наблюдение Вестник дерматологии и венерологии 2017; (1): 12—20

Клиническая картина

Характерны такие состояния, как периодические покраснения или "приливы", зуд, уртикарный дермографизм, специфический симптом Унны-Дарье (при трении пятна на коже краснеют и отекают), приступы анафилаксии, периодические обмороки, эпизоды гипотензии.



Robyn M. Scherber and Uma Borate How we diagnose and treat systemic mastocytosis in adults. 2017 John Wiley & Sons Ltd, British Journal of Haematology

Wagner N, Staubach P. Mastocytosis – pathogenesis, clinical manifestation and treatment. J Dtsch Dermatol Ges. 2018;16(1):42-57. Scherber RM, Borate U. How we diagnose and treat systemic mastocytosis in adults. Br J Haematol. 2018;180(1):11-23

Классификация

В зависимости от времени дебюта заболевания

1. детский мастоцитоз (65%)
2. мастоцитоз взрослых (35%)

Данная классификация имеет важное прогностическое значение, так как дети чаще страдают КМ, который в большинстве случаев разрешается в период полового созревания, взрослые в большинстве случаев имеют системное поражение



Ю.Г.Халиулин Мастоцитоз: клинические проявления, методы диагностики и тактика ведения пациентов.

Valent P, Horny HP, Li CY et al. Mastocytosis (mast cell disease). In: World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Eds: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. IARC Press Lyon, France. 2001: 291–302. Scherber RM, Borate U. How we diagnose and treat systemic mastocytosis in adults. Br J Haematol. 2018;180(1):11-23

Классификация ВОЗ

Мастоцитоз диагностируется и классифицируется в соответствии с рекомендациями ВОЗ.

В зависимости от пораженной системы органов выделяют кожный мастоцитоз (КМ), системный мастоцитоз (СМ) и локализованные опухоли ТК.

1. кожный мастоцитоз (КМ)

- a) Пигментная крапивница / пятнисто-папулезный КМ
- b) Диффузный КМ
- c) Мастоцитомы кожи

2. системный мастоцитоз (СМ)

- a) Индолентный / вялотекущий СМ
- b) Тлеющий СМ
- c) СМ, ассоциированный с другими мислопролиферативными заболеваниями не ТК (СМ-АМПЗ)
- d) Агрессивный СМ
- e) Лейкемия тучных клеток

3. локализованные опухоли ТК

- a) Саркома тучных клеток
- b) Внекожная мастоцитомы



Nicola Wagner, Petra Staubach Mastocytosis – pathogenesis, clinical manifestation and treatment, 2018 Deutsche Dermatologische Gesellschaft (DDG). Published by John Wiley & Sons Ltd. / JDDG

Valent P, Horny HP, Li CY et al. Mastocytosis (mast cell disease). In: World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Eds: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. IARC Press Lyon, France. 2001: 291–302. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;127(20):2391–405

Спектр мутаций при мастоцитозе

Мутация c-kit D816V обнаруживается как при различных вариантах СМ, так и при КМ. Это позволяет сделать вывод, что существуют другие дополнительные не-D816V мутации, участвующие в патогенезе и обуславливающие агрессивность заболевания

Table 4. Molecular somatic lesions and abnormalities found in patients with mastocytosis			
Molecular Abnormality	Reported in patients with	Estimated frequency in patients with SM	reference #
KIT D816V	all SM variants, rarely in CM	>80%	37, 38, 42
KIT D816Y	CM, ISM, SM-AHNMD	<5%	10, 47, 48
KIT D816F	CM	<5%	10, 47, 48
KIT D816H	MCL, ASM, SM-AHNMD	<5%	10, 47
KIT D820G	ASM	<5%	10, 46
KIT V560G	ISM	<5%	10, 46
KIT F522C	ISM	<5%	10, 47
KIT E839K	CM	<5%	10, 47, 48
KIT V530I	SM-AHNMD	<5%	10, 47
KIT K509I	SM (familial type)	<5%	10, 47, 48
Other KIT mutations	CM and/or SM variants	<5%	10, 47, 48
PI3K/AKT/mTOR	SM-CEL	<5%	58, 59, 60
AML1/ETO	SM-AML with t(8;21)	<5%	53
JAK2 V617F	SM-PMF	<5%	95
RAS mutations	ASM, SM-AHNMD	<5%	51
TET2 mutations	SM-AHNMD, ISM, ASM	<5%	49, 50
DNMT3A mutations	ISM, SM-AHNMD	<5%	50
ASXL1 mutations	SM-AHNMD	<5%	50
CBL mutations	SM-AHNMD	<5%	50

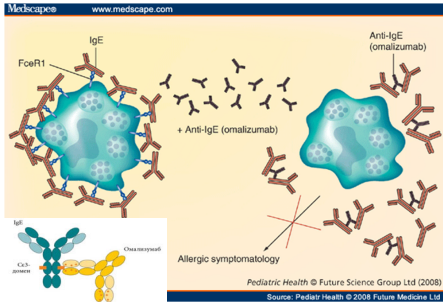
CM, cutaneous mastocytosis; SM, systemic mastocytosis; SM-AHNMD, SM with an associated haematologic clonal non mast cell lineage disease; CEL, chronic eosinophilic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; PMF, primary myelofibrosis.

Valent P, Horny HP, Li CY et al. Mastocytosis (mast cell disease). In: World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Eds: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. IARC Press, Lyon, France. 2001: 291-302 Peter Valent Mastocytosis: a paradigmatic example of a rare disease with complex biology and pathology Am J Cancer Res 2013; 3(2):159-172

Омализумаб

Омализумаб (Xolair®, Novartis) – препарат, содержащий рекомбинантные гуманизированные моноклональные IgG1κ антитела, обладающие способностью селективно связывать свободный IgE, что предотвращает его взаимодействие с FcεR1 рецептором на поверхности ТК и базофилов. В дополнение к этому по принципу обратной связи уменьшается количество FcεR1 рецепторов на поверхности базофилов и ТК.

Омализумаб снижает частоту симптомов и обострений, тем самым улучшая качество жизни пациентов.



Valent P. Mastocytosis: a paradigmatic example of a rare disease with complex biology and pathology. Am J Cancer Res 2013; 3(2):159-172

Ингибиторы тирозинкиназ

Самыми эффективными ингибиторами тирозинкиназ при мастоцитозе являются мидостаурин и иматиниб.

Мидостаурин ингибирует различные мутантные формы c-kit, включая KIT D816V, что приводит к уменьшению пролиферации неопластических ТК. В отличие от других KIT-targeting drugs, мидостаурин ингибирует IgE-зависимое высвобождение гистамина.

Эффект от препарата наблюдается у 60% пациентов, поэтому мидостаурин может рассматриваться как препарат первой линии у пациентов с прогрессирующим СМ, однако в России данный препарат не зарегистрирован.

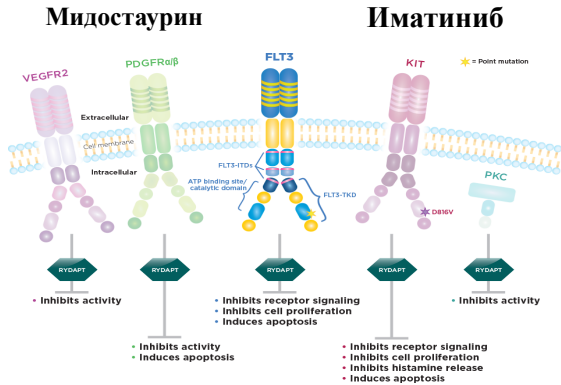
Иматиниб (Gleevec®, Novartis) используется у D816V-отрицательных пациентов, а также при KIT дикого типа, что соответствует примерно 10% пациентам с прогрессирующим СМ.

Чаще Иматиниб применяется при хронической миелогенной лейкемии и гастроинтестинальных стромальных опухолях, так как за счет высокого сродства к белку BCR-ABL1 препарат подавляет пролиферацию Bcr-Abl-позитивных опухолевых клеток и индуцирует их апоптоз.

В меньшей степени иматиниб действует на родственные тирозинкиназы, включая c-kit.

Valent P. Mastocytosis: a paradigmatic example of a rare disease with complex biology and pathology. Am J Cancer Res 2013; 3(2):159-172

Ингибиторы тирозинкиназ



Список литературы

- 1) Valent P, Horny HP, Li CY et al. Mastocytosis (mast cell disease). In: World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Eds: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. IARC Press-Lyon, France. 2001: 291–302.
- 2) Нагорная Н.В., Бордогова Е.В., Коваль А.П., Дубовая А.В. Мастоцитоз у детей: обзор литературы и собственное клиническое наблюдение Вестник дерматологии и венерологии 2017; (1): 12—20.
- 3) Valent P. Diagnosis and management of mastocytosis: an emerging challenge in applied hematology. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2015;2015:98-105.
- 4) Wagner N, Staubach P. Mastocytosis – pathogenesis, clinical manifestation and treatment. J Dtsch Dermatol Ges. 2018;16(1):42-57.
- 5) Scherber RM, Borate U. How we diagnose and treat systemic mastocytosis in adults. Br J Haematol. 2018;180(1):11-23.
- 6) Tefferi A, Pardanani A. Systemic mastocytosis: current concepts and treatment advances. Curr Hematol Rep. 2004;3(3):197-202.
- 7) Халиуллин Ю.Г. Мастоцитоз: клинические проявления, методы диагностики и тактика ведения пациентов. Лечащий врач. 2012; 8: 83-89.
- 8) Arber DA, Orazi A, Hasserjian R et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;127(20):2391-405.
- 9) Wöhrl S, Moritz KB, Bracher A et al. A c-kit mutation in exon 18 in familial mastocytosis. J Invest Dermatol. 2013; 133(3): 839 – 41.
- 10) Bodemer C, Hermine O, Palmerini F et al. Pediatric mastocytosis is a clonal disease associated with D816V and other activating c-KIT mutations. J Invest Dermatol 2010; 130:804–15.
- 11) Valent P. Mastocytosis: a paradigmatic example of a rare disease with complex biology and pathology. Am J Cancer Res 2013; 3(2):159-172.
- 12) Прошутинская Д.В., Маковецкая О.С. Клинические особенности мастоцитоза у пациентов детского возраста. Вестник дерматологии и венерологии. 2017;(1):12—20.
- 13) Komii DEA, Rambasek T, Wöhrl S. Mastocytosis: from a Molecular Point of View. Clin Rev Allergy Immunol. 2018;54(3):397-411