

- 2) исследование в крови уровней мочевины, креатинина, общего белка, электролитов;
- 3) общий анализ мочи;
- 4) наладить учет почасового диуреза.

Такие исследования позволяют установить диагноз на ранних этапах заболевания и своевременно начать лечение детей в специализированном стационаре. Что, в свою очередь, улучшит качество жизни данной категории детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Савенкова, Н. Д. Клиническая нефрология детского возраста / Н. Д. Савенкова, А. В. Папаян. — СПб., 1997.
2. Байко, С. В. Гемолитико-уремический синдром: эпидемиология, классификация, клиника, диагностика, лечение / С. В. Байко // Нефрология и диализ. — 2007. — Т. 9, № 4. — С. 370–386.
3. Kaplan, B. S. The pathogenesis and treatment of hemolytic uremic syndrome / B. S. Kaplan, K. E. Meyers, S. L. Sculman // J. Am Soc Nephrol. — 1998. — Vol. 9. — P. 1126–1133.
4. Fitzpatrick, M. Haemolytic uraemic syndrome and E. coli 0157 / M. Fitzpatrick // BMJ. — 1999. — Vol. 318. — P. 684–6853.
5. Ruggenti, P. Thrombotic microangiopathy, hemolytic uremic syndrome, and thrombotic thrombocytopenic purpura / P. Ruggenti, M. Noris, G. Remuzzi // Kidney Int 2001. — Vol. 60. — P. 831–846.

УДК 616.12-005.4-074:575

ПРИМЕНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МОДИФИКАЦИЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Сурта Е. В., Воропаев Е. В., Баранов О. Ю.,
Платошкин Э. Н., Голубых Н. М.

Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

В Республике Беларусь, как и во всех странах мира, отмечается рост заболеваемости болезнями системы кровообращения (БСК), которые традиционно занимают первое место в структуре смертности и инвалидности населения. Так, в 2009 г. по сравнению с 2008 г. наблюдается увеличение общей заболеваемости болезнями БСК с 2762,6 до 2933,3 (+6,2 %) на 10 тыс. взрослого населения. В структуре БСК отмечается рост уровня острых и хронических форм ишемической болезни сердца (ИБС): общая заболеваемость ИБС в 2009 г. составила 1215,3 на 10 тыс. взрослого населения (в 2008 г. — 1125,0; 2007 г. — 990,6).

В 2009 г. наблюдалось увеличение доли смертности от БСК до 54 % (2008 г. — 52,7 %) за счет увеличения смертности от хронической ИБС на 1,3 % (2008 г. — 62,5 %, 2009 г. — 63,8 %). В структуре первичного выхода на инвалидность населения Республики Беларусь БСК в 2009 г. составили 28,1 % (в 2008 г. — 28,3 %); в основном, это больные ИБС. Частота встречаемости ИБС и, соответственно, уровни социально-экономических потерь нарастают с увеличением возраста населения.

Одним из наиболее перспективных подходов для раннего выявления групп повышенного риска развития ИБС, прогноза течения патологического процесса, развития осложнений является анализ полиморфизма генов.

При изучении полиморфного маркера I/D гена ангиотензинпревращающего фермента ACE у больных с ИБС, перенесших инфаркт миокарда, а также у больных с ИБС, артериальной гипертензией или сахарным диабетом было выявлено повышение частоты генотипа DD и аллеля D [1]. Полиморфный маркер Ser447Ter гена липопротеинлипазы (LPL) ассоциирован с благоприятными изменениями липидного состава крови: пониженным уровнем триглицеридов и повышенным уровнем холестерина ЛВП [2].

Мутация гена V фактора свертывания G1691A (лейденовская мутация) обнаруживается у 20–50 % больных с рецидивирующими венозными тромбозами и тромбоэмболией. Гетерозиготность по этому аллелю повышает риск венозных тромбозов и эмболии в течение жизни в 7 раз, гомозиготность — в 20 раз [0]. В ряде исследований описана связь полиморфного маркера A1166C гена рецептора ангиотензина II 1-го типа (AT2R1) с атеросклерозом и ИБС [2]. Мутация C677T метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) ассоциирована с гипергомоцистеинемией, что является независимым и существенным фактором риска развития артериальных и венозных тромбозов, а также атеросклеротического поражения коронарных, мозговых и периферических сосудов [4]. Полиморфизм Ala(-9)Val гена митохондриальной супероксиддисмутазы (SOD2) приводит к изменению вторичной структуры SOD2, что влечет за собой нарушение доставки фермента в митохондрии [5].

Разработка надежных и доступных методов молекулярно-генетической стратификации риска развития ИБС в клинической кардиологической практике будет способствовать ее своевременной профилактике и ранней диагностике.

Цель

Изучение роли генетических факторов в формировании предрасположенности к ИБС.

Методы исследований

Всего нами было обследовано 138 пациентов с ИБС. Контрольную группу составили 109 пациентов без признаков ИБС. Среди обследованных пациентов 111 мужчин (44,58 %) и 138 женщин (55,42 %). Возраст пациентов составил от 28 до 91 года, средний возраст ($60,09 \pm 18,3$) года.

Для выявления полиморфных маркеров исследуемых генов-триггеров (MTHFR, F5, AT2R1, LPL и SOD2) использовался PCR-RFLP анализ, для полиморфного маркера гена ACE — PCR анализ. Нуклеотидный состав использованных праймеров представлен в таблице 1.

Таблица 1 — Нуклеотидный состав праймеров исследуемых генов

Ген	Структура праймеров
MTHFR	5'-CTGGGAAGAACTCAGCGAAC-3' 5'-GGAAGGTGCAAGATCAGAGC-3'
ACE	5'-GCCCTGCAGGTGTCTGCAGCATGT-3' 5'-GGATGGCTCTCCCCGCCCTTGTCTC-3'
AT2R1	5'-CCTGCACCATGTTTTGAGGTTGAGTGAC-3' 5'-AAAATAACAGGACAAAAGCAGGCTAGGGAG-3'
F5	5'-CATACTACAGTGACGTGGAC-3' 5'-TGTTCTCTTGAAGGAAATGC-3'
LPL	5'-CATCCATTTTCTTCCACAGGG-3' 5'-TAGCCCAGAAATGCTCACCAGACT-3'
SOD2	5'-CCAGCAGGCAGCTGGCACCG-3' 5'-TCCAGGGCGCCGTAGTCGTAGG-3'

Используемые праймеры были синтезированы по нашему заказу фирмой «Primetech» (Республика Беларусь).

Для проведения ПЦР использовали реагенты фирмы «Fermentas» (Литва).

Для подбора оптимальной температуры отжига для каждой пары праймеров нами была проведена амплификация с градиентом температур отжига. Температура отжига зависит от длины и нуклеотидного состава праймера. Обычно она ниже на 2–4 °C значения температуры праймера. Если температура отжига ниже оптимальной, то число неспецифических амплифицированных фрагментов возрастает и наоборот. При этом концентрация специфических ампликонов может резко снижаться вплоть до ингибирования ПЦР. Увеличение времени отжига также приводит к увеличению количества неспецифических ампликонов.

В качестве материала для исследования использовалась ДНК, выделенная из лейкоцитов крови пациентов с использованием комплектов реагентов для выделения ДНК из клинического материала «Цитолизин» и «ДНК-сорб-В» фирмы «АмплиСенс» (Россия).

Характеристика аллелей анализируемых генов приведена в таблице 2.

Таблица 2 — Характеристика аллелей анализируемых генов

Ген	Полиморфизм	PCR продукт, п.н.	RFLP продукт, п.н.	Рестриктаза
ACE	I/D		N - 597 M - 319	
MTHFR	C677T	428	N - 37,391 M - 37,124,267	HinfI
AT2R1	A1166C	352	N - 352 M - 114, 238	HpyF3I (DdeI)
F5	Arg506Gln	206	N - 36, 47, 123 M - 47,159	Mnl I
LPL	Ser447Ter	137	N - 137 M - 114,23	HinfI
SOD2	Ala(-9)Val	91	N - 91 M - 74, 17	BshTI(AgeI)

Примечание. *N — дикий аллель, M — мутантный аллель

Амплификацию проводили на амплификаторе «PalmCycler» фирмы Corbett Research (Австралия). Используемые праймеры были синтезированы по нашему заказу фирмой «Primetech» (Республика Беларусь). Для подбора оптимальной температуры отжига для каждой пары праймеров нами была проведена амплификация с градиентом температур отжига.

Для проведения PCR и приготовления рестрикционной смеси использовали реагенты фирмы «Fermentas» (Литва). Электрофоретическое фракционирование продуктов PCR проводили в 1,7 %, а рестриктовы — в 3,0 % агарозном геле по стандартной методике с окраской раствором бромистого этидия. Анализ электрофоретических спектров проводился с помощью программного обеспечения «Quantity One» (Biorad). В качестве контроля использовали маркер молекулярного веса (GeneRuler 50bp DNA Ladder, GeneRuler 100bp DNA Ladder) производства компании «Fermentas» (Литва).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью стандартного статистического пакета программы «Statistica» 8.0 с применением критерия χ^2 .

Результаты и обсуждение

Генотипическая структура обследованных пациентов (данные приведены в абсолютных числах) представлена в таблице 3.

Таблица 3 — Генотипическая структура обследованных пациентов

Ген	Генотип	ИБС возникла в возрасте до 55 лет	Без признаков ИБС в возрасте до 55 лет	ИБС возникла в возрасте старше 55 лет	Без признаков ИБС в возрасте старше 55 лет
AT2R1	NN	20	37	49	21
	NM	20	25	36	21
	MM	4	2	7	3
ACE	NN	12	12	28	8
	NM	28	34	39	18
	MM	5	18	26	19
SOD2	NN	15	17	19	14
	NM	18	31	52	21
	MM	12	16	22	10
MTHFR	NN	18	28	47	24
	NM	23	30	36	18
	MM	4	6	10	3

Примечание. *NN — нормальная гомозигота, NM — гетерозигота, MM — мутантная гомозигота

Из 199 пациентов, обследованных на носительство мутации в гене F5, лишь 3 человека оказались ее носителями в гетерозиготном состоянии и ни одного — в гомозиготном.

Из 199 пациентов, обследованных на носительство мутации в гене LPL, лишь 19 человек оказались ее носителями в гетерозиготном состоянии и ни одного — в гомозиготном.

Статистический анализ полученных генотипов показал, что между группой пациентов, ИБС у которых возникла в возрасте до 55 лет, и группой пациентов, ИБС у которых возникла после 55 лет, по полиморфному маркеру I/D гена ACE наблюдается статистически значимая разница ($\chi^2 = 6,14$; $p = 0,046$). Статистический анализ полученных генотипов других изучаемых генов не выявил статистически значимых различий.

Следует учитывать тот факт, что генотип организма не изменяется в течение жизни, т. е. генотип является не модифицируемым фактором риска, в отличие от других, таких как курение, ожирение, гиперхолестеринемия и т. д.

Выводы

Обследование на носительство полиморфизма I/D гена ACE может служить одним из критериев для выделения групп повышенного риска раннего прогрессирования ИБС, в том числе до возникновения клинических проявлений заболевания. Выявление такой группы риска позволит целенаправленно осуществлять профилактику и проводить своевременную терапию этого заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ассоциация полиморфных маркеров I/D гена ACE и A1166C гена AT2R1 с хронической сердечной недостаточностью ишемической этиологии в популяциях русских и татар Республики Башкортостан / К. И. Губаев [и др.] // Генетика. — 2006. — Т. 42, № 12. — С. 1712–1717.
2. Генетический полиморфизм при ишемической болезни сердца / А. А. Зайкина [и др.] // Кардиология. — 2008. — Т. 48, № 1. — С. 62–65.
3. Молекулярно-генетические аспекты патогенеза венозных тромбозов и тромбоэмболии легочной артерии / И. В. Залуцкий [и др.] // Онкологический журнал. — 2007. — № 2. — С. 54–62.
4. Шевченко, О. П. Гомоцистеин — новый фактор риска атеросклероза и тромбоза / О. П. Шевченко // Клиническая лабораторная диагностика. — 2004. — № 10. — С. 25–31.
5. Manganese superoxide dismutase alanine to valine polymorphism and risk of neuropathy and nephropathy in egyptian type 1 diabetic patients / T. M. El Masry [et al.] // Rev Diabetic Stud. — 2005. — Vol. 2. — P. 70–74.

УДК 614:7.330.131.7

ПРОБЛЕМЫ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЯ ТЕХНОГЕННЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ В СВЕТЕ МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ РАДИАЦИОННОГО ФАКТОРА

**Сушко С. Н., Маленченко А. Ф., Барыбин Л. Н., Савин А. О., Кадукова Е. М.,
Гончаров С. В., Шафорост А. С., Бажанова Н. Н., Чайковская М. А.**

**Государственное научное учреждение
«Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси»
Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь**

Введение

Проблема высокого качества окружающей среды для Беларуси представляется особенно актуальной, что обусловлено высоким уровнем промышленного развития республики, концентрацией промышленных предприятий на сравнительно ограниченной территории с формированием многокомпонентных потоков токсичных отходов во все среды обитания человека: воздух, воду, почву, а также черныбыльскими последствиями. Согласно литературным данным преимущественными загрязнителями почв г. Гомеля и прилегающих территорий являются тяжелые металлы. Основной вклад в структуру атмосферных выбросов вносят диоксид серы, оксиды азота, углеводороды и оксид угле-