

# НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ ПРОГРАММА

## «ИССЛЕДОВАНИЯ И РАЗРАБОТКИ ПО ПРИОРИТЕТНЫМ НАПРАВЛЕНИЯМ РАЗВИТИЯ НАУКИ И ТЕХНИКИ»

НИУ РАМН принимали участие в выполнении Федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники на 2002–2006 годы» (госзаказчик – Федеральное агентство по науке и инновациям).

Итоги научных исследований представлены следующими результатами.

### ГЕНОДИАГНОСТИКА И ГЕНОТЕРАПИЯ

Разработаны и усовершенствованы системы молекулярно-цитогенетического анализа, в том числе пренатального; проведен анализ нуклеотидных полиморфизмов и мутаций в генах наследственных и онкологических заболеваний; анализ международных и российских документов по биоэтике. Осуществлен поиск новых дифференциально метилированных CpG-островков в целях определения новых генов, вовлеченных в процессы канцерогенеза. Проведено тестирование дифференциально метилированных последовательностей в различных типах опухолей (различные формы семейного и спорадического рака щитовидной железы, острый и хронический миелолейкозы, семейный и несемейный рак молочной железы и др.).

Продолжен анализ образцов биологического материала от больных и их родственников с различными формами наследственной и широко распространенной патологии, проведены корреляционный анализ мутаций с фенотипическими проявлениями болезни и частот аллелей при различной наследственной и мультифакториальной патологии. Проведены определение частот мутаций и полиморфизмов изучаемых генов; установление их вклада в полиморфизм изучаемых генов и в развитие болезней; статистический анализ, исследования ассоциаций. Подготовлены рекомендации по использованию генотипических данных для целей диагностики, медико-генетического консультирования. Оптимизированы и созданы молекулярно-диагностические протоколы для каждого изученного заболевания.

Проведен анализ мутаций и полиморфных маркеров генов различных классов наследственных болезней

(наследственные синдромы МВПР, митохондриальные болезни, неврологические заболевания), при наследственных и спорадических формах рака. Разработаны диагностические процедуры для синдромов ВПР. Разработаны методы выделения группы риска, нуждающейся в молекулярно-генетическом обследовании при социально значимых наследственных и моногенных онкологических заболеваниях. Проведены анализ области локализации ряда синдромов, характеристика делеций мтДНК у российских пациентов с различными формами митохондриальных заболеваний. Проведена характеристика генетической стабильности и экспрессии фрагмента гена теломеразы. Осуществлен отбор оптимальных вариантов невирусных ДНК-транспортных систем, углубленное изучение их физико-химических и биологических свойств и терапевтического эффекта генетической трансфекции в эксперименте (Медико-генетический научный центр РАМН).

В целях генной терапии миодистрофии Дюшена разработаны невирусные носители (Glu и His модифицированные гетеродендримеры, суперразветвленные полилизинны SPL 11 и 12) для направленного транспорта экспрессирующих генных конструкций.

Впервые проведен анализ полиморфизма генов GSTT1, GSTM1, CYP19, p53 у больных с аденомиозом.

Проведен анализ генов, кодирующих цитокины, в частности TNF- $\alpha$ , у детей с atopической бронхиальной астмой, что позволяет с высокой степенью вероятности выявлять детей, предрасположенных к atopической бронхиальной астме уже в досимптоматический период развития заболевания в семьях высокого риска.

На основе генетического тестирования разработана эффективная стратегия раннего выявления и идентификации «групп повышенного риска» развития сахарного диабета 1-го типа и остеопороза. Полученные результаты позволяют проводить досимптоматическое выявление женщин высокого риска постменопаузального остеопороза и детей, предрасположенных к диабету 1-го типа (НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН).

В целях разработки методов диагностики ауто-сомно-доминантных спиноцереbellарных атаксий и наследственных дистонических синдромов в российских семьях продолжен прямой мутационный скрининг генов аутосомно-доминантных атаксий (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA8, SCA12, SCA17) и наследственных дистонических синдромов (DYT1, GCH-1 и ε-саркогликана). В обследованной российской выборке в 34,5% семей выявляется мутация SCA1, в 10% – SCA2 и SCA3 (болезнь Мачадо-Джозев), несколько реже встречаются формы SCA6 и SCA7; в 35% семей заболевание обусловлено мутациями в других генах, недоступных пока для прямого анализа. Показана редкость первичных ε-саркогликанопатий в российской популяции у больных с миоклонической дистонией (НИИ неврологии РАМН).

Проведено сравнительное исследование генетической гетерогенности наследственных двигательнo-сенсорных нейропатий (НДСН) в выборках из сибирского региона и Таджикистана.

При поиске генов, предрасполагающих к развитию эссенциальной гипертонии и ишемической болезни сердца, выявлена ассоциация полиморфизма гена GNB3 с эхокардиографическими оценками параметров миокарда при гипертрофии левого желудочка различной этиологии.

Изучен полиморфизм гена NRAMP1 у жителей г. Томска и Томской области, больных различными формами туберкулеза.

Разработана модификация метода сравнительной геномной гибридизации (CGH) для выявления хромосомных нарушений в клетках опухолей при раке легкого (НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН).

В рамках проекта «База данных о генофондах человека, животных и микроорганизмов» создана база данных распространенности вариантов генов пятого фактора свертываемости крови FV, протромбина FII, гена третьего субсемейства интегринов GIIIa у русских г. Томска; генов VDR, IL1RN, IL1B у тувинцев; гена MYBPC3 у тувинцев и бурят, а также у русских г. Томска (НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН).

Созданы пилотные версии двух баз данных: «Полиморфизм митохондриального генофонда народов Евразии» и «Генофонд и антропоэкология населения Северной Евразии». Разработана геногеографическая (математическая) модель оценки локального инбридинга в популяциях (модель Малекко) с учетом плотности популяции. Создана программа на языке FORTRAN POWER STATION v. 1.0 преобразования географического ареала популяции по аноморфному типу. Проанализирована модельная (виртуальная) популяция по преобразованию ее географического ареала по плотности, по частотам маркеров и по генетико-демографическим маркерам (ИОГ им. Н.И. Вавилова РАН, Медико-генетический научный центр РАМН).

## ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ

На модели смешанной инфекции клеток двумя альфа-вирусами (аттенуированные штаммы вируса энцефалита лошадей (ВЭЛ) и вируса карельской лихорадки) проанализировано образование вирусных рекомбинантных

(рек-РНК) молекул во фракции внеклеточного вируса на протяжении шести пассажей и последующего клонирования полученной популяции. Установлено, что после клонирования в популяции (смешанной инфекции) содержатся разные (мозаичные по структуре) рекомбинантные геномы, «успешно конкурирующие» с сохраняющимися полноценными вирионами (одного или двух родителей), доля которых (родителей) в общей популяции прогрессивно снижается. Полагается, что в культуре ткани сохранение гетерогенной рекомбинантной популяции обеспечивается путем интерференции дефектных и полноценных геномов, а также за счет комлементации гетерогенных (по первичной структуре) участков, «общий рекомбинантный пул которых» еще сохраняет способность к репликации.

Предложенная модель формирования вирусo-рекомбинантов «ин vitro» моделирует потенциальный механизм развития патологических нарушений в макроорганизме за счет персистенции низкоцитотидных вирусов, в том числе и рекомбинантных по природе (НИИ вирусологии РАМН).

Получен и охарактеризован рекомбинантный аденовирус птиц, содержащий ген фибера вируса ССЯ-76. Отработана технология наращивания рекомбинантного аденовируса в куриных эмбрионах. Введение в организм лабораторных животных рекомбинантного вируса индуцирует образование специфических антител к белку фибера ССЯ-76, экспрессируемому рекомбинантным вирусом. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования рекомбинантного аденовируса CELO с геном фибера вируса ССЯ-76 в качестве генно-инженерной вакцины против вируса ССЯ-76.

Проведено наращивание и очистка препаративного количества рекомбинантного аденовируса птиц, содержащих ген гликопротеида вируса бешенства, для проведения иммунизации животных. Проведен анализ уровня специфических антител на капсидные антигены вирусного вектора в сыворотке мышей, иммунизированных рекомбинантным вирусом. Показано незначительное репродуктивное вируса в организме при высокой экспрессии интрадуцированного гена гликопротеида вируса бешенства. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования рекомбинантного аденовируса CELO с геном гликопротеида вируса бешенства в качестве генно-инженерной вакцины против вируса бешенства (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН).

Подготовлен обзор сведений по развитию рынка лекарственных препаратов на основе цитокинов и их индукторов. Сделан прогноз перспектив медицинского применения и развития производства цитокинов и индукторов интерферона для обеспечения вопросов профилактики и лечения особо опасных инфекционных болезней (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН).

## СПИД

Совместно с ЦНИИ эпидемиологии Минздравсоцразвития России проведено изучение распространения ВИЧ-1 на разных территориях России и сопредельных государств в различных группах населения. Отмечено,



что вариант ВИЧ-1 подтипа А, быстро распространяющийся в популяциях лиц, практикующих внутривенное введение психоактивных препаратов, вышел за пределы этой группы риска, и в 2004 году этот вариант вируса был выявлен уже в 97% случаев лиц, инфицированных гетеросексуальным путем. Показано, что ВИЧ-1 по-прежнему характеризуется низкой генетической изменчивостью.

Изучено распространение в нашей стране мутаций, связанных с устойчивостью к ингибиторам протеазы ВИЧ и с устойчивостью к лекарственным препаратам. Показано, что ни один из изученных изолятов не содержал мутаций устойчивости к ингибиторам протеазы. В то время как вариант ВИЧ-1 с мутацией лекарственной устойчивости, передающийся как парентерально, так и гетеросексуальным путем, в настоящее время доминирует в Москве, Иркутске, Екатеринбурге и многих других регионах СНГ (НИИ вирусологии РАМН).

Разработан вариант тест-системы ИФА для выявления специфических циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) при ВИЧ-инфекции и СПИДе, характеризующийся высокой чувствительностью и специфичностью. Приготовлены лабораторные серии новых вариантов тест-системы ИФА на основе рекомбинантного иммуносорбента, содержащего актуальные антигены ВИЧ-1 субтипов А, В, G, С, рекомбинанта АВ, доминирующих в России, а также ВИЧ О и ВИЧ-2 (НИИ вирусных препаратов РАМН).

Проведено дальнейшее изучение в экспериментальных условиях ранее разработанного метода определения функционального состояния мононуклеаров периферической крови у индивидуальных пациентов на основании анализа экспрессии соответствующих генов, позволяющего прогнозировать течение инфекции и реакцию отдельного пациента на проводимое лечение. Подтверждена высокая информативность генного анализа моноцитов для оценки их функционального состояния, и показано, что при изучении динамики ВИЧ-1 инфекции изменения уровней активности генов происходили уже в первые сутки после заражения клеток или введения индуктора. Начаты исследования по адаптации метода для клинических исследований (НИИ вирусологии и НИИ вирусных препаратов РАМН).

Проведен анализ частоты встречаемости сочетаний различных аллельных состояний мутаций в группах ВИЧ-инфицированных и «контактных» наркоманов, а также здоровых доноров. Впервые показано, что частота встречаемости мутаций CCR5Δ32 и CCR2-641 в гетерозиготном состоянии в группе «контактных» лиц была достоверно выше по сравнению с двумя контрольными группами – здоровых доноров и ВИЧ-инфицированных наркоманов, что свидетельствует о протективном эффекте данного сочетания мутаций при заражении ВИЧ-1 подтипа А при парентеральном пути передачи.

Завершены исследования по изучению влияния высокоактивной антивирусной терапии (ВААРТ) на репликативные свойства ВИЧ-1 в условиях непрерывного пассирования вирусов в присутствии и в отсутствие химиопрепаратов. Отмечено, что все 4 комбинации химиопрепаратов, использованные в исследовании, привели к появлению вариантов вируса с низкой жизнеспособностью.

Проведено исследование «in vitro» 60 новых противовирусных препаратов, являющихся производными азидотимидина (АЗТ), из которых 56 были эфирами АЗТ и органических кислот, а 4 препарата относились к фосфолипидам. Среди испытанных препаратов, представляющих собой эфиры АЗТ и органических кислот, перспективными, но требующими существенной доработки отобраны 9 препаратов; из группы фосфолипидов – ни один из препаратов не обладал противовирусной активностью (НИИ вирусологии РАМН).

#### ВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ

Разработаны принципы создания латексных диагностических тест-систем для выявления специфических антител к вирусу гепатита С, технология получения исходных компонентов (латексных суспензий и рекомбинантных вирусных антигенов) и отобраны наиболее перспективные варианты этого метода для масштабного производства. Проведены испытания экспериментальных серий диагностикума, продемонстрирована высокая чувствительность и специфичность тест-систем на основе латексных частиц.

Проведен анализ заболеваемости гепатитами В и С в Кабардино-Балкарии и в Республике Саха (Якутия). Исследованы пути передачи вирусных гепатитов в этих регионах. Показано, что эпидемическая ситуация по вирусным гепатитам с парентеральным путем передачи в Кабардино-Балкарии сравнительно благополучная. Республика Саха является высокоэндемичной в отношении вирусных гепатитов В и С, и требуется проведение соответствующих мероприятий (НИИ вирусных препаратов РАМН).

Впервые получены данные, свидетельствующие о возможности экспериментального моделирования инфекции ВГС (вирусный гепатит С) «in vitro». Получены данные о способности ВГС индуцировать острую, хроническую и персистентную инфекцию во многих культурах клеток – как первичных, так и перевиваемых. Разработаны экспериментальные модели инфекции, вызванной ВГС, которые успешно используются для оценки противовирусной активности различных препаратов, с целью поиска новых эффективных средств лечения гепатита С (НИИ вирусологии РАМН).

#### БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Предложена система анализа внутриклеточного размножения *L.monocytogenes*, которая может быть использована для тестирования белка TagI и определения его функций (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН).

Проведена оценка способности иммуномодуляторов различной природы вызывать быстрое развитие протективного иммунитета против патогенных микроорганизмов. Экспериментально установлены дозы введения следующих иммуномодуляторов: Деринат – 3,75 мг/мышь, Ферровир – 3,75 или 1,62 мг/мышь; Милайф.

В целях оценки гуморального иммунитета социально значимых инфекций, в частности бронхолегоч-





ной патологии, и для отбора сырья при производстве иммуноглобулина создана комплексная тест-система на основе антигенов *K.pneumoniae*, *H.influenza*, *M.catarrhalis* и *S.pneumonia*. На 150 сыворотках доноров крови подтверждена ее специфичность и чувствительность. Составлена инструкция по применению тест-системы (НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН).

Проведены доклинические исследования хронической токсичности и мутагенных свойств препарата С-1733, подтвердившие его безопасность и возможность проведения дальнейшего изучения его токсикологических свойств. Показано, что основной механизм действия С-1733 связан с индукцией интерферона. Впервые выявлена способность препарата регулировать продукцию не только интерферонов, но и других цитокинов при различных формах инфекционной патологии. Препарат обладает рядом свойств, позволяющих считать его перспективным для получения лекарственной формы (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН).

## ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

В целях предотвращения чрезвычайных эпидемиологических ситуаций, этиологически связанных с арбовирусами и вирусами гриппа, проведен эколого-вирусологический мониторинг территории России: осуществлено 4 экспедиционных выезда на территории Северного Прикаспия и юга европейской части России. Обследован полевой материал.

Изолировано и реизолировано из комаров 100 вирусных штаммов (Синдбис, Батаи), из иксодовых клещей – 6 (Дхори, ККГЛ), из внутренних Дхори); обследовано 1090 сывороток крови сельскохозяйственных животных, среди которых были положительные сыворотки по отношению к ВЗН, ЯЭ, КЭ, вирусу Гета. Изучены биологические свойства вируса ЗН.

По проблеме экологии вирусов гриппа проведено изучение циркуляции вирусов гриппа А среди диких птиц Северного Каспия и Дальнего Востока. Показано, что изменение экологии вида приводит к расширению круга хозяев вируса. Серологическое обследование выявило наличие антител к вирусам гриппа А/Н1N1, А/Н2N2 и А/Н3N2 в сыворотках крови крупного рогатого скота.

Филогенетический анализ гена НА вируса гриппа А/Н5, изолированных в России (А/утка/Алтай/1285/91, А/утка/Приморье/2621/01 и А/утка/Приморье/2633/01), показал, что они занимают промежуточное положение между двумя подгруппами вирусов, выделенных в 1977–1979 годах и 1996–2004 годах в Гонконге.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости постоянного мониторинга циркуляции вирусов гриппа А на территории России, поскольку будущие пандемические варианты, очевидно, появляются в природе раньше, чем они регистрируются в антропогенной популяции.

Изученные вирусы депонированы в Государственную коллекцию вирусов (ГКВ), где прорабатываются вопросы эффективной системы консервации и режимы

длительного их хранения. Изучено 18 семейств штаммов вирусов, хранящихся в ГКВ. Показано, что лиофилизированные штаммы вирусов, хранящиеся при  $-20^{\circ}\text{C}$  без пассажей сохраняют высокие титры инфекционности и основные биологические свойства. Изучено семейство Буньявирусов и прионов, показана возможность хранить их лиофилизированными многие десятилетия без пассажей (НИИ вирусологии РАМН).

Разработаны уникальные математические модели (3-е поколение) и реализованы современные компьютерные программы для ПЭВМ, для изучения закономерностей развития и распространения эпидемий и эпизоотии особо опасных инфекций (ООИ) при чрезвычайных ситуациях природного и техногенного характера.

Предложены методики практического применения математических моделей и компьютерных программ для изучения закономерностей развития вспышек и распространения эпидемий и эпизоотии ООИ при чрезвычайных ситуациях природного и техногенного характера.

Разработаны и проанализированы сценарии появления вспышек или эпидемий ООИ (грипп, сыпной тиф, холера, туляремия, геморрагические лихорадки Эбола, Ласса, Марбург, Крымская-Конго геморрагическая лихорадка, чума, натуральная оспа, сибирская язва), а также вспышек и эпизоотии ООИ среди домашних животных.

Определены прогностические оценки масштабов, степени опасности и экономического ущерба от эпидемий и эпизоотий ООИ (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН).

Проведен анализ заболеваемости гепатитами В и С в Кабардино-Балкарии и в Республике Саха (Якутия). Исследованы пути передачи вирусных гепатитов в этих регионах. Показано, что эпидемическая ситуация по вирусным гепатитам с парентеральным путем передачи в Кабардино-Балкарии сравнительно благополучная. Республика Саха является высокоэндемичной в отношении вирусных гепатитов В и С, и требуется проведение соответствующих мероприятий (НИИ вирусных препаратов РАМН).

Подготовлен обзор сведений по развитию рынка лекарственных препаратов на основе цитокинов и их индукторов. Сделан прогноз перспектив медицинского применения и развития производства цитокинов и индукторов интерферона для обеспечения вопросов профилактики и лечения особо опасных инфекционных болезней (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН).

Разработан проект прогноза в области создания вакцин нового поколения для вакцинопрофилактики и терапии инфекционных и неинфекционных болезней.

## ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ

### ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Установлено, что степень злокачественности мелко-круглоклеточных новообразований связана с уровнем ультраструктурной дифференцировки опухолевых клеток, экспрессией ряда рецепторов и аргирофильных



белково-ядрышковых организаторов. Чем выше их экспрессия и ниже уровень ультраструктурной дифференцировки опухолевых клеток, тем, как оказалось, выше степень злокачественности новообразований. Изученные факторы также регулируют количество и скорость пролиферации опухолевых клеток.

Разработаны начальные варианты тест-систем для проведения на микрочипах количественного иммуноанализа следующих онкомаркеров: ПСА, РЭА, АПФ и СА19-9. Выбраны пары антител, условия проведения иммуноанализа, диапазоны концентраций антигенов для построения калибровочных кривых. Показана возможность количественного определения указанных антигенов в сыворотке крови человека.

Для разработки метода селективной химиотерапии, основанного на определении молекулярно-биологически маркеров и фенотипа лекарственной устойчивости «ин витро», проведено иммуноцитохимическое исследование маркеров апоптоза (bc1-2, Bax, p53) на 14 клеточных линиях меланомы. Исследована индукция апоптоза химиопрепаратами на клеточных линиях меланомы. Выявлено, что чем выше экспрессия антиапоптотических маркеров – мутантного p53, bc1-2, тем ниже апоптотический индекс. Высокий апоптотический индекс зависит от экспрессии проапоптотического белка – Bax.

Для создания новых средств доставки противоопухолевых препаратов на основе иммунолипосомальных лекарственных форм изучена стабильность и выход лизомустина в липосомальных дисперсиях с различным составом ПЭГ-липидов без антител по химико-фармацевтическим параметрам. Проведена первичная стандартизация липосомальных дисперсий.

Продолжена 1-я фаза клинических исследований эффективности терапии диссеминированной меланомы, рака почки и рака яичников методом трансплантации аутологичных дендритных клеток, нагруженных опухолевыми антигенами «ин витро». После 2–3 вакцинаций в местах введения вакцины у пациентов развивалась реакция гиперчувствительности замедленного типа. Токсических или аутоиммунных явлений ни у одного пациента не наблюдалось.

Проведены клинические испытания по 1-й фазе вакцины на основе аутогенного муцина, содержащего антиген СА125, установлена хорошая переносимость и отсутствие патологических реакций.

В целях разработки метода преодоления множественной лекарственной устойчивости с помощью липосом отработаны технологические условия получения липосом с бетулиновой кислотой. Отработаны концентрации липосомальной и свободной лекарственных форм бетулиновой кислоты, индуцирующей апоптоз «ин витро» на клеточной линии HeLa с гиперэкспрессией bc12.

Разработана позволяющая существенно расширить пул доноров методика аллогенной трансплантации на фоне немиелоаблативного режима у детей со злокачественными новообразованиями, осуществлены подбор доз химиопрепаратов для эффективной Т-клеточной деплеции; разработаны рекомендации по режимам

профилактики реакции «трансплантат-против-хозяина» и изучены реакции «трансплантат-против-опухоли».

Разработана лекарственная форма противоопухолевого препарата Амиронины из новой субстанции и проведены ее химико-фармацевтические и биологические исследования по программе «Мини-токс».

Проведены наработки субстанции новой лекарственной формы препарата класса нитрозоалкил-мочевин (НАМ), разработан проект ФСП на субстанцию. Начата разработка липосомальной лекарственной формы БХНМ. Нарботана лекарственная форма; проведены технологические и химико-фармацевтические исследования (Российский онкологический научный центр РАМН).

#### ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

Показано, что изменение эффективности индукции апоптоза во времени коррелирует с экспрессией генов, блокирующих апоптоз, и дифференцировкой клеток. Способ эффективной индукции апоптоза предлагается для очистки костного мозга и периферической крови от опухолевых Ph<sup>+</sup> клеток в хронической фазе хронического миелолейкоза (ХМЛ).

В целях разработки отечественных реагентов для диагностики патологии гемостаза синтезировано 5 оригинальных пептидов, 2 из которых чувствительны к протенину С. Показана чувствительность одного из них и к активатору протенина С.

Разработаны оптимальные панели для дифференциальной диагностики злокачественных лимфо-пролиферативных заболеваний и реактивных состояний с включением вновь созданных моноклональных антител. Разработан метод для раннего прогнозирования рецидива заболеваний на основе количественной оценки ядрышкового белка B23.

Впервые в России разработаны диагностические тест-системы для анализа экспрессии онкомаркеров PRAME и PRV-1, позволяющие осуществлять количественную оценку с использованием ПЦР в режиме реального времени. На основе этого подхода предложен новый алгоритм мониторинга минимальной остаточной болезни у больных гемобластомами.

Показано, что молекулярно-цитогенетические методы исследования при первичной диагностике гемобластозов высокоэффективны для выявления специфических и прогностически значимых хромосомных перестроек.

Сформирован архив цифровых видеоизображений по различным опухолям лимфатической системы и реактивным лимфаденитам. Разработан алгоритм автоматизированного анализа изображений клеток, позволяющий выделять их диагностическую субпопуляцию.

Создан новый протокол терапии острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) с учетом результатов изучения минимальной резидуальной болезни. Разработаны новые методы режимов кондиционирования и лечения острой реакции «трансплантат-против-хозяина» при аллогенной ТКМ.

При разработке новых подходов к индукции апоптоза в клетках миелоидного лейкоза установлено, что



siRNA2 имеет выраженное влияние на кинетику роста клеток как при индивидуальном воздействии, так и при синергичном с двумя другими последовательностями siRNA.

Доказано преимущество лечения Гливекком ранних стадий ХМЛ. Рекомендовано использование препарата в качестве терапии первой линии, а при наличии у больных двух и более неблагоприятных признаков до начала лечения – увеличение дозы или комбинация его с другими препаратами.

Разработан исследовательский протокол по оценке эффективности применения высокодозной химиотерапии при прогностически неблагоприятных вариантах лимфо-гранулематоза (Гематологический научный центр РАМН).

#### ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

По проекту «Разработка средств и методов диагностики и лечения больных ишемической болезнью сердца (ИБС)» установлено, что нормализация уровня гомоцистеина значительно улучшает течение ИБС. Выявлено, что гомоцистеин подавляет синтез и секрецию аполипопротеина А-1 гепатоцитами и индуцирует апоптоз макрофагов (НИИ экспериментальной медицины РАМН).

При изучении средств, регулирующих функции эндотелия и нормализующих липидный обмен, доказан единый микросомальный метаболизм симвастатина и комплексного соединения симвастатина с глицирризиновой кислотой через цитохромы. Выявленный ингибирующий эффект на ГМГ-КоА редуктазы в микросомах печени крыс «in vitro» нового липидснижающего комплексного соединения симвастатина с глицирризиновой кислотой по своей силе не уступают таковому симвастатина (НИИ терапии СО РАМН).

Разработаны и внедрены в клиническую практику новые методы лечения ИБС, основанные на стимуляции ангиогенеза рекомбинантными факторами. Разработан алгоритм неинвазивного обследования и сочетанного немедикаментозного лечения желудочковых нарушений ритма сердца у больных с атеросклерозом коронарных артерий, позволяющий определить тактику хирургического лечения этих пациентов (Научный центр сердечно-сосудистой хирургии РАМН).

#### ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Установлено, что для оптимизации диагностики узловых форм заболеваний щитовидной железы, выбора метода их лечения и их прогноза с учетом основных патогенетических и морфофункциональных характеристик необходимо проведение комплексного обследования пациентов с узловым коллоидным зобом (УКЗ) с использованием клинических, лабораторно-инструментальных, морфологических и иммуноморфологических методов.

Установлено, что для дифференциальной диагностики болезни Грейвса и определения функциональной активности щитовидной железы необходимо: определение иммуноглобулинов, ингибирующих связывание ТТГ (ТВИ), при помощи тест-систем, содержащих гетерологичный ТТГ, и интерпретация полученных данных в комплексе с данными других методов исследования; определение аутоантител к рецептору ТТГ и динамическое исследование данного показателя для прогнозирования различных вариантов течения болезни Грейвса.

Доказано, что определение уровня ТВИ при помощи тест-систем, содержащих гетерологичный ТТГ, не может использоваться для оценки активности эндокринной офтальмопатии.

Проведено скрининговое исследование УЗИ щитовидной железы у 1043 женщин, проживающих в г. Москве (регион легкого дефицита йода) и не получающих йодную профилактику. Выявлено, что в старших возрастных группах фокальные изменения в щитовидной железе обнаруживаются у 30% обследованных (Эндокринологический научный центр РАМН).

#### ПЕДИАТРИЯ

В рамках проекта «Закономерности роста и развития здорового ребенка» определены клинические, медико-социальные и анамнестические критерии оценки состояния здоровья детей и разработаны протоколы обследования детей дошкольного, среднего и старшего школьного возраста; определена методика формирования групп детей для проведения исследования в различных регионах России.

Разработаны возрастные нормативы костной минеральной плотности для детей 6–16 лет, остеокальцина, С-концевых телопептидов, паратиреоидного гормона и витамина Д для детей от периода новорожденности до 6 лет. С помощью анализатора изображений разработаны нормативы цитоморфометрических характеристик у здоровых и больных детей.

В рамках проекта «Особенности адаптации детского организма в современных условиях» установлено, что современные первоклассники на фоне выраженной интенсивности учебного процесса имеют низкие показатели готовности к обучению; 69% из них относятся к группе риска развития психо-эмоционального напряжения.

Выявлено ухудшение состояния здоровья школьников старшей возрастной группы: рост распространенности функциональных нарушений и хронических заболеваний. Доказана взаимосвязь курения и употребления алкоголя с развитием отдельных групп болезней и функциональных расстройств у подростков 15–17 лет.

Показано, что образ жизни учащихся профессиональных училищ вносит существенный вклад в снижение показателей их здоровья, особенно девушек.

Впервые показано, что в старшем подростковом возрасте продолжается развитие когнитивных и психомотор-





ных функций, повышается эмоциональное состояние старших подростков, уровень их психосоциальной адаптации.

Научно обоснованы требования к регламентации гигиенической безопасности детских товаров и разработаны гигиенические классификации и критерии оценки детских товаров с учетом возрастных особенностей детей, их функционального значения и площади контакта с кожей.

В рамках проекта «Научное обоснование новых технологий профилактики, диагностики, лечения и реабилитации распространенных болезней детского и подросткового возраста» установлено, что среди подростков с аллергией 60% страдает бронхиальной астмой, 30% – поллинозом, 10% – другими видами аллергических заболеваний; 80% подростков страдает аллергическим ринитом в сочетании с различными видами аллергии.

Установлена высокая частота возникновения острой респираторной вирусной инфекции у детей с atopической бронхиальной астмой и ееотягояющее влияние на течение основного заболевания.

Доказано, что у 89% детей с atopической бронхиальной астмой и частыми интеркуррентными острыми респираторными вирусными инфекциями проведение аллергенспецифической иммунотерапии в сочетании с иммунофармакотерапией гепоном и циклофероном способствуют уменьшению частоты и тяжести приступов удушья и снижению частоты респираторных вирусных инфекций.

Установлено, что к моменту постановки диагноза хронического вирусного гепатита у детей длительность инфицирования составила в среднем 5,3 года; у 6,2% больных отмечена спонтанная элиминация вируса гепатита В.

Установлена ведущая роль врожденной генерализованной вирусной инфекции в формировании множественных врожденных пороков развития по типу эмбриофетодисплазий, которые являются причиной смерти в перинатальном периоде.

У 25,5% новорожденных детей с церебральной патологией выявлена различная наследственная патология, что требует проведения медико-генетического консультирования для прогноза здоровья этой категории детей.

Впервые при сопоставлении клинических, морфологических и электроэнцефалографических данных выявлены изменения функциональной активности всех структур зрительного анализатора мозга у больных ДЦП; показана их роль в патогенезе задержки психического и речевого развития.

Установлено, что в структуре когнитивного дефицита у детей с синдромом дефицита внимания и гиперактивностью отмечается низкий уровень произвольного внимания, сенсомоторной деятельности и восприятия, снижение темпов формирования когнитивных процессов.

У детей первого года жизни, родившихся незрелыми и недоношенными, с перинатальными повреждениями нервной системы, выявлены регуляторные нарушения, обусловленные доминированием структур подкорково-стволового уровня.

Разработаны оптимальные алгоритмы питания недоношенных детей в зависимости от гестационного возраста; обоснована целесообразность ис-

пользования метода длительной инфузии при вскармливании глубоко недоношенных детей.

Получены новые данные о механизмах формирования бронхиальной обструкции при хронических воспалительных и бронхолегочных заболеваниях у детей, и научно обоснован дифференцированный подход к назначению бронходилататоров и противовоспалительных препаратов.

Установлено, что а-2-макроглобулин и трансферин являются информативными маркерами активности воспалительного процесса в легких и бронхах у детей и объективно отражают эффективность лечения.

Доказано, что повышенное образование ФНО-а вызывает апоптоз кардиомиоцитов, что играет роль в патогенезе сердечной недостаточности у детей с дилатационной кардиомиопатией.

Выявлена взаимосвязь толщины задней стенки левого желудочка со средними показателями артериального давления; установлено, что показатели суточного профиля АД являются наиболее чувствительными диагностическими признаками артериальной гипертензии.

Показано, что на разных этапах клеточной дифференцировки расстройства кроветворения могут быть вызваны вирусами семейства *Herpesviridae*, парвовирусом В-19, вирусами гепатитов А, В, С, Д, что клинически проявляется развитием парциальных и сочетанных цитопений (Научный центр здоровья детей РАМН).

## АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

В рамках проекта «Разработка медицинских стандартов и технологий лечения женского бесплодия и невынашивания беременности» изучен относительный риск формирования пороков развития плода при различных фенотипах НЛА у супругов: обнаружена высокая частота нарушений репродуктивной функции при идентичности ряда антигенов НЛА; выявлены антигены системы НЛА, наличие которых в фенотипе родителей ассоциируется с высоким риском появления пороков ЦНС у плода. Установлена высокая частота общности фенотипов НЛА у супругов с нарушением репродукции и у супругов, у которых во время беременности обнаружили плоды с врожденными пороками развития (ВПР). Показана высокая информативность при определении антигенов системы НЛА и 17-оксипрогестерона для проспективной пренатальной диагностики недостаточности фермента 21-гидроксилазы.

Определены диагностические критерии синдрома поликистозных яичников (СПКЯ), включающие клинические и лабораторные параметры, новые УЗ маркеры. Определено понятие «овариального резерва», что явилось основой для прогнозирования ответа яичников на введение индукторов овуляции и позволило уменьшить частоту развития синдрома гиперстимуляции яичников и повысить эффективность лечения бесплодия у больных с СПКЯ.

Разработаны критерии кломифенрезистентности при лечении эндокринных форм бесплодия. Предложены схемы лечения эндокринных форм



бесплодия, базирующиеся на патогенетической характеристике формы заболевания.

Сформулирована концепция оказания медицинской помощи при острых гинекологических заболеваниях и предложен алгоритм обследования больных с подозрением на острое гинекологическое заболевание, что позволило своевременно произвести органосохраняющее лечение и успешно реализовать репродуктивную функцию у 73% женщин, планирующих беременность.

Получены и проанализированы данные, характеризующие состояние здоровья женщин и их потомства после лечения различных форм эндокринного бесплодия: гонадотропный гипогонадизм, яичниковая недостаточность, гиперпролактинемия и гипоталамо-гипофизарная дисфункция. На основании полученных результатов оптимизирована тактика обследования и лечения больных с эндокринными формами бесплодия, предложены алгоритмы рационального ведения беременности после стимуляции овуляции, охарактеризованы факторы риска развития гинекологических и экстрагенитальных заболеваний у женщин с нарушениями репродуктивной функции после успешного лечения бесплодия.

Разработаны дифференциально-диагностические таблицы врожденных и наследственных синдромов, выявленных у новорожденных детей. Определен необходимый перечень биохимических, иммунологических и цитохимических методов диагностики врожденных и наследственных болезней новорожденных. Обоснованы принципы и тактика лечения наследственных болезней обмена аминокислот, липидов, соединительной ткани в целях активной профилактики инвалидности с детства (Научный центр акушерства и гинекологии РАМН).

#### СОЗДАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ТЕРАПИИ СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

С использованием избирательных модуляторов ядерной протеинкиназы СК2, 1-алкил-4,5-ди (N-метилкарбомил) имидазолов, проведены исследования ключевых компонентов СК2-индуцированного сигнального каскада (связывание, регуляция активности СК2, автофосфорилирование СК2, фосфорилирование транскрипционного фактора HMG14, регуляция транскрипции и синаптической пластичности) в норме и на моделях долговременной адаптации к гипоксии, естественного старения, алкогольного синдрома плода, болезни Альцгеймера у крыс. Получены данные, свидетельствующие о высоком ноотропном потенциале модуляторов протеинкиназы СК2, 1-алкил-4,5 (N-метилкарбомил) имидазолов. Показана возможность коррекции нарушений памяти у старых животных и животных с осложненным эмбриогенезом (НИИ экспериментальной медицины РАМН).

Проведены исследования в области создания препаратов для селективной регуляции мембрано-рецепторных процессов. Показано, что Ладастен является эффективным и безопасным средством при терапии психогенных астенических нарушений.

Установлены мембранотропные свойства Афобозола, его защитное действие на культуре нейронов. Выявлено, что Афобазол препятствует снижению уровня нейротрофического фактора BDNF при стрессе.

Доказана выраженная нейропротекторная активность Гимантана на модели паркинсонического синдрома, вызванного интранигральным введением нейротоксина МФП+. Разработана инъекционная форма Гимантана.

Показана нейропротекторная активность Ноопепта на модели геморрагического инсульта, существенное ослабление нарушения неврологического статуса. Введение Ноопепта при моделировании ишемического инсульта достоверно сокращает очаг поражения. Разработана инъекционная форма Ноопепта.

Представлены результаты, свидетельствующие о наличии в спектре активности нового дипептидного нейрелептика холиноPOSITивного действия.

Проведен сравнительный анализ фармакокинетических особенностей Пирролидона в плазме крови и мозге крыс при его моноведении и в составе композиции. Выявлена способность лекарственной композиции существенно усиливать кровообращение в системе средней мозговой артерии, что выгодно отличается от Нимодипина.

Разработан проект ФСП на субстанцию противомигренового средства Тропоксин.

Изучены фармакологические свойства антиаритмика Кардиоциклида в виде гидрохлорида в ампулах по 2 мл 5%-ного раствора, исследована апирогенность Кардиоциклида гидрохлорида в опытах на кроликах.

Установлена выраженная антиаритмическая и противofiбрилляторная активность новой лекарственной формы Бразизола – 3%-ный раствор в ампулах по 2 мл (НИИ фармакологии РАМН).

Проведены исследования по созданию антикоагулянта прямого действия нового поколения. Установлена высокая антитромботическая активность низкомолекулярного гепарина, полученного с помощью различных биотехнологических методов.

Разработан проект лабораторного регламента получения концентрата антитромбина III из плазмы донорской крови, дефицитной по факторам свертывания VIII и IX, являющейся побочным продуктом технологического процесса получения антигемофильных лекарственных препаратов Агемфил А и Агемфил В (Гематологический научный центр РАМН).

Разработана лекарственная форма противоопухолевого препарата Амиронины из новой субстанции и проведены ее химико-фармацевтические и биологические исследования по программе «Мини-токси».

Проведены наработки субстанции новой лекарственной формы препарата класса нитрозалкил-мочевин (НАМ), разработан проект ФСП на субстанцию. Начата разработка липосомальной лекарственной формы БХНМ. Нарботана лекарственная форма; проведены технологические и химико-фармацевтические исследования (Российский онкологический научный центр РАМН).

Проведены доклинические исследования хронической токсичности и мутагенных свойств препарата С-1733,





подтвердившие его безопасность и возможность проведения дальнейшего изучения его токсикологических свойств. Показано, что основной механизм действия С-1733 связан с индукцией интерферона. Впервые выявлена способность препарата регулировать продукцию не только интерферонов, но и других цитокинов при различных формах инфекционной патологии. Препарат обладает рядом свойств, позволяющих считать его перспективным для получения лекарственной формы (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН).

#### КОМПЬЮТЕРНОЕ КОНСТРУИРОВАНИЕ ЛЕКАРСТВ И ПОИСК БАЗОВЫХ СТРУКТУР ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Выполнен анализ возможных белок-белковых взаимодействий и составлен список наиболее перспективных мишеней для создания новых противомикробных агентов, активных в отношении микобактерий.

Продолжена дальнейшая разработка и отладка программного комплекса GeneMesh 2.0 для поиска мишеней для создания новых противомикробных средств и предсказания белок-белковых взаимодействий.

Выполнено контрольное тестирование программы GeneMesh для выявления наиболее перспективных мишеней действия противомикробных

препаратов путем анализа геномной, протеомной и сопутствующей информации.

Выполнены работы по пополнению и поддержке базы данных для поиска мишеней для создания противомикробных средств на основе сравнительного анализа геномных данных.

Продолжена разработка новой версии программы DockSearch (НИИ биомедицинской химии РАМН).

#### НАУЧНОЕ ПРИБОРОСТРОЕНИЕ

Создан опытный образец медицинской диагностической аппаратуры нового поколения – кинетический реометр, предназначенный для измерения нестационарной кинетики фильтрования суспензий клеток и биологических жидкостей, получения информации о виде распределений по реологическим характеристикам нормальных клеток крови и клеток крови больных с разнообразными видами патологии (Гематологический научный центр РАМН).

Разработана технология проведения иммуноферментного анализа в микрообъеме, разработаны и созданы белковые микрочипы для диагностики и определения персистирующих (длительно текущих) инфекций человека: хламидий, микоплазм, клостридий и уреоплазмы (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Гематологический научный центр РАМН).

РУКОВОДИТЕЛЬ ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ  
ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА,  
ДОКТОР МЕДИЦИНСКИХ НАУК, ПРОФЕССОР, АКАДЕМИК РАМН  
Г.Г. Онищенко