

монтировали на стекла, предварительно обработанные в течение 5 мин 0.01% раствором поли-лизина (Poly-L-lysine solution 0.01%, Sigma USA) и высушенные в термостате при 56 С в течение часа. После стандартной процедуры депарафинирования в толуоле и спиртах, срезы для восстановления антигенной структуры, подвергали термической обработке в специальном растворе (Target Retrieval Solution, DAKO, Denmark) на водяной бане при температуре 95-97 градусов по Цельсию в течение 30 минут. Затем стёкла охлаждали до комнатной температуры, промывали в течение 7 минут 3% раствором перекиси водорода для подавления эндогенной пероксидазы, после чего промывали в 3-х сменах 0,02 М фосфатного буфера (pH 7,5) по 6 минут в каждой. После этого наносили первичные антитела к белку Ki-67 (DAKO, Denmark), инкубировали в течение 40 минут во влажной камере в термостате при 37 С, промывали в 3-х сменах 0,02 М фосфатного буфера pH 7,5 по 7 мин в каждой. Наносили стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена (Streptavidin Peroxidase Conjugated, DAKO, Denmark). Интенсивность окрашивания контролировали под микроскопом (инкубировали с ДАБом приблизительно в течение 5-6 минут). После появления коричневого окрашивания ядер срезы промывали в дистиллированной воде в течение 5 минут, докрашивали гематоксилином, заключали в бальзам. В результате обработки препаратов выявляются ядра пролиферирующих клеток, находящихся в S-периоде, когда наблюдается максимум синтеза белка гена Ki-67, коррелирующего с концентрацией ДНК. Нами получена чёткая характеристика динамики регенераторных возможностей эпидермиса кожи в области ожога, на границе ожога со здоровой тканью, в неповрежденных участках и в прижившемся аутодермотрансплантате. Также были исследованы физиологические и репаративные возможности регенераторного потенциала кератиноцитов слизистой оболочки полости рта в зоне протезного ложа десны у относительно здоровых и больных сахарным диабетом пациентов стоматологических стационаров.

Установлено, что регенераторный потенциал эпителиоцитов слизистой оболочки дыхательного тракта зависит от возраста и наличия патологии, а также от острого или хронического течения заболеваний.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Борщёва Н.И., Пуликов А.С. Коррелятивные связи между морфологическими структурами слизистой оболочки желудка и показателями иммунного статуса при различных формах хронического гастрита // Морфология.-2006.-№4.-с.27.
2. Вылежанина Т.А., Урбанович В.И. Метаболические реакции эпителиоцитов десневых

сосочков при патологии периодонта // Морфология.-2006.-№4.-с.35.

3. Зиновьев А.С., Кононов А.В. Хронические воспаления слизистых оболочек: интеграция иммунитета и регенерация //Арх. Патол.-1997.-№9.-с.8-24.

4. Орехова Л.Ю., Оганян Э.С., М.Я. Левин, Калинин В.И. Характеристика Т- и В-систем иммунитета больных с воспалительными заболеваниями пародонта, страдающих сахарным диабетом // Пародонтология.-1999.-№3(19).-с.24-26.

5. Зинкернагель Р. Иммунная защита- иммунопатология - аутоиммунитет //Аллергология и иммунология.-2006.-т.7.-№3.-с.241-242.

Работа представлена на II научную международную конференцию «Фундаментальные исследования в биологии и медицине», Черногория (Бечичи), 8-15 июня 2007 г. Поступила в редакцию 12.05.2007.

#### ОЦЕНКА СПЕКТРА МУТАЦИЙ ГЕНОВ BRCA 1/2 У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ромашкина М.В., Трофимов В.А., Макагон И.П.\*  
*Мордовский госуниверситет, биологический факультет, кафедра генетики*  
 \* *Республиканский онкологический диспансер Саранск, Мордовия (Россия)*

В многочисленных исследованиях показано, что молекулярные варианты генов BRCA 1 и BRCA2 ассоциированы с развитием рака молочной железы и яичников, простаты, колоректального рака и имеют более высокую степень злокачественности. Наиболее часто встречаемые мутации в гене BRCA 1: 5382insC, 185delAG, 4154delA; в гене BRCA2: 6174delT.

Распространенной мутацией гена BRCA 1 в странах Восточной Европы является мутация 5382insC в 20-м экзоне. Частота этой мутации, по данным различных авторов, колеблется от 10 до 63%. В работе Gauthier и соавторов (1997) по изучению спектра мутации гена BRCA 1 в российских семьях,отягощенных раком яичников и/или раком молочной железы показано, что 47% всех мутаций приходится на долю мутации 5382insC. В исследовании, выполненном в Российском онкологическом научном центре им. Н.Н. Блохина, в 78,6% случаев наследственный рак молочной железы был ассоциирован с мутацией 5382insC в 20-м экзоне гена BRCA 1. У евреев ашкенази широко распространены мутации гена BRCA 1 - 185del AG, 5382insC; гена BRCA 2 - 6174delTT, которые отвечают за 60% случаев рака яичников и 30% рака молочной железы, возникших у женщин до 40-летнего возраста.

Молекулярно-генетический анализ генов BRCA 1/2 проведен на 21 образцах ДНК, полученных из периферической венозной крови больных Республиканского онкологического диспан-

сера в возрасте от 25 до 60 лет. ДНК выделяли фенольным методом с использованием протеиназы К. С помощью специфических праймеров, методом ПЦР выявляли мутации в гене BRCA1 5382insC в 20 экзоне, 185delAG во 2 экзоне, 4154delA в 11 экзоне и 6174delT в 11 экзоне гена BRCA2. После проведения ПЦР пробы инкубировали для образования гетеродуплексов ДНК. Для определения наличия мутаций проводили электрофорез в 6% полиакриламидном геле (соотношение бисакриламида-акриламид 1:39) с использованием трис-боратного буфера. ДНК-фрагменты выявляли азотнокислым серебром.

В наших исследованиях при изучении выборки семейного рака молочной железы и яичников у пробандов наличие мутаций в гене BRCA1 было выявлено в 76% случаев. Среди выявленных мутаций основную долю заняла мутация 4154delA (56%). Доля мутации 185delAG составила 31% и 5382insC – 13%. Мутация 6174delT BRCA2 в исследуемой выборке больных не выявлена.

При молекулярно-генетическом исследовании генов BRCA 1/2, было обнаружено, что 4 человека имели мутации в двух локусах гена BRCA1.

Таким образом, согласно полученным нами данным, в исследуемой выборке больных самой распространённой мутацией является 4154delA. По данным научной литературы в популяциях стран центральной Европы и г. Москвы самой распространённой мутацией является 5382insC. Поэтому спектр изученных нами мутаций характеризует некоторые особенности генотипов исследованных больных данной популяции.

Работа представлена на международную научную конференцию «Диагностика, терапия, профилактика социально значимых заболеваний человека», 6-13 августа 2007 г., Турция (Кемер). Поступила в редакцию 25.07.2007.

### **ИННОВАЦИОННЫЙ МЕТОД В ДИАБЕТОЛОГИИ**

Ходыкина Л.А.

*ГОУ ВПО Воронежская государственная  
медицинская академия им. Н.Н. Бурденко*

*Росздрава*

*Воронеж, Россия*

В 1995г. в г. Воронеже на базе Городского эндокринологического центра (ГЭЦ) мощностью 90 коек (МУЗ ГКБ №10) было создано отделение «Диабетическая стопа» на 15 коек, в штат которого введены хирург-подиатр и перевязочная м/с. Бригада из эндокринолога-подиатра, хирурга-подиатра и подиатрической м/с обучена специфике службы на центральной базе г. Москвы. Возглавлял работу подиатрической бригады лечащий врач эндокринолог-подиатр, который

осуществлял контроль успешного заживления воспалительных и некротических процессов у больных СД (сахарный диабет) с СДС (синдром диабетической стопы) путём достижения компенсации углеводного обмена в условиях ГЭЦ. Хирург-подиатр проводил скрининг у больных СД, находящихся в ГЭЦ и амбулаторным больным на СДС, решал вопрос о необходимости госпитализации больного в отделение, назначал консервативное лечение больным, осуществлял перевязки, оперативное лечение. При необходимости «высоких» ампутаций больные переводились в хирургическое отделение с проведением оперативного лечения хирургом-подиатром и его непосредственным участием в долечивании больного. ГЭЦ был оснащён соответствующим оборудованием, перевязочной, кабинетом скрининговой диагностики, обеспечены условия для иммобилизации конечностей больных путём реконструкции палат. С больными проводились занятия по «Школе больных СД». При необходимости больные направлялись на протезирование.

**Результаты** работы отделения «Диабетическая стопа» с 1996 по 2004 г. Пролечено 1060 больных. Из них с СД 1-го типа 159 человек (15%), с СД 2-го типа 901 чел. (85%). Нейроишемическая форма (НИСДС) составила 63,2% (670 чел.), нейропатическая форма (НСДС)-36,8% (390 чел.). Большинство случаев СДС встречалось у больных в возрасте 60-70 лет, с длительностью заболевания более 10 лет; у женщин примерно в 1,5 раза чаще, чем у мужчин, с преимущественным развитием НИСДС у больных СД 2 типа. В группе больных СД 1 типа преобладал НСДС. В терапии СДС использовались следующие принципы и методы лечения: тщательная компенсация углеводного обмена, оптимизация метаболического контроля, антибактериальная терапия в соответствии с результатами бактериологического исследования, медикаментозная терапия полинейро- и ангиопатии нижних конечностей, ГБО, УФО крови, физиотерапия, хирургическая обработка язвенно-некротических дефектов, обработка линейно полиризованным светом, удаление гиперкератозов стоп. Выписано с улучшением 822 чел. (77,5%), с заживлением – 154 чел. (14,5%), без динамики (при отказе от дальнейшего лечения) – 22 чел. (7,15%). Умерло 9 чел. (0,85%) от сердечно-сосудистой патологии (5 ОИМ, 4 ОНМК). Малые оперативные вмешательства (иссечение трофических язв с секвестрэктомией, некрэктомия, вскрытие флегмон, ампутация пальцев стоп, резекция стоп) были проведены у 22,6% пациентов (240 чел.). На «высокие ампутации» направлено 59 чел., что составило 5% от всех пролеченных больных.

Данный инновационный метод выгодно отличается от организации подобного отделения на базе хирургического, где эндокринолог является консультантом. Внедрение инновационной деятельности в работу ГЭЦ позволило за 9 лет