

На правах рукописи

Барт Илья Иванович

**ВОВЛЕЧЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ НЕКОТОРЫХ
СТРУКТУРНЫХ ГЕНОВ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ
АКТИВНОСТИ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ В ФОРМИРОВАНИЕ
ВЕНТРАЛЬНЫХ ГРЫЖ У ЧЕЛОВЕКА**

03.02.07 - генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Белгород - 2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Научный руководитель:

Иванов Владимир Петрович

заслуженный деятель науки РФ, академик РАЕН, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Асанов Алий Юрьевич

доктор медицинских наук, профессор ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России, заведующий кафедрой медицинской генетики

Должиков Александр Анатольевич

доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки РФ, заведующий кафедрой анатомии и гистологии человека

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

Защита диссертации состоится «__» _____ 2013 года в «__» часов на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 212.015.13 при ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», по адресу: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки РФ.

Автореферат разослан _____ 2013 года

Ученый секретарь совета по защите диссертаций
на соискание ученой степени кандидата наук,
ученой степени доктора наук, д.б.н.

В.И. Кочкаров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Послеоперационная вентральная грыжа является самым распространенным послеоперационным осложнением абдоминальной хирургии, достигая 20% уровня после срединной лапаротомии. Рядом рандомизированных исследований показано, что после аутопластики грыжевых выпячиваний около 50% послеоперационных грыж рецидивируют. В связи с этим пациенты вынуждены переносить очередное оперативное вмешательство, что сопровождается дополнительными рисками (Hoer J et al., 2002).

Одна из основных проблем возникновения вентральных грыж, в частности послеоперационного грыжеобразования, заключается в отсутствии достоверных прогностических признаков появления данного заболевания. В связи с этим нас заинтересовали более глубокие механизмы патогенеза, механизмы, лежащие на генном уровне.

Ранее некоторые хирурги по ходу выполнения своих исследований, ставили перед собой одну из целей – изучение экспрессии ряда генов, и получали положительные результаты. Так, например, U. Klinge, V. Schumpelick (2001) нашли повышение количества коллагена III типа с одновременным снижением соотношения коллаген I / коллаген III за счет повышения последнего у больных с послеоперационными и, особенно, рецидивными грыжами по сравнению с контролем более чем в два раза. Из наших соотечественников данной проблемой занимался профессор А.А. Гостевской (2008), он описал достоверное увеличение экспрессии гена коллагена III и соотношения коллагенов III/I у больных с клиническими признаками неспецифической дисплазии соединительной ткани выявлено по сравнению с контролем. Кроме того, выявлено достоверное увеличение продукции MMP I у больных с послеоперационными вентральными грыжами (Гостевской А.А., 2008).

При этом в научной литературе отсутствуют комплексные исследования генетических аспектов послеоперационного грыжеобразования в частности и всех вентральных грыж в целом.

Цель исследования

Изучить функциональную активность рибосомных генов и полиморфизм некоторых структурных генов и их вовлеченность в формирование вентральных грыж у человека.

Задачи исследования

1. Изучить соотношение коллагенов I и III типов в коже и апоневрозе у людей с вентральными грыжами и у лиц контрольной группы.
2. Изучить функциональную активность рибосомных генов в группе людей с вентральными грыжами и у лиц контрольной группы.

3. Изучить полиморфизм генов матриксных металлопротеиназ и генов цитокинового ряда в группе людей с вентральными грыжами и у лиц контрольной группы.

4. Изучить комплексное влияние и взаимовлияние полиморфизмов исследуемых генов и функциональной активности рибосомных генов на формирование вентральных грыж.

5. На базе полученных данных разработать метод прогнозирования вентральных грыж и рекомендации по профилактике вентральных грыж с использованием молекулярно-генетических и цитогенетических подходов.

Новизна исследования

Впервые осуществлен комплексный подход, заключающийся в анализе клинических, морфологических, цитогенетических и молекулярно-генетических факторов такого значимого, распространенного и опасного осложнения, как послеоперационная вентральная грыжа в частности и все вентральные грыжи в общем. Установлено, что отношение типов коллагена I к коллагену III у больных с вентральными грыжами было в 2 раза меньше, чем у лиц без вентральных грыж. Установлены взаимосвязи показателей функциональной активности рибосомных с риском развития заболевания, у больных с вентральными грыжами была достоверно снижена функциональная активность рибосомных генов за счет выключения из работы рибосомных цистронов хромосом группы G. Помимо этого, реализованный в настоящей работе комплексный подход, включающий стандартные методы генетической эпидемиологии, статистической генетики и компьютерного моделирования, позволил установить 3 генетических маркера предрасположенности к грыжеобразованию: *MMP3* -1171 5A->6A, *TGFBI* C-509T, *EGF* A+61G. Данные нашего исследования наглядно демонстрируют наличие индивидуальных генетических особенностей, формирующих норму реакции организма, реализующуюся в условиях воздействия стрессорного фактора в отношении грыжеобразования.

Практическая значимость работы

Полученные в ходе исследования данные о взаимосвязи показателей функциональной активности рибосомных генов, результаты типирования полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ и цитокинов открывают перспективы для превентивной диагностики послеоперационных осложнений. С учетом того, что ранее не было комплексных генетических исследований причин возникновения вентральных грыж, данное исследование открывает перспективы для дальнейшего более углубленного и более точного исследования генетических детерминант развития вышеописанного заболевания.

Апробация работы

Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на: 75-й итоговой Всероссийской конференции студентов и молодых учёных с международным участием (Курск, 2010), 76-й итоговой Всероссийской конференции студентов и молодых учёных с международным участием (Курск, 2011), IV международном медицинском конгрессе (Санкт-Петербург, 2011), пятидесятой юбилейной международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск, 2012), VII Международной научной конференции молодых ученых-медиков (Курск, 2013), итоговой научной конференции сотрудников КГМУ, Центрально-Черноземного научного центра РАМН и отделения РАЕН, посвященной 78-летию Курского государственного медицинского университета (Курск, 2013).

Личный вклад автора

Автором лично определены цели и задачи исследования, разработаны методические подходы для их решения, проведено клиническое обследование всех больных вентральными грыжами. Автор проводил контроль результатов морфологического исследования, лично выполнял цитогенетическое и молекулярно-генетическое исследования, проводил обработку, анализ и обобщение полученных результатов, апробацию результатов исследования, подготовку основных публикаций по выполненной работе, написание и оформление рукописи.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 4 в журналах из перечня ВАК Минобрнауки РФ.

Положения, выносимые на защиту

1. У больных с вентральными грыжами определяется достоверное снижение соотношения коллагенов I/III типа в коже и апоневрозе в сравнении с пациентами контрольной группы.
2. При всех клинических формах вентральных грыж наблюдается снижение функциональной активности рибосомных генов в сравнении с контролем. Доказано, что снижение происходит за счет выключения из работы рибосомных цистронов хромосом группы G, что может служить прогностическим признаком для послеоперационного грыжеобразования.
3. Полиморфизмы генов *MMP3* -1171 5A->6A, *TGFBI* C-509T, *EGF* A+61G достоверно ассоциированы с развитием вентральных грыж.
4. Разработаны метод прогнозирования и практические рекомендации для превентивной диагностики послеоперационного грыжеобразования.

Внедрение в практику

Результаты исследования внедрены в работу Курской областной клинической больницы, лаборатории медицинской генетики кафедры биологии, медицинской генетики и экологии Курского государственного медицинского университета и лаборатории «Генетика» Курского государственного университета, а также в учебный процесс на кафедре хирургических болезней № 1.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 4 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка. Работа изложена на 146 страницах машинописного текста, содержит 41 таблицу и 14 рисунков. Библиографический список используемой литературы включает 187 источников, из которых 100 зарубежные.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика выборки

Материалом для исследования послужила выборка из 313 пациентов.

Группа больных с вентральными грыжами включала 156 человек. Из них 122 женщины и 34 мужчины. Средний возраст больных составил $54,4 \pm 10,9$ года. Преобладающей возрастной группой были люди от 51 до 60 лет (59 человек). Вторыми по величине были возрастные группы 41-50 лет и 61-70 лет, по 21,2% и 23,1% соответственно. 9% и 7,8% составили больные в возрасте 31-40 лет и 71 год и более лет соответственно. Самой наименьшей возрастной группой была группа больных моложе 30 лет, в нее вошли всего 2 человека (1,2%). Все они представители русской национальности, уроженцы Курской области, находились на лечении в клинике хирургических болезней № 1 ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России на базе БМУ «КОКБ» с 2009 по 2012 гг. Забор материала проводился на месте.

Контрольная группа составила 157 человек. В нее вошли люди без грыжевой болезни, без тяжелых соматических патологий, таких как онкологические заболевания, сахарный диабет, тяжелые формы ишемической болезни сердца (в том числе инфаркты миокарда), артериальной гипертензии и др. Из них 125 женщин и 32 мужчины. Средний возраст их составил $51,2 \pm 12,6$ года. Преобладающей возрастной группой, так же как и в экспериментальной группе, были лица 51-60 лет (49 человек). Контрольная группа сформирована из 82 человек, находившихся на стационарном лечении в отделении общей хирургии, и 74 человек, ДНК которых было взято из биобанка кафедры биологии, медицинской генетики и экологии ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России.

Клиническая характеристика

Формирование выборки осуществлялось сплошным методом, по мере поступления больных в отделение общей хирургии КОКБ на протяжении 2009-2012 гг. В экспериментальную группу включались пациенты с вентральными грыжами, из которых 109 (70%) человек имели послеоперационные вентральные грыжи, в меньшей степени пупочные грыжи – 34 (21,6%) человека, и самая немногочисленная группа – это больные, находившиеся на лечении по поводу грыжи белой линии живота – 13 (8,4% человек). Все вентральные грыжи были разделены по размеру на малые, средние и большие (эта группа объединила в себе и большие, и гигантские). Из них больших и гигантских – 40%, средних - 38% и малых – 22%.

В связи с подавляющим большинством послеоперационных грыж в структуре заболеваемости вентральными грыжами, они и представляли для нас наибольший интерес. Больные с пупочными грыжами и грыжами белой линии живота были объединены в одну немногочисленную группу – «прочие грыжи».

Методы исследования

Клинико-anamнестический метод

Всем пациентам проводилось стандартное клиническое обследование для верификации диагноза «вентральная грыжа». Экспериментальную группу составили пациенты с диагнозами послеоперационная вентральная грыжа, грыжа белой линии живота и пупочная грыжа.

У всех обследованных пациентов производился забор венозной крови.

Молекулярно-генетический и цитогенетический анализ проводился на базах научно-исследовательской лаборатории «Генетика» Курского государственного университета и лаборатории медицинской генетики кафедры биологии, медицинской генетики и экологии Курского государственного медицинского университета.

Морфогистологический метод

Всем больным интраоперационно производилась биопсия кожи из области операционного доступа: после рассечения кожи, ее край фиксировали хирургическим пинцетом. Скальпелем иссекали один кожный фрагмент размером 4,0 X 4,0 мм, глубиной на всю толщу кожи (без подкожной клетчатки). Биопсию апоневроза выполняли следующим образом: после рассечения кожи, подкожно-жировой клетчатки, выделяли область грыжевого мешка. После его иссечения от края апоневроза брали фрагмент размером 4,0 X 4,0 мм. Полученные препараты помещали в приготовленный заранее стеклянный контейнер с 10% раствором формалина, полностью покрывающим препарат, и закрывали герметичной резиновой пробкой. После 24-часовой экспозиции в растворе формалина, биоптат заключали в парафиновый блок по схеме Меркулова. Полученный препарат нарезали на микротоме (сечение 5 μ m), фиксировали на предметном стекле и окрашивали красителем Sirius Red (сириус красный). После чего препарат исследовали в обычном и поляризованном свете с использованием поляризационного микроскопа Altami Polar 2, увеличение x100, x250 и x400, x630, а также водной иммерсии.

Применялась вставка в окуляр, ограничивающая поле зрения. Фотосъемка микропрепаратов осуществлялась с использованием цифровой окулярной камеры Altami 3 Mpx, выполнялась съемка 10 полей зрения при различном увеличении.

Оценка соотношения типов коллагена (ТК) основывалась на отличиях в цветовой гамме, характерной для каждого типа и переходных форм: I тип коллагена – красный, III тип коллагена – зеленый. Определение соотношения коллагена I и III типов осуществлялось с использованием программного комплекса Altami Studio 3.0 и ImageJ 1,47a, на основании изучения цветовой гистограммы выбранного участка в каждом поле зрения. Выделение цветковых диапазонов проводилось на основе гистограммы каждого из цветов. Абсолютные значения красного и зеленого цветов спектра, получаемые посредством визуально-программных комплексов для каждого поля зрения, переводились в относительные с учетом стандартного отклонения. В последующем рассчитывалась величина соотношения ТК.

Цитогенетический метод

Получение цитогенетических препаратов проводили с помощью микрометода из лимфоцитов периферической крови человека (Захаров А.Ф., 1982). Обработка культур лимфоцитов и приготовление из них препаратов метафазных хромосом осуществлялись с применением ряда последовательных методических процедур: колхицинизации, гипотонизации культур, фиксации клеток смесью этилового спирта с уксусной кислотой, нанесения клеточной взвеси на предметные стекла (Захаров А.Ф., 1982).

Для выявления районов ядрышковых организаторов использовался метод дифференциальной окраски хромосом нитратом серебра, предложенный Howell и Black, с некоторыми модификациями (Сабанаева Е.В., 1989; Howell W.M., 1975; Howell W.M., 1977). Для каждого случая средний показатель суммарной активности 10 ЯОР рассчитывался без кариотипирования хромосом в 20 клетках. Количество активных РГ лимфоцитов периферической крови оценивалось визуально по пятибалльной шкале. Для анализа отбирались метафазные пластинки с завершенной Ag-окраской (Стабровская Н.В., 2010).

Молекулярно-генетические методы

У обследуемых проводился забор крови из кубитальной вены в пластиковые пробирки с 0,5 М раствором ЭДТА (pH=7,8) в количестве 5 мл. Потом кровь замораживали и хранили при -20°C .

Выделение ДНК производилось стандартным методом фенол-хлороформной экстракции из замороженной венозной крови (Маниатис Т., Фрич Э., 1984). В рамках настоящего исследования было генотипировано 6 полиморфных вариантов 6 генов, четыре из которых являются генами цитокинового ряда: *TGFBI* C-509T, *ICAM-1* Lys469Glu, *TNF* -238 G>A, *EGF* A+61G и два гена коллагеназ: *MMP3* -1171 5A->6A, *MMP9* C-1562T.

Аmplификацию фрагментов ДНК проводили в 12 мкл реакционной смеси, содержащей 0,5 мкл образца геномной ДНК. Рестрикция амплифицированных фрагментов (5-10 мкл амплификата) производилась с помощью эндонуклеаз. Реакция протекала в присутствии буферов и при

температурных условиях, рекомендованных производителями эндонуклеаз – ОАО «Сибэнзим». Продукты рестрикции фракционировались с помощью электрофореза в агарозных гелях различной концентрации и окрашивались в этидиумбромиде. Образовавшиеся в результате структуры визуализировались в проходящем УФ-свете на приборе GDS-8000 (“UVP”, США) и программного аналитического пакета LabWorks™ V 4.5 (США).

Статистические методы

Статистический анализ полученных данных проводился на ПК с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0 фирмы StatSoft Inc. (США) и MS Excel.

Обработка цитогенетических данных осуществлялась по стандартным методикам вариационной статистики (Лакин Г.Ф., 1990; Реброва О.Ю.; 2006, Урбах В.Ю., 1975).

Прежде всего был проведен анализ характера распределения признаков в рассматриваемой выборке с помощью критерия Колмогорова-Смирнова и по Шапиро-Уилку. Отклонения считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Так как распределение количественных признаков в большинстве случаев не отклонялось от нормального, то при их описании использовались методы параметрической статистики: расчет среднего значения, среднеквадратичного отклонения, 95% доверительного интервала для среднего значения, минимального и максимального значения признака, медианы, верхнего и нижнего квартиля (Реброва О.Ю., 2006). При обработке качественных показателей вычислялись: размер выборочной доли в процентах и ошибка выборочной доли. Для проверки достоверности различий между совокупностями использовался непараметрический критерий Манна-Уитни (Реброва О.Ю., 2006). Для выявления связей между количественными, а также порядковыми качественными признаками использовался корреляционный анализ, по методу Спирмена. Для анализа влияния рассматриваемых полиморфизмов на уровень показателей ФАРГ, использовали однофакторный дисперсионный анализ.

Анализ влияния парных сочетаний рассматриваемых полиморфизмов на показатели уровня ФАРГ проводили с помощью многофакторного анализа.

Для оценки соответствия распределений генотипов и для сравнения частот аллелей и генотипов в выборках больных и здоровых людей использовали критерий Хи-квадрат Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность. Ожидаемую гетерозиготность рассчитывали по N_{ei} , а относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой (D) по формуле:

$D = (N_0 - N_e) / N_e$, где N_0 и N_e - наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность соответственно.

Частоты гаплотипов рассчитывали с помощью программы EH (Rockefeller University, США). Гаметические корреляции и величины неравновесия по сцеплению между парами ДНК-маркеров проводилась по W.G. Hill (Hill W.G., 1974). Гаметические корреляции рассчитывались методом максимального правдоподобия исходя из частот генотипов в таблицах сопряжения 3×3 при

условии кодоминирования между оцениваемыми полиморфизмами отдельного гена. Для оценки величины неравновесия по сцеплению между парами ДНК-маркеров использовали нестандартизированный коэффициент D – показатель, отражающий различия между наблюдаемыми и ожидаемыми отношениями гаплотипов специфических аллелей двух локусов при нулевой гипотезе о независимости их наследования (Robbins R.B., 1998; Lewontin R.C., 1988). Уровень статистической значимости для D рассчитывали с помощью критерия Хи-квадрат для таблицы сопряженности 2×2 при H₀ независимости наследования аллелей.

Для сравнения частот аллелей и генотипов между группами больных и здоровых людей также использовали критерий Хи-квадрат с поправкой Йетса на непрерывность (Пузырев В.П., Фрейдин М.Б. и др., 2009). Об ассоциации аллелей или генотипов с предрасположенностью к вентральным грыжам судили по величине отношения шансов (OR) (Pearce N., 1993; Реброва О.Ю., 2003) – показателю, отражающему, во сколько раз вероятность оказаться в группе «случай» (больные) отличается от вероятности оказаться в группе «контроль» (здоровые) для носителя изучаемого генотипа: $OR = (A/B)/(C/D)$, где A и B – количество больных, имеющих и не имеющих вариантный аллель или генотип соответственно; D и C – количество человек в контрольной группе, имеющих и не имеющих вариантный аллель или генотип соответственно. Если OR=1 – говорили об отсутствии ассоциации; OR>1 – наличие положительной ассоциации ДНК-маркера «фактор риска» и болезни; OR<1 – отрицательные ассоциации ДНК-маркера «фактор устойчивости» с заболеванием.

Для анализа влияния парных сочетаний генотипов на показатели комплекса ФАРГ был использован двухфакторный дисперсионный анализ.

Во всех случаях уровень статистической значимости принимали за 95% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Морфологическое исследование образцов кожи и апоневроза

В приведенной ниже таблице 1 представлены результаты морфологического исследования кожи у пациентов с вентральными грыжами и пациентов контрольной группы - без грыжевой болезни. Также были составлены пропорции соотношения коллагена I типа к коллагену III типа.

Таблица 1

Характеристика коллагена I и III типа в коже у больных исследуемой и контрольной групп

Группа	Коллаген I типа	Коллаген III типа	Соотношение коллагена I и III типа
Больные с грыжами N= 46	51,48±1,83*	48,52±1,83*	1,06±0,1
Контрольная группа N= 49	69,07±2,66*	30,93±2,66*	2,26±0,29

Примечание. *- $p < 0,05$

При исследовании гистологических препаратов кожи у больных 1 группы (исследуемой) было установлено, что среднее содержание коллагена I и III типа составляет $51,48 \pm 1,83\%$ и $48,52 \pm 1,83\%$ соответственно.

Были изучены гистологические препараты образцов апоневроза у больных с вентральными грыжами и у лиц контрольной группы. Аналогично, как и в исследовании образцов кожи, были составлены коэффициенты соотношения типов коллагена I/III (табл.2).

Таблица 2

Характеристика коллагена I и III типа в апоневрозе у больных исследуемой и контрольной групп

Группа	Коллаген I типа	Коллаген III типа	Соотношение коллагена I и III типа
Больные с грыжами N= 46	$52,35 \pm 2,97^*$	$47,65 \pm 2,97^*$	$1,11 \pm 0,15$
Контрольная группа N= 49	$69,11 \pm 2,68^*$	$30,89 \pm 2,68^*$	$2,27 \pm 0,3$

Примечание. *- $p < 0,05$

Таким образом, у больных с вентральными грыжами отмечается достоверное снижение соотношения типов коллагена как в препарате кожи, так и апоневроза в сравнении с больными без грыж.

При сравнительном анализе полученных результатов можно отметить, что у больных исследуемой и контрольной групп между сериями (сравнение результатов кожи и апоневроза в одной группе) достоверных отличий не выявлено. В связи с чем была определена закономерность соотношения коллагена в коже и апоневрозе. Таким образом, уровень соотношения типов коллагена в коже и апоневрозе аналогичен у больных одной группы.

Исследуя соотношение типов коллагена в коже у больных без грыж и с грыжами были выявлены достоверные отличия содержания коллагена. Соотношение типов коллагена у пациентов без вентральных грыж составило 2,26, а у больных с грыжами это соотношение достоверно ниже – 1,06.

Сравнивая соотношение коллагена в апоневрозе у больных с грыжами и без них, также выявлены достоверные отличия, заключающиеся в снижении этого соотношения у больных с грыжами. Так соотношение коллагена в апоневрозе у больных без грыж составило 2,27, а у больных с грыжами – 1,12.

При анализе полученных результатов можно сделать заключение, что имеются достоверные отличия содержания коллагена как в коже, так и в апоневрозе у больных без грыж и с грыжами.

У больных с грыжами соотношение коллагена I и III типа в коже – 1,06, в апоневрозе – 1,12, что, в свою очередь, также говорит о высокой корреляционной связи и отсутствии достоверных отличий. Оценивая показатели коллагена I и III типа в контрольной и исследуемой группах отмечено, что имеются достоверные отличия. Снижение процентного содержания коллагена I и III типа является одной из причин развития послеоперационных грыж.

Функциональная активность рибосомных генов у больных с вентральными грыжами

В результате проведенного анализа распределения показателей на нормальность выявлен всего один показатель в каждой группе, который не отвечал критериям нормальности. В связи с этим сравнительный анализ проводился с использованием критерия Стьюдента. Результаты сравнительного анализа представлены в таблице 3. Как видно из таблицы, статистически достоверные различия между больными с вентральными грыжами и контрольной группой наблюдались по показателю суммарной функциональной активности рибосомных генов (RG), коэффициент Стьюдента по данному параметру достиг достаточно высоких значений ($t=3,8$). Также достаточно высокие статистически достоверные коэффициенты Стьюдента были при сравнении функциональной активности рибосомных генов хромосом группы G ($t=2,2$), по количеству всех активных рибосомных цистронов ($t=2,7$) и по количеству активных рибосомных цистронов группы G ($t=2,9$).

Таблица 3

Сравнительный анализ показателей функциональной активности рибосомных генов между группами

Показатель	Контроль		Больные		t	p	F	p
	X	$\pm S_x$	X	$\pm S_x$				
RG	19,2 усл.ед.	1,3	18,4 усл.ед.	1,0	3,8*	0,0002	1,7	0,06
RG D	11,6 усл.ед.	1,1	11,3 усл.ед.	1,1	1,4	0,2	1,1	0,8
RG G	7,6 усл.ед.	1,3	7,1 усл.ед.	1,2	2,2*	0,02	1,04	0,9
RC	8,6	0,6	8,3	0,6	2,7*	0,007	1,01	0,9
RC D	5,2	0,5	5,1	0,6	0,8	0,4	1,7	0,06
RC G	3,4	0,4	3,1	0,5	2,9*	0,003	2,2*	0,005

Примечание:

t – коэффициент Стьюдента

F – коэффициент Фишера

* статистически значимые различия ($p < 0,05$)

Сравнительный анализ полиморфизмов генов цитокинов и генов матриксных металлопротеиназ в группе больных с вентральными грыжами и в контрольной группе

Следующим этапом настоящего исследования было изучение ассоциаций аллелей и генотипов генов матриксных металлопротеиназ и цитокинов с риском развития вентральных грыж. В таблице 4 представлены частоты аллелей изучаемых полиморфных генов и результаты их сравнительного анализа между выборкой больных с вентральными грыжами и контрольной группой.

**Сравнительный анализ частот аллелей полиморфных вариантов
исследуемых генов у больных и здоровых людей**

Ген	Полиморфизм	Аллели	Частоты аллелей				Критерий различий χ^2 (p)	OR (CI95%)
			Больные		Контрольная группа			
<i>TGFBI</i>	C-509T	-509 C	288	0,427	234	0,568	7,27 (0,007)*	1,61 (1,25-2,50)
		-509 T		0,573		0,432		
<i>ICAM-1</i>	-469 A/G	469 A	286	0,674	304	0,727	1,8 (0,18)	1,29 (0,91-1,84)
		469 G		0,326		0,273		
<i>TNFA</i>	-238 G>A	-238 G	312	1,0	214	1,0	0 (1)	-
		-238 A		0		0		
<i>EGF</i>	A+61G	+61 G	272	0,570	292	0,682	7,04 (0,01)*	1,61 (1,15-2,28)
		+61 A		0,430		0,318		
<i>MMP3</i>	-1171 5A->6A	-1171 5A	256	0,609	308	0,727	8,5 (0,001)*	1,71 (1,20-2,43)
		-1171 6A		0,391		0,273		
<i>MMP9</i>	C-1562T	-1562 C	238	0,890	260	0,869	0,32 (0,57)	0,83 (0,48-1,42)
		-1562 T		0,110		0,131		

Примечание. *- $p < 0,05$

Из приведенной выше таблицы следует, что статистически значимые различия между выборками по частотам аллелей были выявлены в гене *TGFBI* (OR 1,61, CI95% 1,25-2,50). В гене *EGF* различия по частотам аллелей так же были статистически значимыми (OR 1,61, CI95% 1,15-2,28), как и по гену *MMP3* (OR 1,71, CI95% 1,20-2,43). Это может свидетельствовать о положительной ассоциации изучаемых полиморфизмов данных генов с вентральными грыжами.

Так как анализ ассоциации аллелей не дает полной картины о характере взаимосвязи рассматриваемых полиморфизмов с предрасположенностью к грыжеобразованию, было проведено исследование влияния генотипов исследуемых полиморфизмов на риск развития вентральных грыж. В таблице 5 представлены результаты сравнительного анализа частот генотипов между группой больных с вентральными грыжами и контрольной группой.

**Сравнительный анализ частот генотипов полиморфных вариантов
исследуемых генов у больных и здоровых людей**

Ген	Полиморфизм	Генотипы	Частоты генотипов		Критерий различий χ^2 (p)	OR (CI95%)		
			Больные	Контрольная группа				
<i>TGFBI</i>	C-509T	-509 CC	14 4	22,2	117	36,8	6,65 (0,01)*	0,49 (0,29-0,85)
		-509 CT		41,0		40,2	0,02 (0,9)	1,03 (0,63-1,70)
		-509 TT		36,8		23,1	5,72 (0,02)*	1,94 (1,12-2,5)
<i>ICAM1</i>	469 A/G	469 AA	14 3	49,3	152	55,2	1,03 (0,31)	0,79 (0,50-1,25)
		469 AG		36,1		35,1	0,04 (0,85)	1,05 (0,65-1,68)
		469 GG		14,6		9,7	1,64 (0,2)	1,58 (0,78-3,20)
<i>TNFA</i>	-238 G>A	-238 GG	15 6	100	157	100	-	-
		-238 GA		0		0	-	-
		-238 AA		0		0	-	-
<i>EGF</i>	A+61G	+61 GG	13 6	36,0	146	49,3	5,07 (0,02)*	0,58 (0,36-0,93)
		+61 GA		41,9		37,7	0,53 (0,47)	1,19 (0,74-1,92)
		+61 AA		22,1		13,0	4,01 (0,05)*	1,89 (1,01-3,55)
<i>MMP3</i>	-1171 5A->6A	-1171 5A5A	12 8	35,9	154	51,9	7,25 (0,01)*	0,52 (0,32-0,84)
		-1171 5A6A		46,9		39,0	7,29 (0,18)	1,38 (0,86-2,22)
		-1171 6A6A		17,2		9,1	4,11 (0,04)*	2,08 (1,01-4,25)
<i>MMP9</i>	C-1562T	-1562 CC	11 3	79,8	130	55,8	0,69 (0,41)	0,77 (0,7-2,38)
		-1562 CT		16,8		35,1	0,83 (0,36)	0,74 (0,39-1,41)
		-1562 TT		13,4		9,1	0,01 (0,9)	1,1 (0,22-5,58)

Примечание. *- $p < 0,05$

По данным таблицы 5 было установлено, что вариантный генотип 509TT гена *TGF* ассоциировался с повышенным риском развития вентральных грыж (OR 1,94 CI95% 1,12-2,5), при этом количество диких гомозигот 509 CC этого же гена было статистически значимо выше в контрольной группе (OR 0,49 CI95% 0,29-0,85). Частота гомозигот 61AA гена *EGF* среди людей с вентральными грыжами было выше, чем в контрольной группе (OR 1,89 CI95% 1,01-3,55). В данном гене частота дикого генотипа 61 GG также была

статистически значимо выше в контрольной группе (OR 0,58 CI95% 0,36-0,93). В гене *MMP3* была выявлена положительная ассоциация генотипа 1171 6A6A связана с вентральным грыжеобразованием (OR 0,58 CI95% 0,36-0,93). Генотип 1171 5A5A имел обратный эффект и статистически значимую отрицательную ассоциацию с вентральным грыжеобразованием (OR 2,08 CI95% 1,01-4,25). По остальным генотипам статистически значимых различий не выявлено.

Влияние парных межгенных взаимодействий генов цитокинового ряда и генов матриксных металлопротеиназ на предрасположенность к формированию вентральных грыж

В основе наследственной предрасположенности к большинству мультифакториальных заболеваний лежит сочетание аллельных вариантов различных генов (Фогель Ф., Мотульски А., 1990; Бочков Н.П., 2002; Пузырев В.П., 2003). Определенные комбинации генов, каждый из которых в отдельности характеризуется незначительным проявлением на уровне фенотипа, зачастую обладают суммарным (аддитивным) эффектом, который в совокупности с факторами внешней среды способен вызвать заболевание или предопределить его более тяжелое течение.

Важно понять индивидуальное поведение организма при сочетании вариантов генотипов исследуемых генов и, как следствие, оценить их значимость в формировании вентральных грыж.

В таблице 6 приведены особенности взаимодействия полиморфных вариантов генов при помощи анализа парных межгенных сочетаний генотипов. Одни сочетания были патогенетически важными и, усиливая друг друга, способствовали развитию изучаемого заболевания. Из них самыми значимыми были сочетания вариантных генотипов генов *MMP3* и *TGFBI* (OR=4,49 CI95% 1,25-16,19), вариантного генотипа гена *MMP3* и гетерозиготного генотипа гена *ICAM 1* (OR=3,86 CI95% 1,25-16,19), вариантного генотипа гена *MMP3* и дикого генотипа гена *MMP9* (OR=3,07 CI95% 1,12-8,4), вариантного генотипа гена *TGFBI* и гетерозиготного генотипа гена *EGF* (OR=2,33 CI95% 1,03-5,3).

Другие сочетания генотипов оказывали протективное действие, то есть снижали риск развития заболевания. Из них наиболее значимые: сочетание диких генотипов генов *MMP3* и *TGFBI* (OR=0,34 CI95% 0,16-0,75), сочетания диких генотипов *MMP3* и *EGF* (OR=0,42 CI95% 0,23-0,89), диких генотипов *MMP3* и *MMP9* (OR=0,57 CI95% 0,33-0,99), диких генотипов *TGFBI* и *EGF* (OR=0,34 CI95% 0,15-0,76), диких генотипов *TGFBI* и *ICAM* (OR=0,4 CI95% 0,2-0,8), диких генотипов *TGFBI* и *MMP9* (OR=0,48 CI95% 0,25-0,92).

Как, одни комбинации генов в большей степени способствовали проявлению признака, другие в меньшей и оказывали защитное действие на организм в отношении развития исследуемого заболевания. Сочетание вариантных генотипов генов *MMP3* и *TGFBI* оказывало достоверное влияние на развитие вентральных грыж. При этом их суммарное влияние было выше, чем их влияние по отдельности, отношение шансов для парного взаимодействия составило 4,49 (CI95% 1,25-16,19), а отношения шансов для них в отдельности составили 2,08 (CI95% 1,01-4,25) и 1,94 (CI95% 1,12-2,5) для *MMP3* и *TGFBI* соответственно. В то же время сочетание их

доминантных генотипов достоверно оказывало протективное воздействие. Аналогично описанной выше ситуации, суммарное действие диких генотипов оказывало большее влияние, нежели их влияние в отдельности, OR для парных генотипов 0,34 (CI95% 0,16-0,75), OR для отдельных генотипов 0,52 (CI95% 0,32-0,84) и 0,49 (CI95% 0,29-0,85) соответственно для *MMP3* и *TGFBI*. На основании вышеизложенного можно говорить о стойком синергизме изучаемых полиморфизмов вышеописанных генов в предрасположенности к развитию вентральных грыж.

Таблица 6

Ассоциации парных межгенных комбинаций генотипов генов цитокинов и матриксных металлопротеиназ с предрасположенностью к развитию вентральной грыжи

Парные комбинации генотипов	Частоты комбинаций генотипов				Критерий различий, χ^2 (p)	OR (CI95%)
	Больные		Контрольная группа			
	n	%	n	%		
<i>MMP3</i> -1171 5A5A x <i>TGFBI</i> -509 CC↓	10	8,1	24	20,5	7,56 (0,01)	0,34 (0,16-0,75)
<i>MMP3</i> -1171 6A6A x <i>TGFBI</i> -509 TT↑	13	10,6	3	2,6	6,18 (0,01)	4,49 (1,25-16,19)
<i>MMP3</i> -1171 5A5A x <i>EGF</i> +61 GG↓	14	12,3	34	23,8	5,52 (0,02)	0,42 (0,23-0,89)
<i>MMP3</i> -1171 6A6A x <i>ICAM-1</i> 469 AG↑	9	7,3	3	2	4,53 (0,03)	3,86 (1,02-14,59)
<i>MMP3</i> -1171 5A5A x <i>MMP9</i> -1562 CC↓	29	29,3	54	42,2	4 (0,05)	0,57 (0,33-0,99)
<i>MMP3</i> -1171 6A6A x <i>MMP9</i> -1562 CC↑	13	13,1	6	4,7	5,19 (0,02)	3,07 (1,12-8,4)
<i>TGFBI</i> -509 CC x <i>EGF</i> +61 GG↓	10	7,6	22	19,5	7,46 (0,01)	0,34 (0,15-0,76)
<i>TGFBI</i> -509 TT x <i>EGF</i> +61 GA↑	22	16,8	9	8	4,26 (0,04)	2,33 (1,03-5,3)
<i>TGFBI</i> -509 CC x <i>ICAM-1</i> 469 AA↓	15	10,8	27	23,1	6,99 (0,01)	0,4 (0,2-0,8)
<i>TGFBI</i> -509 CC x <i>MMP9</i> -1562 CC↓	19	16,7	29	29,6	5,03 (0,02)	0,48 (0,25-0,92)

Примечание:

↓ – ослабление патогенного действия

↑ – усиление патогенного действия

Также было отмечено усиление протективного действия на организм при сочетании диких генотипов генов *MMP3* и *EGF*. Их суммарное влияние (OR=0,42 CI95% 0,23-0,89) было более значимым, чем их отдельное воздействие, для *MMP3* OR=0,52 (CI95% 0,32-0,84), для *EGF* OR=0,58 (CI95% 0,36-0,93).

Было выявлено, что сочетание диких генотипов *TGFBI* и *EGF* также снижает шанс развития заболевания в большей мере, чем их отдельное влияние. Отношение шансов для их парного сочетания 0,34 (CI95% 0,15-0,76), по отдельности отношение шансов для *TGFBI* и *EGF* составили соответственно 0,49 (CI95% 0,29-0,85) и 0,58 (CI95% 0,36-0,93). Сочетание вариантного генотипа гена *TGFBI* с гетерозиготным генотипом гена *EGF* имело более достоверно высокое влияние на развитие вентральных грыж, чем изолированное влияние *TGFBI* на развитие данного заболевания. OR для парного генотипа 2,33 (CI95% 1,03-5,3), OR для одиночного 1,94 (CI95% 1,12-2,5). Стоит отметить, что гетерозиготный генотип +61GA гена *EGF* не имел достоверных различий между группой больных с вентральными грыжами и контрольной группой.

По полиморфизму гена *ICAMI* не было найдено статистически достоверных различий между частотой его встречаемости в группе больных с вентральными грыжами и лицами контрольной группы. Однако сочетание его дикого генотипа и дикого генотипа гена *TGFBI* усиливало протективное действие последнего. Сочетание гетерозиготного генотипа гена *ICAMI* с вариантным генотипом гена *MMP3* усиливало ассоциации с вентральными грыжами последнего, о чем свидетельствует более высокий уровень отношения шансов (OR=3,86, CI95% 1,02-14,59) в сравнении с действием *MMP3* отдельно (OR= 2,08, CI95% 1,01-4,25).

Также, полиморфизм -1562 С/Т гена *MMP9* не имел достоверных различий по частоте встречаемости среди группы больных с вентральными грыжами и лицами контрольной группы. Но сочетание его дикого генотипа с диким генотипом гена *MMP3* или гена *TGFBI* обладало защитным действием к формированию вентральной грыжи. Однако, было выявлено, что сочетание того же дикого генотипа гена *MMP9* с вариантным генотипом гена *MMP3* усиливало ассоциацию с развитием заболевания.

Прогнозирование риска возникновения вентральной грыжи на основе анализа данных функциональной активности рибосомных генов и генотипирования полиморфизмов генов-кандидатов

Среди всех оцененных статистических моделей наиболее прогностически ценной в отношении риска развития вентральных грыж была модель, включающая следующие предикторы: количество активных рибосомных цистронов хромосом группы G, полиморфизм -1171 5A->6A гена *MMP3*, полиморфизм С-509Т гена *TGFBI*, полиморфизм А+61G гена *EGF* и наличие отрицательного резус-фактора (Rh-). Параметры логистической регрессионной модели представлены в таблице 7.

Уровни значимости коэффициентов регрессии для всех предикторов были менее 0,05, т.е. каждый из них оказывал статистически значимое влияние на риск возникновения вентральной грыжи. Величина отношения шансов для представленной регрессионной модели составляла 54,7, демонстрируя, что при увеличении на единицу значения *i*-го признака шанс возникновения вентральной грыжи увеличивается более чем в 50 раз. Указанная модель корректно предсказывает в 73% случаев вероятность возникновения

вентральных грыж и в 68% случаев правильно классифицирует здоровых индивидов.

Таблица 7

Логистическая регрессионная модель прогнозирования риска возникновения вентральных грыж

Независимые (объясняемые) признаки (X_i) и их градации	Регрессионные коэффициенты, b_i
Интерцепт (константа)	1,05
RC G (0-4)	-0,84
<i>MMP3</i> -1171 5A->6A (1, 2, 3)	0,72
<i>TGFBI</i> C-509T (1, 2, 3)	0,32
<i>EGF</i> A+61G (1, 2, 3)	0,85
Резус-фактор (0, 1)	-1,48
<p><u>Параметры лог-регрессионной модели:</u> Уровень значимости модели в целом $p=0,00043$ ($\chi^2=22,475$; $df=5$, OR=54,7); Процент правильной классификации: больные ВГ – 73% , здоровые – 68%.</p>	

ВЫВОДЫ

1. В апоневрозе и в коже у больных с вентральными грыжами процентное содержание коллагена I и III примерно равно, тогда как в контрольной группе количество коллагена I типа было в 2 раза выше, чем содержание коллагена III типа.

2. Показатели функциональной активности рибосомных генов у людей с вентральными грыжами ниже, чем у лиц контрольной группы, за счет выключения из работы рибосомных цистронов хромосом группы G.

3. Генетические варианты *MMP3* -1171 5A5A (OR=2,08), *TGFBI* -509CC (OR=1,94), *EGF* +61AA (OR=1,89) ассоциированы с развитием вентральных грыж.

4. Сочетания генотипов *MMP3* -1171 5A5A x *TGFBI* -509 CC (OR=0,34), *MMP3* -1171 5A5A x *EGF* +61 GG (OR=0,42), *MMP3* -1171 5A5A x *MMP9* -1562 CC (OR=0,57), *TGFBI* -509 CC x *EGF* +61 GG (OR=0,34), *TGFBI* -509 CC x *ICAM-1* 469 AA (OR=0,4), *TGFBI* -509 CC x *MMP9* -1562 CC (OR=0,48) оказывали протективное действие на развитие вентральных грыж, а комбинации генотипов *MMP3* -1171 6A6A x *TGFBI* -509 TT (OR=4,49), *MMP3* -1171 6A6A x *ICAM-1* 469 AG (OR=3,86), *MMP3* -1171 6A6A x *MMP9* -1562 CC (OR=3,07), *TGFBI* -509 TT x *EGF* +61 GA (OR=2,33) были ассоциированы с повышенным риском развития заболевания.

5. Получено уравнение логистической регрессии, позволяющее прогнозировать риск развития вентральных грыж: $Y = -1,05 + (-0,84) \times (RC\ G\ (0-4)) + 0,72 \times (MMP3\ -1171\ 5A->6A\ (1, 2, 3)) + 0,32 \times (TGFBI\ C-509T\ (1, 2, 3)) + 0,85 \times (EGF\ A+61G\ (1, 2, 3)) + (-1,48) \times Rh\ (0,1)$.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью индивидуального прогнозирования послеоперационных осложнений представляется целесообразным введение в лабораторную диагностику оценки показателей функциональной активности рибосомных генов наряду с общеклиническими данными.

2. Введение в практику медико-генетического консультирования типирования по двум полиморфизмам генов-цитокинов (*TGFB1* C-509T, *EGF* A+61G) и одному полиморфизму гена матричной металлопротеиназы 3 (*MMP3* -1171 5A->6A) для определения индивидуального фона реагирования биосинтеза основных белков соединительной ткани на действие триггерного фактора для диагностики послеоперационных вентральных грыж.

3. С использованием разработанной нами модели логистической регрессии формировать индивидуальную тактику хирургического лечения с учетом риска развития послеоперационной вентральной грыжи.

4. В рамках высшего медицинского образования в курсах медицинской и клинической генетики шире освещать проблемы функционирования рибосомных генов и роль генетических детерминант в развитии хирургических заболеваний в частности и всей мультифакториальной патологии в целом.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Барт, И.И. Генетические факторы и их вовлеченность в формирование послеоперационных осложнений и рецидивов вентральных грыж / И.И. Барт // Молодежная наука и современность : материалы 75-й Всерос. науч. конф. студентов и молодых учёных с междунар. участием, посвящ. 75-летию КГМУ (Курск, 20-21 апр. 2010 г.). – Курск, 2010. – Ч. 1. – С. 79.

2. Барт, И.И. Функциональная активность рибосомных генов у больных с послеоперационными вентральными грыжами. / И.И. Барт, Д.В. Гаврилов, Е.В. Трубникова // Молодежная наука и современность : материалы 76-й Всерос. науч. конф. студентов и молодых учёных с междунар. участием (Курск, 19-20 апр. 2011 г.). – Курск, 2011. – Ч. 1. – С. 89.

3. Барт, И.И. Функциональная активность рибосомных генов у больных с послеоперационными вентральными грыжами / И.И. Барт, Е.В. Трубникова // Санкт-Петербургские научные чтения – 2011 : материалы IV Междунар. молодежного мед. конгр. (Санкт-Петербург, 7-9 дек. 2011 г.). – СПб., 2011. – С. 177-178.

4. Барт, И.И. Особенности функционирования белоксинтезирующего аппарата у больных с послеоперационными вентральными грыжами и возможности профилактики послеоперационного грыжеобразования / И.И. Барт // Студент и научно-технический прогресс : материалы 50-й юбилейной Междунар. науч. студенческой конф. (Новосибирск, 13-19 апр. 2012 г.). – Новосибирск, 2012. – С. 7-8.

5. Барт, И.И. Функциональная активность рибосомных генов и её вовлеченность в формирование вентральных грыж у человека / И.И. Барт,

В.П. Иванов, С.В. Иванов // Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2012. – № 3. – С. 37-41.

6. Вовлеченность полиморфизма гена трансформирующего фактора роста в развитие абдоминальных грыж у человека / И.И. Барт, В.П. Иванов, С.В. Иванов, Е.В. Трубникова // Современ. пробл. науки и образования. – 2013. – № 1. – С. 14.

7. Особенности ассоциации соотношения коллагенов в апоневрозе передней брюшной стенки и полиморфизма матриксных металлопротеиназ / И.И. Барт, В.А. Лазаренко, И.С. Иванов, В.П. Иванов // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 3. – С. 28-34.

8. Вовлеченность полиморфизмов генов *MMP3* -1171 5А->6А *MMP9* С-1562Т в формирование вентральных грыж у человека / И.И. Барт, И.С. Иванов, И.В. Булгакова, О.В. Бобынцева, Е.В. Левченко // Материалы VII Междунар. науч. конф. молодых ученых-медиков (Курск, 1-2 марта 2013 г.). – Курск, 2013. – Т. 1. – С. 98-102.

9. Критерии прогнозирования грыжевой болезни / С.В. Иванов, В.П. Иванов, И.С. Иванов, И.И. Барт // Вестн. Нац. мед.-хирург. Центра им. Н.И. Пирогова. – 2013. – № 1. – С. 84-88.

10. Роль полиморфизма эпидермального фактора роста в формировании послеоперационных вентральных грыж / И.И. Барт, В.П. Иванов, С.В. Иванов, Е.В. Трубникова // Материалы итоговой науч. конф. сотрудников КГМУ, Центр.-Чернозем. науч. центра РАМН и отд-ния РАЕН, посвящ. 78-летию КГМУ (Курск, 7 февр. 2013 г.). – 2013. – Т. 1. – С. 199-200.

Список условных сокращений

ММП – матриксные металлопротеиназы

ФАРГ – функциональная активность рибосомных генов

EGF – эпидермальный фактор роста

ICAM – интерцеллюлярная адгезивная молекула

MMP3 – матриксная металлопротеиназа 3

MMP9 – матриксная металлопротеиназа 9

RC – суммарное количество активных рибосомных цистронов

RC D – количество активных рибосомных цистронов хромосом группы D

RC G - количество активных рибосомных цистронов хромосом группы G

RG – суммарная функциональная активность рибосомных генов

RG D – функциональная активность рибосомных генов хромосом группы D

RG G - функциональная активность рибосомных генов хромосом группы G

TGFB1 – трансформирующий фактор роста бета-1

TNFA – фактор некроза опухоли альфа

Лицензия ЛР № 020862 от 30.04.99 г.

Сдано в набор 17.04.2013 г. Подписано в печать 18.04.2013 г.
Формат 30x42¹/₈. Бумага офсетная. Гарнитура Times New Rom.

Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ № 243"А".

Издательство Курского государственного медицинского университета
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.

