

## Анализ экспрессии генов по технологии nCounter Nanostring в медицинских исследованиях: опыт использования у детей с нефротическим синдромом

С.Л. Морозов<sup>1</sup>, А.С. Воронкова<sup>1</sup>, В.В. Длин<sup>1</sup>, Т.И. Туркина<sup>2</sup>, В.С. Сухоруков<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева»;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБНУ Научный центр неврологии, Москва, Россия

## Analysis of gene expression by nCounter Nanostring technology in medical research: experience with children with nephrotic syndrome

S.L. Morozov<sup>1</sup>, A.S. Voronkova<sup>1</sup>, V.V. Dlin<sup>1</sup>, T.I. Turkina<sup>2</sup>, V.S. Sukhorukov<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics;

<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Research Center of Neurology

В эпоху современной медицины сформировались фундаментальные научные установки в диагностике широкого круга заболеваний, которые основаны на традиционных инструментах: лабораторных и функциональных исследованиях, световой микроскопии, иммунофлюоресценции и электронной микроскопии. Однако в последние десятилетия эти методы становятся недостаточными для верификации различных вариантов течения заболеваний, особенно с нетипичной клинической картиной. В статье рассматриваются возможности новой технологии nCounter от компании «Nanostring Technologies», подробно описаны возможности технологии в диагностике различных заболеваний, а также приведен собственный опыт использования в диагностике у детей с нефротическим синдромом.

**Ключевые слова:** дети, нефротический синдром, РНК, ДНК, экспрессия, нефрология, почка, транскриптомика.

**Для цитирования:** Морозов С.Л., Воронкова А.С., Длин В.В., Туркина Т.И., Сухоруков В.С. Анализ экспрессии генов по технологии nCounter Nanostring в медицинских исследованиях: опыт использования у детей с нефротическим синдромом. Рос вестн перинатол и педиатр 2019; 64:(1): 110–115. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-110-115

In the era of modern medicine, there are formed the fundamental scientific principles in the diagnosis of a wide range of diseases that are based on traditional instruments: laboratory and functional studies, light microscopy, immunofluorescence, and electron microscopy. However, in recent decades these methods have become insufficient to verify various variants of the diseases, especially with an atypical clinical picture. The article discusses the capabilities of the nCounter technology from the company Nanostring Technologies, it describes in detail the capabilities of the technology in the diagnosis of various diseases, and also the authors present their own experience of using diagnostics in children with nephrotic syndrome.

**Key words:** children, nephrotic syndrome, RNA, DNA, expression, nephrology, kidney, transcriptomics.

**For citation:** Morozov S.L., Voronkova A.S., Dlin V.V., Turkina T.I., Sukhorukov V.S. Analysis of gene expression by nCounter Nanostring technology in medical research: experience with children with nephrotic syndrome. Ros Vestn Perinatol i PEDIATR 2019; 64:(1): 110–115 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-110-115

В эпоху современной медицины сформировались фундаментальные научные установки в диагностике широкого круга заболеваний, которые основаны на традиционных инструментах: лабораторных

и функциональных исследованиях, световой микроскопии, иммунофлюоресценции и электронной микроскопии. Однако в последние десятилетия эти методы становятся недостаточными для верификации различных вариантов течения заболеваний, особенно с нетипичной клинической картиной.

В настоящее время стали активно развиваться методы молекулярной диагностики, которые не только дополняют традиционные исследования, но и дают понимание с точки зрения молекулярной патофизиологии. Ожидается, что технологии секвенирования в последующих поколениях будут играть ключевую роль в совершенствовании лабораторной диагностики и медицины в целом, а развитие транскриптомики позволяет внедрять новые технологии, с помощью которых появляются возможности изучать экспрессию гена как в свежих образцах тканей, так и из фиксированных формалином тканей в парафиновых блоках [1].

Технология nCounter от компании «Nanostring Technologies» основана на классическом методе

© Коллектив авторов, 2019

**Адрес для корреспонденции:** Морозов Сергей Леонидович — к.м.н., ст. науч. сотр. отдела наследственных и приобретенных болезней почек Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0002-0942-0103

Воронкова Анастасия Сергеевна — науч. сотр. лаборатории общей патологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева

Длин Владимир Викторович — д.м.н., проф., зав. отделом наследственных и приобретенных болезней почек Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0002-0942-01030000-0002-3050-7748

Туркина Татьяна Ивановна — д.б.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Сухоруков Владимир Сергеевич — д.м.н., проф., зав. лабораторией Научного центра неврологии, проф. кафедры гистологии, эмбриологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова, ORCID: 0000-0002-0552-6939

125412 Москва, ул. Талдомская, д.2

молекулярной биологии — фотофиксации флуоресцентных меток на специфических молекулах. В данном случае метки имеют особое строение, а именно: захватывающую таргетную молекулу и репортерную (т.е. непосредственно флуоресцирующую) части (рис. 1). Благодаря этой технологии при известной структуре продукта практически нет ограничений по дизайну исследовательской панели: она может включать как ДНК, так и РНК или белки.

Это открывает широчайшие горизонты для получения больших объемов данных при небольшом количестве входящего продукта. В условиях постоянно совершенствующихся методов ручной и машинной обработки данных показатели, получаемые с помощью nCounter, будут актуальны в течение длительного времени. Указанная технология направлена на получение абсолютного результата — определения количественного содержания целевого продукта в определенной ткани или клетке. Подобные данные могут быть многократно повторно использованы даже при значительном расширении выборки, поскольку обладают нормализационной гибкостью, что существенно при ассимиляции результатов исследования научным сообществом [2].

Наибольший интерес в сфере молекулярной медицины представляет изучение динамических продуктов, к которым в первую очередь относятся РНК. Nanostring предоставляет возможность исследовать любые ее типы, включая некодирующие микроРНК. В настоящее время существуют методические опции исследования распределения РНК-продуктов в различных тканях, в том числе в архивных, фиксированных в формалине парафинизированных образцах, и даже в единичной клетке (single cell). При этом по точности получаемых данных эта технология сравнима с полимеразной цепной реакцией (ПЦР) в реальном времени, а по производительности — с секвенированием нового поколения (NGS) [2]. Такой подход к сложной технической задаче позволяет решать многие диагностические проблемы, а широкое внедрение методов транскриптомики потребует тесного сотрудничества между клиницистами, молекулярными биологами, генетиками и морфологами.

Применение технологии Nanostring хорошо рекомендовало себя в различных высокотехнологичных областях медицины, где решаются трудные задачи, такие как трансплантация органов. На примере трансплантации почек показано, что гистопатологические диагнозы имеют ограниченную возможность и часто не обеспечивают точного представления о патологии почек. Такие ограничения привели к поиску новых высокопроизводительных молекулярных платформ для более точной и индивидуальной диагностики, открывающей область прецизионной медицины [3]. Создание панелей транскриптов, основанных на различных заболеваниях почек, определило молекулярный

фенотип, который можно использовать для анализа состояния аллотрансплантата человека, особенно в тех случаях, когда информация о доноре отсутствует [4–7]. В настоящее время ведется работа по созданию модели транскрипта, отражающей основные диагностические критерии опосредованного антигенного отторжения (ABMR), что необходимо для клинической практики [8]. Особенностью платформы Nanostring является возможность работать с фиксированными в формалине парафиновыми блоками, полученными во время биопсии, что не требует получения дополнительного биопсийного материала. Высокая степень мультиплексирования позволяет анализировать 800 целей, а чувствительность метода в значительной степени выше и эффективней, чем микрочипы и аналогичные по чувствительности ПЦР в реальном времени [9]. Так, высокое диагностическое значение показано на примере исследования, проведенного при сравнительном анализе панели, которая включает 34 гена ABMR, отражающие опосредованный Т-клеточный ответ во время трансплантации (TCMR, T-cell mediated rejection) по сравнению с данными микрочипов и ПЦР в реальном времени qRT-PCR [10]. Кроме того, в рамках исследования был проведен ретроспективный анализ транскрипта, полученного из парафиновых блоков (ФФП).

В результате была показана высокая межлабораторная воспроизводимость результатов, в том числе при оценке экспрессии в разном количестве выделенной РНК. При сравнении платформ были получены средние значения коэффициента корреляции (0,487) между архивными (Nanostring) и свежими (qRT-PCR) образцами, что, возможно, объясняется разными пробами от разных пациентов.

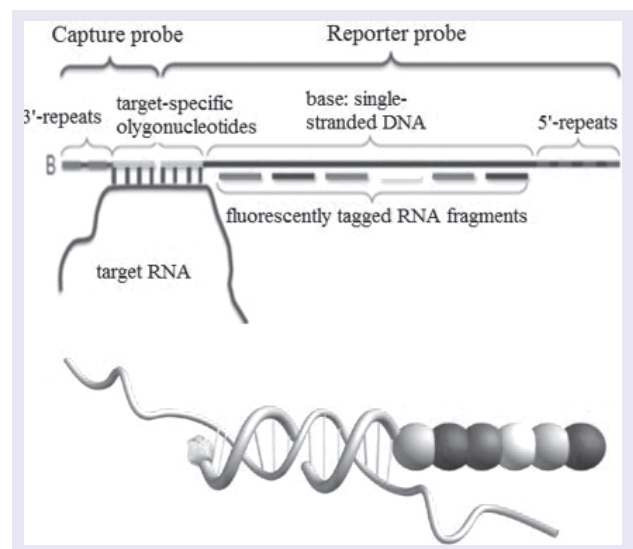


Рис. 1. Схема создания молекулярного «штрих-кода» для индивидуальной молекулы РНК [2]

Fig. 1. Molecular “bar code” creation scheme for an individual RNA molecule [2]

Эти данные косвенно подтверждают результаты, полученные на образцах и других тканях. Так, при сравнении технологии Nanostring с qRT-PCR с использованием зонда TaqMan на архивных и свежих образцах сквамозно-клеточной карциномы было показано, что технология Nanostring обладает существенно большими коэффициентами корреляции (при сравнении свежемороженых и образцов, выделенных из фиксированных в формалине парафинизированных блоков), как общими, так и при попарном сравнении образцов [11]. Исследование свежих и архивных образцов рака молочной железы показало несостоятельность технологии ПЦР для исследования ФФП-образцов [12]. Все это в совокупности с такими преимуществами, как отсутствие ферментативных реакций, цифровой метод подсчета РНК, существенно снижающий фоновые значения, использование меньшего количества материала и экономия времени исследователя, позволяет характеризовать технологию Nanostring как продуктивный и удобный метод измерения экспрессии генов в любых тканях и как о наиболее приемлемый метод при ретроспективном анализе архивных образцов.

В настоящее время технология Nanostring получила широкое применение практически во всех областях медицины. Так, в исследовании, проведенном С.Д. Расcoe и соавт. [13], изучался патогенез бронхиальной астмы на основе анализа экспрессии генов, отвечающих за сокращение гладких мышц дыхательных путей, структуру и регуляцию цитоскелета, функцию эпителиального барьера, врожденный и адаптивный иммунитет, фиброз и ремоделирование ткани легких. В исследовании принимали участие пациенты с тяжелой бронхиальной астмой, причем анализ транскрипта проводился из биопсийных образцов легочной ткани. В результате было продемонстрировано снижение экспрессии гена *RAC1* (*Ras-Related C3 Botulinum Toxin Substrate 1*) и интегрин  $\beta 6$  в дыхательных путях больных бронхиальной астмой, т.е. факторов, играющих важную роль в барьерной функции легких [13]. Кроме того, отмечалось достоверное повышение уровней экспрессии генов *COL1A1* и *COL3A1*, кодирующих альфа-цепь коллагена I и III типов соответственно. Высокий уровень коллагена I и III типов играет ключевую роль в ремоделировании дыхательных путей, в частности процессах фиброза, воспаления и клеточной пролиферации [14]. Кроме того, были получены данные о высокой экспрессии гена *CTCF* (транскрипционный репрессор CTCF, известный как CCCTC-связывающий фактор), который влияет на экспрессию генов через модификацию хроматина, приводящую к изоляции целевых участков. CTCF является архитектурным белком, служит посредником меж- и внутрихромосомных взаимодействий на удаленных геномных участках и регулирует трехмерную архитектуру генома [15]. Через влияние

на гены *ZBP2/GSDMB/ORMDL3* определяет фенотип астмы. Считается, что *CTCF* действует через аллельспецифичное ремоделирование хроматина: например, SNP в гене *ZBP2* способен посредством возникновения сайта связывания *CTCF* увеличивать свою собственную экспрессию, но снижать экспрессию *GSDMB* и *ORMDL3*. Кроме того, показано, что *CTCF* может играть важнейшую роль в патогенезе бронхиальной астмы посредством влияния на множество генов [13]. Изменения экспрессии в ряде генов при бронхиальной астме играют важную роль в регуляции воспаления и ремоделировании дыхательных путей, а изменения экспрессии регулятора транскрипции *CTCF*, который может быть также важным регулятором фенотипа бронхиальной астмы, позволяют расширить понимание ее патофизиологии и с новых позиций оценить терапевтические возможности [15].

Изучение экспрессии РНК не ограничивается только диагностическими панелями, но в последнее время используется в качестве маркеров чувствительности к терапии при различных заболеваниях. Ярким примером служит изучение экспрессии гена множественной лекарственной устойчивости *MDR1* при стероидрезистентном нефротическом синдроме. Изучение и прогнозирование лекарственной устойчивости у пациентов с нефротическим синдромом особенно важно с точки зрения формирования прогноза заболевания и определения дальнейшей тактики ведения пациента. В исследованиях, проведенных D.M. Youssef и соавт. [16], продемонстрировано изменение экспрессии гена *MDR1* при стероидрезистентном нефротическом синдроме. Известно, что в патофизиологии нефротического синдрома важную роль играет повышение активности интерлейкина-2 (IL-2) и его растворимого рецептора интерлейкина-2 человека (sIL-2R, CD25), который может вызывать увеличение экспрессии гена *MDR1* и его продукта, Р-гликопротеина. Так, Р-гликопротеин-170 является трансмембранным энергозависимым транспортером, который участвует в транспорте и активном выведении цитостатиков, ксенобиотиков и глюкокортикостероидов из клеток, что способствует при его экспрессии возникновению полирезистентности к лекарственным препаратам [16]. В результате проведенного исследования продемонстрирован высокий уровень IL-2, sIL-2R и экспрессии гена *MDR1* у пациентов с нефротическим синдромом, причем у пациентов со стероидрезистентным синдромом эти показатели коррелировали между собой и достоверно отличались от таковых у пациентов со стероидчувствительным нефротическим синдромом. Указанные данные подтверждают большое значение экспрессии гена *MDR1* в развитии стероидрезистентности, что может служить ранним маркером нечувствительности к глюкокортикостероидам [16].

С 2015 г. в Научно-исследовательском клиническом институте педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева стала использоваться технология nCounter от компании «Nanostring Technologies» (США) при различных заболеваниях. В недавнем исследовании с помощью технологии Nanostring были получены данные об экспрессии 207 генов митохондриальных сетей у детей с различными типами нервно-мышечных заболеваний: митохондриальными энцефаломиопатиями, мышечными дистрофиями и врожденными структурными миопатиями. С помощью анализа транскрипционной активности митохондриальных структурных и регуляторных белков было получено подтверждение явления компенсаторной пролиферации митохондрий при немитохондриальных типах нервно-мышечных нарушений. При митохондриальных энцефаломиопатиях были установлены ранее не описанные в литературе закономерности гипоксического ответа, апоптотических процессов и внутриклеточного сигналинга в миоцитах пациентов. Особое значение данные находки представляют в свете предшествовавших исследованию результатов гистохимического анализа и секвенирования. Исследование РНК с помощью митохондриальной панели Nanostring позволило составить комплексную картину патологии на разных уровнях организации скелетной мускулатуры: ДНК, РНК и структуры белка [17].

В рамках пилотного проекта изучалось состояние иммунной системы у пациентов со стероидрезистентным нефротическим синдромом по результатам анализа экспрессии 614 генов иммунной системы. Ниже приводим предварительные данные исследования.

Стероидрезистентный нефротический синдром является заболеванием с наиболее неблагоприятным исходом. При этом тяжесть течения болезни часто определяют иммунные нарушения. Изучение изменений экспрессии генов иммунной системы позволит дополнить знания о патогенезе развития стероидрезистентного синдрома.

Целью нашего исследования являлось определение характера наиболее выраженных нарушений экспрессии генов иммунной системы у детей со стероидрезистентным нефротическим синдромом. Обследованы 28 больных детей в возрасте  $11 \pm 4,05$  года. Группу контроля составили 24 практически здоровых ребенка в возрасте  $13 \pm 3,95$  года. Основная группа и группа контроля по возрасту и половому составу достоверно не различались. В обеих группах проводился анализ экспрессии 614 генов иммунной системы на цифровом анализаторе нуклеиновых кислот nCounter («Nanostring Technologies», США).

У детей основной группы (рис. 2) выявлен низкий уровень экспрессии генов *KIR Inhibiting Subgroup 1* –  $18,4 \pm 15,8$  усл. ед.; *KIR Inhibiting Subgroup 2* –  $6,3 \pm 5,5$  усл. ед., *KIR3 DL1* –  $4,2 \pm 3,6$  усл. ед.,

что достоверно ниже, чем в группе контроля ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,003$  и  $p < 0,02$  соответственно). Семейство генов *KIR* – трансмембранные гликопротеиды, локализованные на плазматической мембране, участвующие в образовании НК-клеток и Т-лимфоцитов

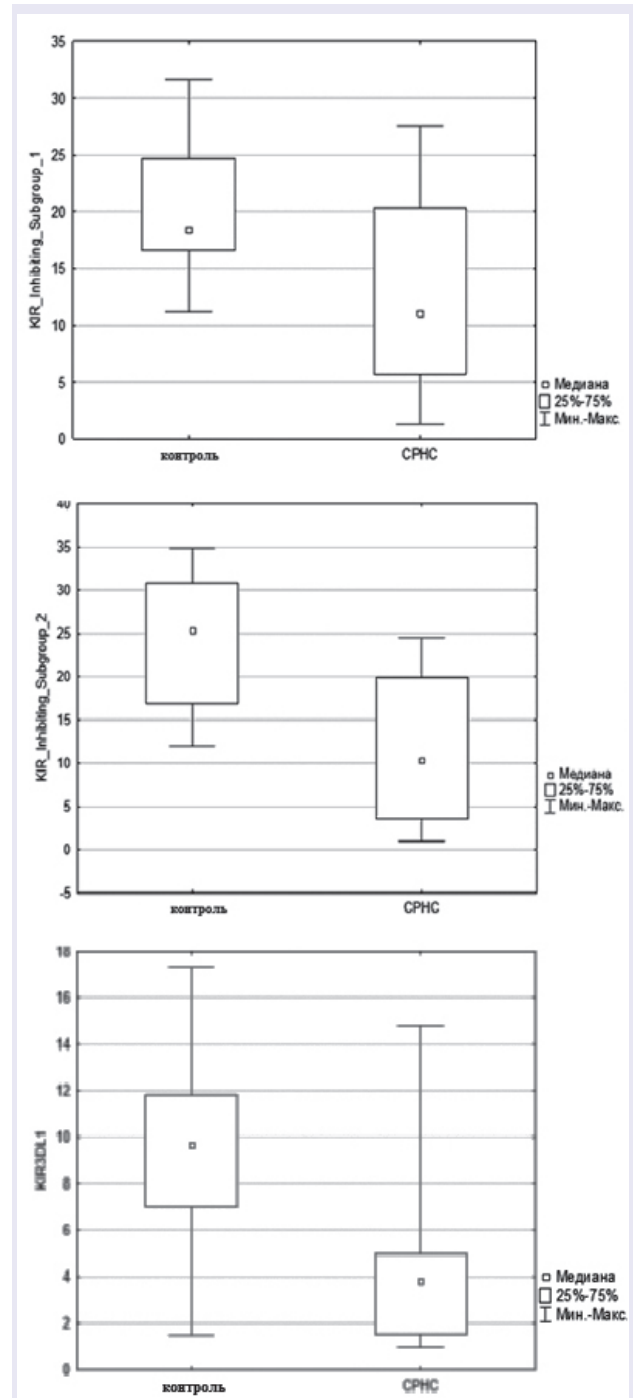


Рис. 2. Уровень экспрессии генов *KIR Inhibiting Subgroup 1*, *KIR Inhibiting Subgroup 2* и *KIR3 DL1* у детей со стероидрезистентным нефротическим синдромом по сравнению с группой контроля. Составлено авторами

Fig. 2. The level of gene expression of *KIR Inhibiting Subgroup 1*; *KIR Inhibiting Subgroup 2*; *KIR3 DL1* in children with steroid-resistant nephrotic syndrome compared with the control group. Composed by the authors



и взаимодействующие с молекулами лейкоцитарного антигена человека (HLA) I класса, который экспрессируется на ядерных клетках всех типов. KIR-рецепторы опознают пораженные вирусом или трансформированные клетки.

Кроме того, у больных детей отмечена высокая экспрессия гена *HLA-DPA* (HLA II класса) —  $1058 \pm 411$  усл. ед., что значительно выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Молекулы HLA II класса распознаются в основном Т-хелперными клетками CD4+. Эти лимфоциты увеличивают функцию антигенпрезентирующих клеток и способствуют дифференцировке и пролиферации В-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов. Таким образом, по предварительно полученным данным, уменьшение экспрессии генов трансмембранных гликопротеинов, которые взаимодействуют с молекулами лейкоцитарного антигена человека HLA I, и значительное увеличение экспрессии генов HLA II класса могут играть роль в основе развития патогенеза стероидрезистентного нефротического синдрома и определять тяжесть его течения.

Помимо представленных генов получены данные об изменении экспрессии более 40 генов как при стероидрезистентном, так и при стероидзависимом нефротическом синдроме. Например, отмечена высокая экспрессия гена *BLNK*, который играет роль в раз-

витии и регуляции В-клеток, а также в активации NF-κB. При этом высокая экспрессия гена *CD274K* определяет посредством своих рецепторов активацию Т-клеток и продуцирование цитокинов во время инфекции или воспаления нормальной ткани. Это взаимодействие важно для предотвращения аутоиммунных реакций, так как поддерживает гомеостаз иммунного ответа. Однако полученные данные нуждаются в тщательном анализе применительно к различным типам нефротического синдрома с учетом клинико-лабораторной и морфологической картины заболевания, что в настоящее время проводится и будет опубликовано.

Таким образом, оценивая возможности технологии nCounter от компании «Nanostring Technologies», можно отметить, что данная технология является веским дополнением к имеющимся методам молекулярной диагностики. Внедрение технологии в мировую практику и в нашей стране позволит заново взглянуть на многие молекулярные механизмы патогенеза множества заболеваний, а развитие транскриптомики даст возможность внедрять новые технологии для изучения экспрессии гена не только из свежих образцов, но и из фиксированных формалином тканей в парафиновых блоках, тем самым позволяя проводить ретроспективные исследования с использованием молекулярных методов.

## ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Benjamin A., Michael M. Molecular nephropathology: ready for prime time? *Am J Physiol Renal Physiol* 2015; 309: F185–F188. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-32-36
2. Морозов С.Л., Длин В.В., Сухоруков В.С., Воронкова А.С. Молекулярная нефропатология: новые возможности диагностики заболеваний почек. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2017; 62(3): 32–36. [Morozov S.L., Dlin V.V., Sukhorukov V.S., Voronkova A.S. Molecular nephropathology: new possibilities for the diagnosis of kidney disease. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii* (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics) 2017; 62(3): 32–36. (in Russ)] DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-32-36
3. Mengel M., Campbell P.M., Gebel H., Randhawa P., Rodriguez E.R., Colvin R. et al. Precision diagnostics in transplantation: from bench to bedside. *Am J Transplant* 2013; 13: 562–568. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2012.04344.x
4. Traitanon O., Poggio E., Fairchild R. Molecular monitoring of alloimmune-mediated injury in kidney transplant patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2014; 23: 625–630. DOI: 10.1097/MNH.0000000000000064
5. Sis B., Jhangri G.S., Bunnag S., Allanach K., Kaplan B., Halloran P.F. Endothelial gene expression in kidney transplants with alloantibody indicates antibody-mediated damage despite lack of C4d staining. *Am J Transplant* 2009; 9: 2312–2323. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02761.x
6. Hidalgo L.G., Sis B., Sellares J., Campbell P.M., Mengel M., Einecke G. et al. NK cell transcripts and NK cells in kidney biopsies from patients with donorspecific antibodies: evidence for NK cell involvement in antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2010; 10: 1812–1822. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03201.x
7. Hidalgo L.G., Sellares J., Sis B., Mengel M., Chang J., Halloran P.F. Interpreting NK cell transcripts versus T cell transcripts in renal transplant biopsies. *Am J Transplant* 2012; 12: 1180–1191. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03970.x
8. Haas M., Sis B., Racusen L.C., Solez K., Glotz D., Colvin R.B. et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of C4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 2014; 14: 272–283. DOI: 10.1111/ajt.12590
9. Geiss G.K., Bumgarner R.E., Birditt B., Dahl T., Dowidar N., Dunaway D.L. et al. Direct multiplexed measurement of gene expression with color-coded probe pairs. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 317–325. DOI: 10.1038/nbt1385
10. Adam B., Afzali B., Dominy K.M., Chapman E., Gill R., Hidalgo L.G. et al. Multiplexed color-coded probe-based gene expression assessment for clinical molecular diagnostics in formalin-fixed paraffin-embedded human renal allograft tissue. *Clin Transplant* 2016; 30: 295–305. DOI: 10.1111/ctr.12689
11. Reis P.P., Waldron L., Goswami R.S., Xu W., Xuan Y., Perez-Ordóñez B. et al. mRNA transcript quantification in archival samples using multiplexed, color-coded probes. *BMC biotechnology* 2011; 11: 46. DOI: 10.1186/1472-6750-11-46
12. Sánchez-Navarro I., Gámez-Pozo A., González-Barón M., Pinto-Marín A., Hardisson D., López R. et al. Comparison of gene expression profiling by reverse transcription quantitative PCR between fresh frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded breast cancer tissues. *Biotechniques* 2010; 48(5): 389–397. DOI: 10.2144/000113388
13. Pascoe C.D., Obeidat M., Arsenaault B.A., Nie Y., Warner S., Stefanowicz D. et al. Gene expression analysis in asthma using a targeted multiplex array. *BMC Pulmonary Medicine* 2017; 17: 189. DOI: 10.1186/s12890-017-0545-9

14. Terakado M., Gon Y., Sekiyama A., Takeshita I., Koza Y., Matsumoto K. et al. The Rac1/JNK pathway is critical for EGFR-dependent barrier formation in human airway epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011; 300: 56–63. DOI: 10.1152/ajplung.00159.2010
15. Ong C.-T., Corces V.G. CTCF: an architectural protein bridging genome topology and function. *Nat Rev Genet* 2014; 15: 234–246. DOI: 10.1038/nrg3663
16. Youssef D.M., Elbehidy R.M., Abdelhalim H.S., Amr G.E. Soluble Interleukine-2 Receptor and MDR1 Gene Expression Levels as Inflammatory Biomarkers for Prediction of Steroid Response in Children With Nephrotic Syndrome. *Iran J Kidney Dis* 2011; 5(3): 154–161.
17. Хундерякова Н.В., Захарченко М.В., Ячкула Т.В., Плясунова С.В., Сухоруков В.С., Баранич Т.И. и др. Неповреждающие высокочувствительные цито биохимические показатели состояния митохондрий у человека для клинических исследований. В книге: Теоретическая и экспериментальная биофизика. Материалы конференции, посвященной 65-летию ИТЭБ РАН. М., 2017; 43. [Hunderyakova N.V., Zakharchenko M.V., Yachkula T.V., Plyasunova S.V., Sukhorukov V.S., Baranich T.I. et al. Non-damaging, highly sensitive cyto-biochemical indicators of the state of mitochondria in humans for clinical studies. In: Theoretical and Experimental Biophysics. Proc. of the conference dedicated to the 65th anniversary of ITEB RAS. Moscow, 2017; 43. (in Russ)]

Поступила: 20.07.18

Received on: 2018.07.20

*Конфликт интересов:*

*Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.*

*Conflict of interest:*

*The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported.*