

Результаты изучения комплекса рибосомных генов человека при муковисцидозе

Е.И.Кондратьева, Е.С.Ершова, Е.Д.Николаева , Н.Н.Вейко, В.Д.Шерман, Ю.Л.Мельяновская, С.А.Красовский, С.В.Костюк

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации: 115478, Москва, Россия, ул. Москворечье, 1

Резюме

Проблема увеличения продолжительности жизни больных муковисцидозом (МВ) является актуальной задачей здравоохранения всех стран. По данным Регистра больных МВ, в Российской Федерации (2020) число пациентов с МВ старше 18 лет составляет 26,5 %. Имеется предположение, что на примере МВ как модели ускоренного старения можно изучать процессы старения в целом. **Целью** исследования явился анализ числа копий рДНК в выборке пациентов с МВ в разные возрастные периоды и при летальных исходах в зависимости от функции легких, осложнений и инфекции респираторного тракта. **Материалы и методы.** Исследовались образцы ДНК, выделенной стандартным методом из лейкоцитов периферической крови у пациентов ($n = 277$) с установленным диагнозом МВ. В качестве контроля использовались образцы ДНК здоровых добровольцев ($n = 998$). **Результаты.** При изучении числа копий рДНК в геномах больных МВ показано, что у пациентов с МВ в геноме содержатся больше копий рДНК по сравнению с таковым в контрольной выборке. Установлено, что наибольшее количество копий рибосомных генов в образцах ДНК отмечалось у умерших пациентов ($p < 0,001$), и ассоциировалось с более тяжелым течением заболевания. В общей группе наибольшее количество копий рДНК в геноме зарегистрировано у пациентов с самыми низкими показателями объема форсированного выдоха за 1-ю секунду ($< 40\%$). Выявлено, что при хроническом инфицировании *Burkholderia cepacia complex* число копий рибосомных повторов было значительно выше в общей группе ($p = 0,001$) и у взрослых ($p = 0,014$). При других хронических инфекциях дыхательного тракта число рибосомных повторов не различалось между собой. **Заключение.** Самое высокое число копий рДНК в геноме (различия достоверны) наблюдались в группе умерших пациентов, пациентов с низкими показателями функции внешнего дыхания и при наличии инфекции *Burkholderia cepacia complex*. Можно предположить, что число копий рДНК в геноме пациентов с МВ является дополнительным прогностическим маркером, влияющим на продолжительность жизни больного.

Ключевые слова: муковисцидоз, продолжительность жизни, рДНК, рибосомные гены, функция легких, инфекция.

Конфликт интересов. Конфликт интересов авторами не заявлен.

Финансирование. Исследование не спонсировалось.

Этическая экспертиза. Исследование и форма информированного добровольного согласия были одобрены Комитетом по этике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» (председатель Этического комитета — профессор Л.Ф.Курило).

© Кондратьева Е.И. и соавт., 2023

Для цитирования: Кондратьева Е.И., Ершова Е.С., Николаева Е.Д., Вейко Н.Н., Шерман В.Д., Мельяновская Ю.Л., Красовский С.А., Костюк С.В. Результаты изучения комплекса рибосомных генов человека при муковисцидозе. *Пульмонология*. 2023; 33 (1): 7–16. DOI: 10.18093/0869-0189-2023-33-1-7-16

Study of human ribosomal gene complex in cystic fibrosis

Elena I. Kondratyeva, Elizaveta S. Ershova, Evgeniya D. Nikolaeva , Natal'ja N. Veyko, Victoria D. Sherman, Yuliya L. Mel'yanovskaya, Stanislav A. Krasovskiy, Svetlana V. Kostyuk

Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation: ul. Moskvorechye 1, Moscow, 115522, Russia

Abstract

Increasing the life expectancy of patients with CF is an urgent healthcare task all over the world. According to the Register of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation (2020), the number of patients over 18 years of age is 26.5%. Assumably, cystic fibrosis can be used as a model of accelerated aging to study the aging process in general. **Aim** of the study was to analyze the number of rDNA copies in a sample of cystic fibrosis patients at different ages and with lethal outcome in relation to lung function, complications, and respiratory tract infections. **Methods.** We studied DNA samples isolated by the standard method from peripheral blood leukocytes of 277 patients diagnosed with cystic fibrosis. 998 DNA samples from healthy volunteers were used as a control group. **Results.** The study showed that the genomes of patients with CF contain more rDNA copies than those of control patients. The greatest number of copies of ribosomal genes was observed in DNA samples from deceased patients ($p < 0.001$) and was associated with more severe disease course. Among all CF patients, the largest number of rDNA copies in the genome was registered in patients with the lowest FEV₁ values (less than 40%). It was found that patients with chronic *Burkholderia cepacia complex* infection had a significantly higher number of copies of ribosomal repeats than the total sample ($p = 0.001$) and the adults ($p = 0.014$). The number of ribosomal repeats did not differ between patients with other chronic respiratory tract infections. **Conclusion.** In the group of deceased patients, the patients with low respiratory function and *Burkholderia cepacia complex* infection had the highest number of rDNA copies in the genome, and the differences were significant. It can be assumed that the number of rDNA copies in the genome of CF patients is an additional prognostic marker that is associated with the patient's life expectancy.

Key words: cystic fibrosis, life expectancy, rDNA, ribosomal genes, lung function, infection.

Conflict of interests. The authors did not declare any conflicts of interests.

Funding. This study was not sponsored.

Ethical expertise. The study and the form of informed voluntary consent were approved by the Ethics Committee, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Chairman of the Ethics Committee – Professor L.F.Kurilo).
© Kondratyeva E.I. et al., 2023

For citation: Kondratyeva E.I., Ershova E.S., Nikolaeva E.D., Veyko N.N., Sherman V.D., Mel'yanovskaya Y.L., Krasovskiy S.A., Kostyuk S.V. Study of the human ribosomal gene complex in cystic fibrosis. *Pul'monologiya*. 2023; 33 (1): 7–16 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2023-33-1-7-16

Муковисцидоз (МВ) — часто наследственное моногенное заболевание с неблагоприятным прогнозом, обычно тяжелого течения, обусловленное мутацией гена *CFTR* (муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости), с аутосомно-рецессивным типом наследования, характеризующее системным поражением экзокринных желез жизненно важных органов [1].

Тяжесть состояния пациентов с МВ обусловлена в первую очередь бактериальным фоном бронхиального секрета, в связи с этим необходимы пожизненный мониторинг микробного пейзажа и использование комплексной терапии [2]. Эффективность антимикробной терапии, от которой зависят контроль над респираторной функцией и, в конечном счете, продолжительность жизни больных, и определение чувствительности к антибактериальным препаратам оцениваются при изучении структуры микрофлоры дыхательных путей у больных МВ [3].

Проблема увеличения продолжительности жизни пациентов с МВ является актуальной задачей здравоохранения всех стран. В Регистр (2020) включены данные больных МВ ($n = 3\,722$; 2 567 живых и 32 умерших; средний возраст — $13,7 \pm 9,7$ года; $Me = 11,4$ (12,4) года; возраст смерти — $17,3 \pm 10,7$ года; $Me = 15,5$ (13,1) года; старше 18 лет — 26,5 %) из 82 регионов РФ [4]. Можно предположить, что на примере МВ как модели ускоренного старения можно изучать процессы старения в целом.

Гены рибосомных РНК (рибосомные ДНК — рДНК, рибосомные повторы) являются наиболее многочисленными в геноме, они важны для функционирования клетки, поскольку рРНК составляют структурную основу рибосом. При этом гены рРНК — это высококонсервативные последовательности от бактерий к человеку [5]. Гены рРНК малой субъединицы (18S) и двух рРНК большой субъединицы (5.8S и 28S) рибосомы составляют одну транскрипционную единицу рибосомного повтора, число копий которого в геноме человека составляет в среднем 400 на 1 геном [6]. Биогенез рибосом влияет на способность клеток человека пролиферировать и нормально выполнять функции. Повторы расположены тандемно на коротких плечах 5 пар хромосом — 13, 14, 15, 21 и 22-й, формируя ядрышко-образующие районы, транскрипция рРНК определяет структуру ядрышек [7]. Однако главные функции ядрышек не ограничиваются только продукцией субъединиц для рибосом. Ядрышко посредством образования комплексов с белками обладает способностью влиять на многие клеточные процессы, определяющие функционирование клетки, включая координацию синтеза рибосом, прогрессию клеточного цикла и ответ клеток на стресс [7]. Нарушения в структуре

и функции ядрышка индуцируют в клетке апоптоз, старение и арест клеточного цикла [8]. Пространственная организация последовательностей генома вокруг ядрышка и взаимодействие определенных участков хроматина с ядрышком влияют на транскрипционную активность ряда генов [9]. Пространственная организация и локализация хромосом в ядре и их взаимодействие с другими ядерными субструктурами обеспечивают корректную регуляцию транскрипции и поддержание стабильности генома [10].

По результатам экспериментов *in vitro* на клеточных культурах показано, что эффективность реакции клетки на воздействие факторов, вызывающих окислительный стресс и повреждение ДНК, зависит от количества копий рДНК в геноме клетки. Чем меньше копий рДНК в геноме, тем больше клеток погибает после токсического воздействия [11].

Высокое количество копий рДНК в геноме также может быть токсичным для клеток [12]. При этом значимыми с точки зрения выживаемости и ожидаемой продолжительности жизни являются не число копий рДНК в геноме, а факторы неблагоприятного генетического фона, при которых требуется повышенный уровень рДНК. При этом перепроизводство белков в клетках может приводить к преждевременному старению из-за дефицита энергии, истощаемой этим процессом [13]. Замедление биогенеза рибосом и биосинтеза белка может рассматриваться как средство увеличения продолжительности жизни [14]. Соответственно, наиболее высокая продолжительность жизни может быть у индивидов, в геномах которых содержится среднее количество копий рДНК, что обеспечивает оптимальный уровень биогенеза рибосом [12].

Целью исследования явился анализ числа копий рДНК в выборке пациентов с МВ в разные возрастные периоды и при летальных исходах в зависимости от функции легких, осложнений и инфекции респираторного тракта.

Материалы и методы

Проведено одномоментное исследование в разных возрастных группах, в рамках которого изучались образцы ДНК, выделенной стандартным методом из лейкоцитов периферической крови пациентов ($n = 277$; возраст — 0–49 лет) с установленным диагнозом МВ, из которых 94 составили группу умерших. Общее соотношение мужчин и женщин всей выборки составило 1 : 0,96.

Диагноз МВ устанавливался согласно критериям клинических рекомендаций по МВ (2021) и национального консенсуса по МВ (2019) [2, 15]. Для оценки состояния пациентов и описания клинической картины

заболевания использовались данные регистра пациентов с МВ за 2011–2019 гг., согласно дате забора крови на ДНК-исследование для определения числа копий рибосомных генов. Информация для регистра была собрана из выписок историй болезни и амбулаторных карт пациентов из российских центров МВ. Формат регистра соответствовал Европейскому регистру больных МВ [16]. Исследование и форма информированного добровольного согласия были одобрены Комитетом по этике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (ФГБНУ «МГНЦ им. акад. Н.П.Бочкова» Минобрнауки России (председатель Этического комитета – профессор Л.Ф.Курило).

Все пациенты состояли на активном диспансерном наблюдении в научно-клиническом отделении МВ ФГБНУ «МГНЦ им. акад. Н.П.Бочкова» Минобрнауки России (клиническая база – отделение МВ Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области») и / или Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства.

Пациенты были распределены на 5 возрастных групп:

- 0–1 год (1-я группа);
- 1 год – 10 лет (2-я группа);
- 11–20 лет (3-я группа);
- 1–30 лет (4-я группа);
- 31–49 лет (5-я группа).

Умершие пациенты ($n = 94$; средний возраст – $24,7 \pm 5,6$ (медиана (Me) – $23,7$ ($20,8$; $27,4$)) года составили 6-ю группу.

Характеристика пациентов с МВ представлена в табл. 1.

В группах обследованных отмечены следующие статистически значимые различия по мере взросления пациентов:

- увеличение возраста установления диагноза;
- увеличение частоты хронической и интермиттирующей инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, хронического инфицирования *Burkholderia cepacia*, *Staphylococcus aureus*, *Achromobacter spp.*;
- снижение показателей функции внешнего дыхания (ФВД) – объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁) и форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ).

В структуре осложнений аллергический бронхолегочный аспергиллез, сахарный диабет, пневмоторакс, кровохарканье, полипоз верхних дыхательных путей и остеопороз преобладали в группах взрослых пациентов, особенно среди умерших, по сравнению с таковыми в группах детей.

Наибольшее количество «мягких» генотипов встречается в группах взрослых пациентов по сравнению с группами детей, среди которых, наоборот, преобла-

дает «тяжелый» генотип. Полученные результаты связаны с проведением неонатального скрининга с 2007 г. и поздней диагностикой заболевания у пациентов, родившихся до старта неонатального скрининга.

В 6-й группе (умерших) пациентов с «тяжелым» генотипом больше, чем в 5-й группе (31–49 лет).

В качестве контрольной группы использовались образцы ДНК ($n = 998$), собранные сотрудниками лаборатории молекулярной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в течение 10 лет. В выборку включены здоровые лица (56 % – мужчины) в возрасте 1–91 года (средний возраст – 39 ± 22 года), без мутаций в гене *CFTR* и других мутаций, ассоциированных с генетической патологией. Лица контрольной группы подробно охарактеризованы по данным предыдущих исследований [12, 17].

Нутритивный статус пациентов с МВ при описании клинической картины оценивался с помощью индекса массы тела (ИМТ) по *Quetelet* (масса (кг) / рост (м)²). При оценке нутритивного статуса детей (ИМТ) использовалась система перцентилей [18].

Состояние *функции легких* анализировалось при помощи показателей ФЖЕЛ и ОФВ₁ в группе детей, способных выполнить дыхательный маневр при проведении спирометрии [19–21].

Микробиологический статус бронхолегочной системы оценивался с помощью алгоритма микробиологической диагностики хронической инфекции легких у пациентов с МВ, включающий применение бактериологических, биохимических, других фенотипических методов (выявление гемолиза, способности образования биопленки) и молекулярно-биологических методов [2, 15]. Материалом при исследовании нижних дыхательных путей у больных МВ являются мокрота при кашле, мазок из зева после кашля, ларингеальный или назофарингеальный аспират, индуцированная гипертоническим раствором мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, материал щеточной биопсии при бронхоскопии.

Молекулярно-генетические методы исследования

Исследование генетических вариантов гена *CFTR* проводилось согласно алгоритму консенсуса «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия», раздел «Генетика муковисцидоза. Молекулярно-генетическая диагностика при муковисцидозе» [15].

Процедуры выделения ДНК из клеток крови, измерение концентрации ДНК в растворе осуществлялись следующим образом: ДНК выделялось стандартным методом экстракции органическими растворителями после предварительного лизиса клеток (сарколизат натрия и этилендиаминтетрауксусная кислота) и обработки лизата последовательно РНКазой А и протеиназой К. Исследование проводилось согласно ранее описанному протоколу [22].

Анализ интенсивности пятен на фильтре проводился с использованием программы *Imager 7.0*

Таблица 1

Клинико-лабораторная и инструментальная характеристика пациентов групп исследования

Table 1

Clinical, laboratory and instrumental characteristics of the study groups

Показатель	Группа						p
	до 1 года (1-я)	до 10 лет (2-я)	11–20 лет (3-я)	21–30 лет (4-я)	31–49 лет (5-я)	умершие (6-я)	
Число пациентов, n	35	26	32	48	42	94	–
Возраст, годы:							
• M ± SD	0,8 ± 1,0	5,2 ± 3,4	16,3 ± 2,6	26,1 ± 2,8	37,6 ± 5,4	24,7 ± 5,6	–
• Me (IQR)	0,6 (0,4)	5,0 (6,8)	16,0 (5,3)	26,2 (4,3)	34,9 (9,6)	23,7 (6,6)	
• Me (Q25; Q75)	0,6 (0,5; 0,9)	5,0 (1,6; 8,0)	16,0 (13,8; 18,9)	26,2 (23,8; 28,1)	34,9 (33,1; 42,3)	23,73 (20,8; 27,4)	
Пол, n (%):							
• мужской	21 (60,0)	8 (30,8)	14 (43,8)	25 (52,1)	18 (42,9)	55 (58,5)	0,097
• женский	14 (40,0)	18 (69,2)	18 (56,2)	23 (47,9)	24 (57,1)	39 (41,5)	
Возраст установления диагноза, годы:							
• M ± SD	0,1 ± 0,1	0,8 ± 1,1	2,5 ± 3,9	7,4 ± 7,5	15,8 ± 14,4	6,2 ± 8,2	< 0,001
• Me (IQR)	0,1 (0,1)	0,3 (1,1)	0,9 (2,1)	5,2 (11,0)	12,2 (23,4)	2,6 (8,8)	
• Me (Q25; Q75)	0,1 (0,1; 0,2)	0,3 (0,1; 1,2)	0,9 (0,3; 2,2)	5,2 (1,1; 11,8)	12,2 (2,2; 25,0)	2,6 (0,6; 9,4)	
Фекальная эластаза, мкг / г стула; n (%):							
• < 200	30 (90,9)	23 (100,0)	19 (100,0)	1 (100,0)	1 (50,0)	4 (57,1)	< 0,001
• ≥ 200	3 (9,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (50,0)	3 (42,9)	
Микробиологическое исследование, n (%):							
Хроническое инфицирование <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (2,9)	6 (23,1)	16 (50,0)	39 (81,3)	21 (50,0)	57 (62,0)	< 0,001
Интермиттирующий высев <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2 (6,1)	2 (8,0)	7 (21,9)	4 (9,1)	11 (26,2)	5 (5,5)	0,05
Хроническое инфицирование <i>Staphylococcus aureus</i>	21 (61,8)	16 (61,5)	23 (71,9)	27 (56,3)	26 (61,9)	39 (42,4)	0,042
MRSA	1 (3,7)	0 (0,0)	2 (6,7)	4 (8,3)	1 (2,5)	4 (4,6)	0,645
Хроническое инфицирование <i>Burkholderia cepacia</i>	1 (2,9)	1 (3,8)	2 (6,3)	6 (12,5)	3 (7,1)	42 (46,2)	< 0,001
<i>Nontuberculous mycobacteria</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (10,3)	3 (4,2)	0,311
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (5,9)	0 (0,0)	2 (6,3)	1 (2,2)	2 (5,0)	6 (7,1)	0,679
<i>Achromobacter spp.</i>	0 (0,0)	1 (4,0)	6 (19,4)	7 (14,6)	9 (22,5)	7 (8,3)	0,017
Респираторная функция							
Число пациентов, n	0	7	31	48	41	73	< 0,001
ОФВ ₁ , % долж.	–	83,8 ± 22,7	74,6 ± 21,7	50,6 ± 23,7	41,9 ± 23,0	34,9 ± 15,2	
Число пациентов, n	0	7	31	48	41	73	< 0,001
ФЖЕЛ, % долж.	–	90,1 ± 25,6	84,6 ± 18,3	72,9 ± 21,1	66,7 ± 25,4	57,9 ± 17,8	
Осложнения заболевания, n (%):							
АБЛА	0	0	3 (9,4)	0	0	5 (5,4)	0,045
Сахарный диабет	0	0	2 (6,3)	5 (10,4)	3 (7,1)	15 (16,1)	0,031
Пневмоторакс	0	0	0	1 (2,1)	1 (2,4)	10 (10,9)	0,012
Кровохарканье	0	0	0	4 (8,9)	6 (14,3)	12 (13,8)	0,016
Остеопороз	0	1 (5,6)	4 (16,7)	11 (30,6)	10 (25,0)	49 (61,3)	< 0,001
Полипоз верхних дыхательных путей	0	2 (8,7)	9 (31,0)	9 (34,6)	13 (41,9)	6 (21,4)	0,001
Цирроз печени с гипертензией	0	1 (3,8)	4 (12,5)	1 (2,1)	1 (2,4)	9 (9,6)	0,889
Генотип, n (%):							
• F508del / F508del	18 (51,4)	17 (65,4)	20 (62,5)	15 (31,3)	4 (9,5)	21 (22,3)	< 0,001
• F508del / другая	12 (34,3)	9 (34,6)	7 (21,9)	25 (52,1)	21 (50,0)	53 (56,4)	
• другая / другая	5 (14,3)	0 (0,0)	5 (15,6)	8 (16,7)	17 (40,5)	20 (21,3)	
• тяжелый	33 (97,1)	27 (100,0)	31 (96,9)	40 (85,1)	17 (41,5)	63 (67,7)	< 0,001
• мягкий	1 (2,9)	0	1 (3,1)	7 (14,9)	24 (58,5)	30 (32,3)	

Примечание: Me – медиана; MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) – метициллинрезистентный золотистый стафилококк; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких; АБЛА – аллергический бронхолегочный аспергиллез.

(ФГБНУ «МГНЦ им. акад. Н.П.Бочкова» Минобрнауки России). Относительная стандартная ошибка метода нерадиоактивной количественной гибридизации (Non-Radioactive Quantitative Hybridization (NQH)) составила 5 %. Средняя стандартная ошибка эксперимента, которая включает в себя все процедуры (выделение ДНК, определение концентрации ДНК и метод NQH) составляет 11 % от измеряемой величины. Анализ образцов ДНК на содержание рДНК проводился дважды в независимых опытах. В рамках одного опыта на фильтр наносились по 4 параллельные пробы одного и того же образца.

Статистическая обработка. Выборки людей по содержанию рДНК сравнивались методом Манна–Уитни (p). Распределение образцов по содержанию рДНК сравнивались методом Колмогорова–Смирнова (D и α). Данные анализировались с применением программы StatPlus-2007 (<http://www.analystsoft.com/>). Анализ клинических данных проводился в программе IBM SPSS Statistics 24. В зависимости от вида распределения мерами центральной тенденции и рассеяния служили среднее значение (M) \pm стандартное отклонение (SD) или медиана (Me), а также нижний и верхний квартиль – $Q1$ (25 %) и $Q3$ (75 %). Статистическая обработка проводилась с использованием критериев Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, Данна с поправкой Бонферрони, точного критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Для сравнения связанных совокупностей (анализ «до / после») использовались критерии Уилкоксона, тест Мак-Немара.

Результаты

При изучении числа копий рДНК в геномах у умерших пациентов с МВ показано содержание большего числа копий по сравнению с таковым в контрольной выборке (см. рисунок).

В ходе исследования изучено среднее количество копий рДНК во всех 6 группах. Наибольшее количество копий рибосомных генов в образцах ДНК отмечалось в группе умерших пациентов по сравнению с таковым в остальных группах ($p < 0,001$) (табл. 2).

Число копий рДНК в геноме встречается в процентном соотношении чаще в группе умерших пациентов (см. рисунок), это свидетельствует о том, что большое число копий рДНК в геноме ассоциировано с более тяжелым течением заболевания.

По данным исследования изучалось изменение количества копий рДНК в геноме в соответствии с показателями ФВД – ФЖЕЛ и ОФВ₁ (табл. 3). По уровню ОФВ₁ статистически значимые различия получены в общей группе, где наибольшее количество копий рДНК в геноме зарегистрировано у пациентов с самыми низкими показателями ОФВ₁ (< 40 %). В группах взрослых и детей различия были статистически незначимыми.

По показателю ФЖЕЛ получены статистически значимые различия в общей группе и группе взрослых пациентов. Отмечено, что наибольшее число копий рДНК в геноме составляет $609,2 \pm 128,5$ в общей группе и $612,2 \pm 131,7$ – в группе взрослых пациентов при ФЖЕЛ 40–70 %. Стоит отметить, что количество

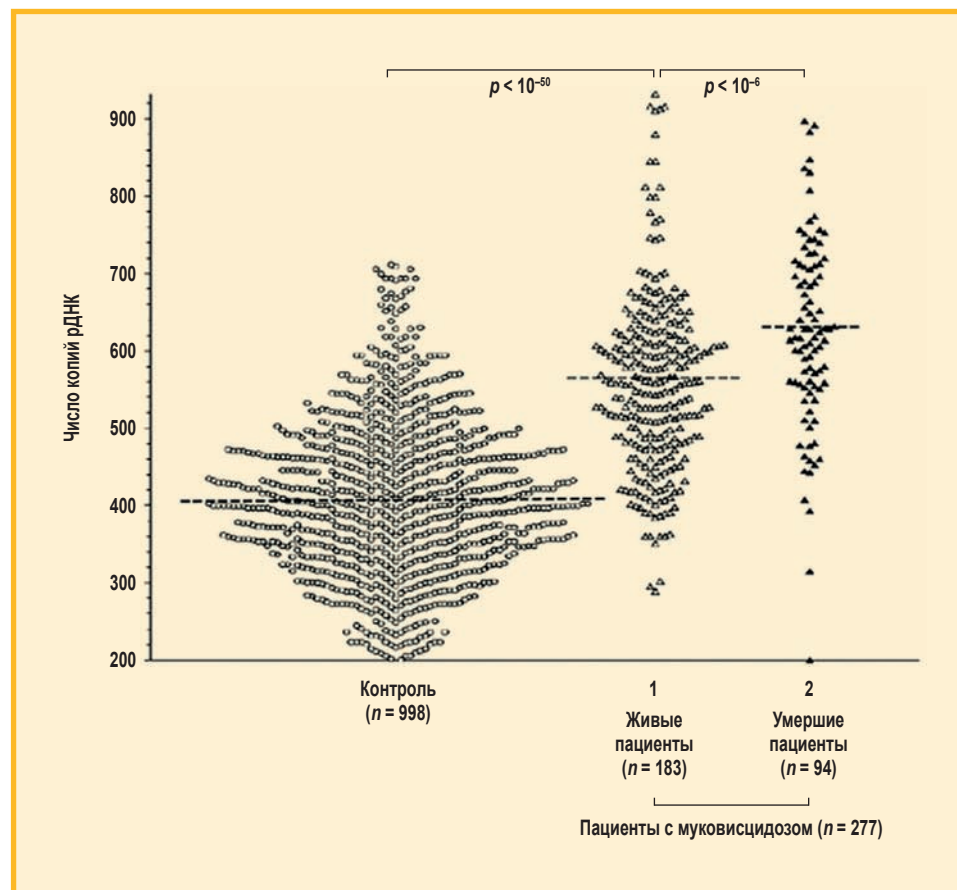


Рисунок. Распределение пациентов с муковисцидозом по числу копий рДНК в сравнении с контрольной выборкой
Figure. Distribution of cystic fibrosis patients by rDNA copy number in comparison with the control sample

Таблица 2
Количество копий рДНК в геноме пациентов с муковисцидозом ($M \pm SD$)

Table 2
Number of rDNA copies in the genome of patients with cystic fibrosis ($M \pm SD$)

Показатель	Группа						p	p_{2-6}	p_{3-6}	p_{4-6}
	до 1 года (1-я)	до 10 лет (2-я)	11–20 лет (3-я)	21–30 (4-я)	31–49 лет (5-я)	умершие (6-я)				
	n = 35	n = 26	n = 32	n = 48	n = 42	n = 94				
Количество копий рДНК в геноме	592,5 ± 157,0	526,2 ± 93,3	525,6 ± 102,7	559,7 ± 137,9	569,3 ± 92,2	627,8 ± 129,8	< 0,001	0,001	< 0,001	0,017

Таблица 3
Среднее количество копий рДНК в геноме у пациентов с различными показателями функции внешнего дыхания ($M \pm SD$)

Table 3
Mean number of rDNA copies in the genome of patients with different respiratory function ($M \pm SD$)

Показатель	Группа		
	общая	взрослые	дети
ОФВ ₁ , % допж.:			
• < 40 (1)	600,2 ± 132,5	600,4 ± 133,3	597,0 ± 129,8
• 40–70 (2)	576,2 ± 120,6	575,4 ± 129,5	581,2 ± 29,8
• > 70 (3)	545,5 ± 102,4	547,7 ± 111,3	542,1 ± 89,8
p	0,034	0,134	0,157
	$p_{1-3} = 0,029$	–	–
ФЖЕЛ, % допж.:			
• < 40 (1)	546,5 ± 101,1	546,5 ± 101,1	–
• 40–70 (2)	609,2 ± 128,5	612,2 ± 131,7	580,0 ± 94,0
• > 70 (3)	559,1 ± 119,9	561,3 ± 129,2	552,5 ± 86,3
p	0,014	0,026	0,451
	$p_{2-3} = 0,028$	$p_{2-3} = 0,05$	–

копий рДНК в геноме при показателях ФЖЕЛ < 40 % и > 70 % в обеих группах изменялось незначительно. В группе детей различия показателей не были статистически значимыми.

При изучении микробиологического статуса дыхательного тракта и рибосомных повторов (табл. 4) выявлено, что в группах пациентов с хроническим инфицированием *Burkholderia cepacia complex* число копий рибосомных повторов было значительно выше в общей группе ($p = 0,001$) и группе взрослых

($p = 0,014$) пациентов. При других хронических инфекциях дыхательного тракта число рибосомных повторов не различалось между собой.

Оценивались различия по среднему количеству рДНК у пациентов с основными осложнениями МВ (аллергический бронхолегочный аспергиллез, легочное кровотечение, пневмоторакс, полипоз верхних дыхательных путей, низкая костная масса, цирроз печени) и без таковых. Статистически значимые различия выявлены только в группах детей с низкой

Таблица 4
Хроническое инфицирование *Burkholderia cepacia complex* и число копий рДНК в геноме у пациентов с муковисцидозом общей группы, детей и взрослых ($M \pm SD$)

Table 4
Chronic infection with *Burkholderia cepacia complex* and rDNA copy number in the genome in the general group, children and adults with cystic fibrosis ($M \pm SD$)

Группа	Нет инфекции	<i>Burkholderia cepacia complex</i>	p
Общая	565,2 ± 121,7	628,2 ± 130,5	0,001
Взрослые	571,0 ± 125,9	626,6 ± 131,0	0,014
Дети	555,2 ± 114,1	655,0 ± 145,5	0,251

костной массой. Среднее количество рДНК было достоверно выше у детей с остеопорозом ($654,7 \pm 79,9$ vs $520,5 \pm 91,6$; $p = 0,001$).

Обсуждение

В последние годы появляются данные, свидетельствующие о том, что функции рибосомных генов в эукариотической клетке не ограничиваются только биогенезом рибосом [23]. Рибосомные гены играют важную роль в регуляции пространственной структуры всего хроматина ядра. Рибосомная ДНК образует множественные контакты с другими фрагментами хроматина. Показано, что изменение размера кластера рДНК сопровождается значительными изменениями уровня экспрессии многих генов, которые локализованы на значительном пространственном расстоянии от ядрышка [24–26]. Эпигенетические нарушения в работе ряда генов вследствие изменения структуры хроматина в клетках с большим количеством копий рДНК могут вызывать негативные изменения в клеточном метаболизме и способствовать снижению продолжительности жизни.

По данным исследования вариабельности числа копий рДНК у человека указывается на то, что этот генетический признак является стабильным для индивида. Число копий рДНК одинаково в клетках различного типа одного организма. В условиях окислительного, генотоксического стресса число копий рДНК также не изменяется [27, 28]. Исключение составляют гиперметилированные копии рДНК, которые присутствуют в 10 % геномов человека [6]. Эти копии неактивны и находятся на периферии ядрышка в составе гетерохроматина, который окружает ядрышко. При репликативном старении клеточных культур (фибробласты кожи) эти копии могут элиминироваться из генома, вследствие чего наблюдается снижение содержания рДНК в ДНК клеток примерно на 5–20 % [12].

Изменение числа копий рДНК может происходить при канцерогенезе. В клетках опухоли число копий рДНК может изменяться по сравнению с таковым в здоровых клетках организма [29]. Однако нет данных, которые бы подтверждали изменение числа копий рДНК по мере старения организма одного и того же человека.

В данном исследовании в группе умерших больных МВ наблюдались самые высокие значения числа копий рДНК, наименьшие показатели ФВД, наибольшее число осложнений и частоты грамотрицательной антибиотикорезистентной микрофлоры, вызывающей микробно-воспалительное поражение дыхательного тракта (см. табл. 1).

Большое количество рДНК в геноме способствует более активному синтезу белка. Это очень энергозатратный процесс. Предполагается, что до 80 % аденозинтрифосфата в клетке расходуется на процессы биогенеза рибосом и трансляции [30]. При этом известно, что для пациентов с МВ характерно частое развитие белково-энергетической недостаточности, которая прогрессирует с возрастом [1]. Кроме того,

энергетическая ценность рациона пациентов и потребление белка не соответствует повышенным потребностям при МВ и прогрессивно снижается с возрастом [31]. Таким образом, клеткам с высоким уровнем рДНК может не хватать энергии для нормального функционирования, особенно в условиях гипоксии на фоне снижения ФВД и энергозатратном хроническом воспалении в дыхательном тракте, вызванном *Burkholderia cepacia complex*, подобном септическому воспалению.

Высокое содержание рДНК в геноме человека, так же, как и очень низкое содержание, не способствуют долгожительству. Наблюдаемые значительные изменения распределения числа копий в различных контрольных возрастных группах ранее трактовались следующим образом: до глубокой старости не доживают люди с низкими (< 300) и высокими (> 500) значениями числа копий рДНК в геноме [22]. В то же время показано, что снижение уровня биогенеза рибосом положительно влияет на метаболизм пожилых организмов и является одним из способов увеличения продолжительности жизни [14]. Кроме того, высокий уровень трансляции может приводить к накоплению в клетке мутантных форм белка — продукта гена *CFTR*. Возможно, при снижении уровня биогенеза рибосом в некоторых случаях может улучшиться состояние больных МВ.

Еще одно неблагоприятное следствие высокого уровня рДНК в геноме — это увеличение выживаемости клеток с поврежденной ДНК и снижение уровня апоптоза и аутофагии. Накопление поврежденных клеток может привести к аномальному функционированию тканей организма, что у пациентов с МВ проявляется полиорганным поражением, а в данном исследовании — снижением ФВД, увеличением числа осложнений в группе умерших пациентов.

Заключение

В геномах у пациентов с МВ содержится повышенное количество копий рибосомных генов по сравнению с таковым у пациентов здорового контроля. Самое высокое число копий рДНК в геноме наблюдались в группе умерших больных, пациентов с низкой ФВД, при наличии инфекции *Burkholderia cepacia complex* (различия достоверны). Можно предположить, что число копий рДНК в геноме пациентов с МВ является дополнительным прогностическим маркером, влияющим на продолжительность жизни больного.

Литература

1. Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., Кондратьева Е.И., ред. Муковисцидоз. 2-е изд. М.: Медпрактика-М; 2021. Доступно на: <https://medknigaservis.ru/product/mukovistsioz/>
2. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Кистозный фиброз (муковисцидоз): Клинические рекомендации. 2021. Доступно на: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/372_2?yclid=lc4k47m9jt879568471
3. Сиянова Е.А., Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р. и др. Мониторинг хронической инфекции легких у больных муковисцидозом, вызванной бактериями *Pseudomonas aeruginosa*. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского*. 2018; 97 (2): 77–86. Доступно

- на: <https://pediatrjournal.ru/archive?show=363§ion=5188&ysclid=lc4ko59jei186671312>
4. Кондратьева Е.И., Красовский С.А., Старинова М.А. и др., ред. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2020 год. М.: Медпрактика-М; 2022. Доступно на: https://api.med-gen.ru/site/assets/files/51107/site_registre_2020.pdf
 5. Kobayashi T. Regulation of ribosomal RNA gene copy number and its role in modulating genome integrity and evolutionary adaptability in yeast. *Cell. Mol. Life Sci.* 2011; 68 (8): 1395–1403. DOI: 10.1007/s00018-010-0613-2.
 6. Ляпунова Н.А., Вейко Н.Н. Рибосомные гены в геноме человека: идентификация четырех фракций, их организация в ядрышке и метафазных хромосомах. *Генетика*. 2010; 46 (9): 1205–1209. DOI: 10.1134/S1022795410090140.
 7. Pederson T. The nucleolus. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2011; 3 (3): a000638. DOI: 10.1101/cshperspect.a000638.
 8. Bursac S., Brdovcak M.C., Donati G., Volarevic S. Activation of the tumor suppressor p53 upon impairment of ribosome biogenesis. *Biochim. Biophys. Acta*. 2014; 1842 (6): 817–830. DOI: 10.1016/j.bbdis.2013.08.014.
 9. Németh A., Längst G. Genome organization in and around the nucleolus. *Trends Genet.* 2011, 27 (4): 149–156. DOI: 10.1016/j.tig.2011.01.002.
 10. Misteli T. Concepts in nuclear architecture. *Bioessays*. 2005; 27 (5): 477–487. DOI: 10.1002/bies.20226.
 11. Вейко Н.Н., Терехов С.В., Шубаева Н.О. и др. «Ранний» и «поздний» ответ культивируемых фибробластов кожи здоровых доноров и больных ревматоидным артритом на окислительный стресс. Взаимосвязь между интенсивностью гибели клеток и количеством активных копий рибосомных генов. *Молекулярная биология*. 2005; 39 (2): 264–275. Доступно на: <http://molecbio.ru/?view=article&id=2063>
 12. Malinovskaya E.M., Ershova E.S., Golimbet V.E. et al. Copy number of human ribosomal genes with aging: unchanged mean, but narrowed range and decreased variance in elderly group. *Front. Genet.* 2018; 9: 306. DOI: 10.3389/fgene.2018.00306.
 13. Eriksson M., Brown W.T., Gordon L.B. et al. Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature*. 2003; 423 (6937): 293–298. DOI: 10.1038/nature01629.
 14. Tiku V., Jain C., Raz Y. et al. Small nucleoli are a cellular hallmark of longevity. *Nat. Commun.* 2017; 8: 16083. DOI: 10.1038/ncomms16083.
 15. Кондратьева Е.И., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., ред. Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия». 2-е изд. М.: Боргес; 2019. Доступно на: <https://mukoviscidoz.org/doc/konsensus/2019/konsensus-2019-bez-rentgenogram.pdf?ysclid=lc4fwl36qt378677355>
 16. European Cystic Fibrosis Society. ECFS Patient Registry. [Update: June 20, 2022]. Available at: <https://www.ecfs.eu/ecfspr>
 17. Ershova E.S., Malinovskaya E.M., Golimbet V.E. et al. Copy number variations of satellite III (1q12) and ribosomal repeats in health and schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2020; 223: 199–212. DOI: 10.1016/j.schres.2020.07.022.
 18. Sinaasappel M., Stern M., Littlewood J. et al. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J. Cyst. Fibros.* 2002; 1 (2): 51–75. DOI: 10.1016/s1569-1993(02)00032-2.
 19. Кондратьева Е.И., Красовский С.А., Воронкова А.Ю. и др. Функция легких детей и подростков больных муковисцидозом в Российской Федерации. *Педиатрия*. 2016; 95 (4): 136–142. Доступно на: https://pediatrjournal.ru/files/upload/mags/353/2016_4_4678.pdf?ysclid=lc4ma2b27a319552901
 20. Miller M.R., Hankinson J., Brusasco V. et al. Standardisation of spirometry. *Eur. Respir. J.* 2005; 26 (2): 319–338. DOI: 10.1183/09031936.05.00034805.
 21. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V. et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur. Respir. J.* 2005; 26 (5): 948–968. DOI: 10.1183/09031936.05.00035205.
 22. Кондратьева Е.И., Ершова Е.С., Воронкова А.Ю. и др. Вариация числа копий рибосомных генов в геномах больных муковисцидозом. *Медицинская генетика*. 2021; 20 (2): 49–60. DOI: 10.25557/2073-7998.2021.02.49-60.
 23. Bersaglieri C., Santoro R. Genome organization in and around the nucleolus. *Cells*. 2019; 8 (6): 579. DOI: 10.3390/cells8060579.
 24. Paredes S., Branco A.T., Hartl D.L. et al. Ribosomal DNA deletions modulate genome-wide gene expression: “rDNA-sensitive” genes and natural variation. *PLoS Genet.* 2011; 7 (4): e1001376. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001376.
 25. Yu S., Lemos B. The long-range interaction map of ribosomal DNA arrays. *PLoS Genet.* 2018; 14 (3): e1007258. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007258.
 26. Tchurikov N.A., Fedoseeva D.M., Klushevskaya E.S. et al. rDNA clusters make contact with genes that are involved in differentiation and cancer and change contacts after heat shock treatment. *Cells*. 2019; 8 (11): 1393. DOI: 10.3390/cells8111393.
 27. Ershova E.S., Malinovskaya E.M., Konkova M.S. et al. Copy number variation of human satellite III (1q12) with aging. *Front. Genet.* 2019; 10: 704. DOI: 10.3389/fgene.2019.00704.
 28. Konkova M.S., Ershova E.S., Savinova E.A. et al. 1Q12 Loci movement in the interphase nucleus under the action of ROS is an important component of the mechanism that determines copy number variation of satellite III (1q12) in health and schizophrenia. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020; 8: 386. DOI: 10.3389/fcell.2020.00386.
 29. Xu B., Li H., Perry J.M. et al. Ribosomal DNA copy number loss and sequence variation in cancer. *PLoS Genet.* 2017; 13 (6): e1006771. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006771.
 30. MacInnes A.W. The role of the ribosome in the regulation of longevity and lifespan extension. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2016; 7 (2): 198–212. DOI: 10.1002/wrna.1325.
 31. Максимычева Т.Ю., Кондратьева Е.И., Сорвачева Т.Н. Оценка и коррекция нутритивного статуса у детей с муковисцидозом. *Вопросы практической педиатрии*. 2018; 13 (5): 24–32. DOI: 10.20953/1817-7646-2018-5-24-32.

Поступила: 08.08.22
Принята к печати: 04.10.22

References

1. Kashirskaya N.Ju., Kapranov N.I., Kondratyeva E.I., ed. [Cystic fibrosis]. 2nd edn. Moscow: Medpraktika-M; 2021. Available at: <https://medknigaservis.ru/product/mukovistsioz/> (in Russian).
2. Ministry of Health of the Russian Federation. [Cystic fibrosis: Clinical guidelines]. 2021. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/scheme/372_2?ysclid=lc4k47m9jt879568471 (in Russian).
3. Siyanova E.A., Chernuha M.Ju., Avetisyan L.R. et al. [Monitoring of chronic lung infection in patients with cystic fibrosis caused by *Pseudomonas aeruginosa*]. *Pediatr. Zhurnal imeni G.N.Speranskogo*. 2018; 97 (2): 77–86. Available at: <https://pediatrjournal.ru/archive?show=363§ion=5188&ysclid=lc4ko59jei186671312> (in Russian).
4. Kondratyeva E.I., Krasovskiy S.A., Starinova M.A. et al., eds. [Register of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation. 2020]. Moscow: Medpraktika-M; 2022. Available at: https://api.med-gen.ru/site/assets/files/51107/site_registre_2020.pdf (in Russian).
5. Kobayashi T. Regulation of ribosomal RNA gene copy number and its role in modulating genome integrity and evolutionary adaptability in yeast. *Cell. Mol. Life Sci.* 2011; 68 (8): 1395–1403. DOI: 10.1007/s00018-010-0613-2.
6. Lyapunova N.A., Veyko N.N. [Ribosomal genes in the human genome: identification of four fractions, their organization in the nucleolus and metaphase chromosomes]. *Genetika*. 2010; 46 (9): 1205–1209. DOI: 10.1134/S1022795410090140 (in Russian).
7. Pederson T. The nucleolus. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2011; 3 (3): a000638. DOI: 10.1101/cshperspect.a000638.
8. Bursac S., Brdovcak M.C., Donati G., Volarevic S. Activation of the tumor suppressor p53 upon impairment of ribosome biogenesis. *Biochim. Biophys. Acta*. 2014; 1842 (6): 817–830. DOI: 10.1016/j.bbdis.2013.08.014.
9. Németh A., Längst G. Genome organization in and around the nucleolus. *Trends Genet.* 2011, 27 (4): 149–156. DOI: 10.1016/j.tig.2011.01.002.
10. Misteli T. Concepts in nuclear architecture. *Bioessays*. 2005; 27 (5): 477–487. DOI: 10.1002/bies.20226.
11. Veyko N.N., Terehov S.V., Shubaeva N.O. et al. [Early and late responses to oxidative stress in human dermal fibroblasts of healthy donors and rheumatoid arthritis patients. Relationship between the cell death rate and the genomic dosage of active ribosomal genes].

- Molekulyarnaya biologiya*. 2005; 39 (2): 264–275. Available at: <http://molecbio.ru/?view=article&id=2063> DOI: 10.1007/s11008-005-0034-8 (in Russian).
12. Malinovskaya E.M., Ershova E.S., Golimbet V.E. et al. Copy number of human ribosomal genes with aging: unchanged mean, but narrowed range and decreased variance in elderly group. *Front. Genet.* 2018; 9: 306. DOI: 10.3389/fgene.2018.00306.
 13. Eriksson M., Brown W.T., Gordon L.B. et al. Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature*. 2003; 423 (6937): 293–298. DOI: 10.1038/nature01629.
 14. Tiku V., Jain C., Raz Y. et al. Small nucleoli are a cellular hallmark of longevity. *Nat. Commun.* 2017; 8: 16083. DOI: 10.1038/ncomms16083.
 15. Kondratyeva E.I., Kashirskaya N.Yu., Kapranov N.I., eds. [National consensus “Cystic fibrosis: definition, diagnostic criteria, therapy”]. 2nd edn. Moscow: Borges; 2019. Available at: <https://mukoviscidoz.org/doc/konsensus/2019/konsensus-2019-bez-rentgenogram.pdf?ysclid=lc4wl36qt378677355> (in Russian).
 16. European Cystic Fibrosis Society. ECFS Patient Registry. [Update: June 20, 2022]. Available at: <https://www.ecfs.eu/ecfspr>
 17. Ershova E.S., Malinovskaya E.M., Golimbet V.E. et al. Copy number variations of satellite III (1q12) and ribosomal repeats in health and schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2020; 223: 199–212. DOI: 10.1016/j.schres.2020.07.022.
 18. Sinaasappel M., Stern M., Littlewood J. et al. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J. Cyst. Fibros.* 2002; 1 (2): 51–75. DOI: 10.1016/s1569-1993(02)00032-2.
 19. Kondratyeva E.I., Krasovskiy S.A., Voronkova A.Ju. et al. [Lung function in children and adolescents with cystic fibrosis in the Russian Federation]. *Pediatr. J.* 2016; 95 (4): 136–142. Available at: https://pediatrjournal.ru/files/upload/mags/353/2016_4_4678.pdf?ysclid=lc4ma2b27a319552901 (in Russian).
 20. Miller M.R., Hankinson J., Brusasco V. et al. Standardisation of spirometry. *Eur. Respir. J.* 2005; 26 (2): 319–338. DOI: 10.1183/09031936.05.00034805.
 21. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V. et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur. Respir. J.* 2005; 26 (5): 948–968. DOI: 10.1183/09031936.05.00035205.
 22. Kondratyeva E.I., Ershova E.S., Voronkova A.Ju. et al. [Variation in the number of copies of ribosomal genes in the genomes of patients with cystic fibrosis]. *Meditsinskaya genetika*. 2021; 20 (2): 49–60. DOI: 10.25557/2073-7998.2021.02.49-60 (in Russian).
 23. Bersaglieri C., Santoro R. Genome organization in and around the nucleolus. *Cells*. 2019; 8 (6): 579. DOI: 10.3390/cells8060579.
 24. Paredes S., Branco A.T., Hartl D.L. et al. Ribosomal DNA deletions modulate genome-wide gene expression: “rDNA-sensitive” genes and natural variation. *PLoS Genet.* 2011; 7 (4): e1001376. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001376.
 25. Yu S., Lemos B. The long-range interaction map of ribosomal DNA arrays. *PLoS Genet.* 2018; 14 (3): e1007258. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007258.
 26. Tchurikov N.A., Fedoseeva D.M., Klushevskaya E.S. et al. rDNA clusters make contact with genes that are involved in differentiation and cancer and change contacts after heat shock treatment. *Cells*. 2019; 8 (11): 1393. DOI: 10.3390/cells8111393.
 27. Ershova E.S., Malinovskaya E.M., Konkova M.S. et al. Copy number variation of human satellite III (1q12) with aging. *Front. Genet.* 2019; 10: 704. DOI: 10.3389/fgene.2019.00704.
 28. Konkova M.S., Ershova E.S., Savinova E.A. et al. 1Q12 Loci movement in the interphase nucleus under the action of ROS is an important component of the mechanism that determines copy number variation of satellite III (1q12) in health and schizophrenia. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020; 8: 386. DOI: 10.3389/fcell.2020.00386.
 29. Xu B., Li H., Perry J.M. et al. Ribosomal DNA copy number loss and sequence variation in cancer. *PLoS Genet.* 2017; 13 (6): e1006771. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006771.
 30. MacInnes A.W. The role of the ribosome in the regulation of longevity and lifespan extension. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. 2016; 7 (2): 198–212. DOI: 10.1002/wrna.1325.
 31. Maksimycheva T.Ju., Kondratyeva E.I., Sorvachjova T.N. [Assessment and correction of nutritional status in children with cystic fibrosis]. *Voprosy prakticheskoy pediatrii*. 2018; 13 (5): 24–32. DOI: 10.20953/1817-7646-2018-5-24-32 (in Russian).

Received: August 08, 2022

Accepted for publication: October 04, 2022

Информация об авторах / Authors Information

Кондратьева Елена Ивановна — д. м. н., профессор, руководитель научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 111-03-03; e-mail: elenafpk@mail.ru (ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6395-0407>)

Elena I. Kondratyeva, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Scientific and Clinical Department of cystic fibrosis, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 111-03-03; e-mail: elenafpk@mail.ru (ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6395-0407>)

Ершова Елизавета Сергеевна — к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 111-03-03; e-mail: es-ershova@rambler.ru (WoS Research ID: E-3220-2015; Scopus ID: 7004664097; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1206-5832>)

Elizaveta S. Ershova, Candidate of Biology, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 111-03-03; e-mail: es-ershova@rambler.ru (WoS Research ID: E-3220-2015; Scopus ID: 7004664097; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1206-5832>)

Николаева Евгения Доржиевна — научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 111-03-03; e-mail: eugenia786@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9365-3048>)

Evgeniya D. Nikolaeva, Researcher, Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 111-03-03; e-mail: eugenia786@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9365-3048>)

Вейко Наталья Николаевна — д. б. н., доцент, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 111-03-03; e-mail: ribgene@rambler.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1847-0548>)

Natal'ja N. Veyko, Doctor of Biology, Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 111-03-03; e-mail: ribgene@rambler.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1847-0548>)

Шерман Виктория Давидовна — к. м. н., ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 111-03-03; e-mail: tovika@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000000322061528>)

Victoria D. Sherman, Candidate of Medicine, Leading Researcher, Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 111-03-03; e-mail: tovika@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000000322061528>)

Мельяновская Юлия Леонидовна — научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 111-03-03; e-mail: mgnc@med-gen.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8814-5532>)

Yuliya L. Mel'yanovskaya, Researcher, Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 111-03-03; e-mail: mgnc@med-gen.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8814-5532>)

Красовский Станислав Александрович — к. м. н., ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 111-03-03; e-mail: sa_krasovsky@mail.ru (SPIN-код: 3385-6489; Author ID: 688178; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9642-0947>)

Stanislav A. Krasovsky, Candidate of Medicine, Leading Researcher, Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 111-03-03; e-mail: sa_krasovsky@mail.ru (SPIN: 3385-6489; Author ID: 688178; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9642-0947>)

Костюк Светлана Викторовна — д. б. н., доцент, заведующая лабораторией молекулярной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (499) 6128193; e-mail: svet-vk@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6336-9900>)

Svetlana V. Kostyuk, Doctor of Biology, Associate Professor, Head of the Laboratory of Molecular Biology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre of Medical Genetics named after Academician N.P.Bochkov", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (499) 6128193; e-mail: svet-vk@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6336-9900>)

Участие авторов

Кондратьева Е.И. — концепция и дизайн статьи, написание текста, координация работы авторской группы, утверждение окончательного варианта статьи

Костюк С.В. — концепция и дизайн статьи, написание текста, утверждение окончательного варианта статьи

Ершова Е.С. — концепция и дизайн статьи, сбор, анализ и интерпретации полученных данных

Вейко Н.Н. — концепция и дизайн статьи, сбор, анализ и интерпретации полученных данных

Красовский С.А. — сбор, анализ и интерпретации полученных данных

Шерман В.Д. — интерпретации полученных данных, подготовка статьи, ее доработка

Николаева Е.Д. — подготовка статьи, ее доработка

Мельяновская Ю.Л. — подготовка статьи, ее доработка

Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации, несут ответственность за целостность всех частей статьи.

Authors Contribution

Kondratyeva E.I. — concept and design of the article, writing the text, coordinating the work of the author group, approval of the final version of the article

Kostyuk S.V. — concept and design of the article, writing the text, approval of the final version of the article

Ershova E.S. — concept and design of the article, collection, analysis and interpretation of the obtained data

Veyko N.N. — concept and design of the article, collection, analysis and interpretation of the obtained data

Krasovsky S.A. — collection, analysis and interpretation of the obtained data

Sherman V.D. — interpretation of the obtained data, article preparation

Nikolaeva E.D. — article preparation

Mel'yanovskaya Y.L. — article preparation

All authors made a significant contribution to the search, analysis, and preparation of the article, read and approved the final version before publication, and accepted responsibility for the integrity of all parts of the article.