

экспрессии взят уровень 0,8-1,0. Т.о. при определении уровней нормализованной экспрессии при получении значений $\geq 1,0$ мы говорим о повышении экспрессии, а при получении значений $\leq 0,8$ – о снижении уровней экспрессии исследуемых генов. Расчет процента уровня нормализованной экспрессии генов проводился по формуле:

$$2^{-(Ct \text{ интересующего гена} - Ct \text{ гена HGUS})} \times 100\% (1)$$

где Ct – пороговый цикл (cyclethreshold).

Результаты. При проведении молекулярно-биологических исследований по определению уровней экспрессии гена TGF- β 2 установлено увеличение данного показателя ($>5,9$) в группе пациентов с ОА, в группе пациентов с РА уровни нормализованной экспрессии составили $<0,6$, тогда как при РеА – в пределах 0,8-1,0. Расчет уровней экспрессии генов матричных металлопротеиназ выявил увеличение уровней экспрессии MMP-9 в группе пациентов с ОА ($>11,7$), резкое снижение ($<0,2$) в группе пациентов с РА, при «нормальных» (0,8-1,0) значениях при РеА. И наоборот, снижение уровней экспрессии генов коллагена COL4A1 наблюдалось при ОА ($<0,3$), увеличение – при РА ($>9,4$), значение уровней экспрессии данного гена при РеА составили 0,8-1,0.

Дальнейшие исследования по определению уровней экспрессии генов молекул адгезии ICAM-1 и VCAM-1 продемонстрировали усиление экспрессии данных генов как при РА ($>14,2$ и $>13,8$ соответственно), так и при РеА (4,3-8,6 и 3,6-7,9 соответственно), тогда как при ОА данные показатели находились в пределах «установленной нормы» (0,8-1,0).

При ОА в хондроцитах суставного хряща усиливаются процессы дифференцировки, которые приводят к резорбции хрящевого матрикса и разрушению суставного хряща. Усиленная экспрессия ростового фактора TGF- β 2, а также матричных металлопротеиназ MMP, которые вовлечены в мобилизацию этих ростовых факторов, способствует усиленному потреблению и утилизации коллагена. Таким образом, чем выше уровень экспрессии матричных металлопротеиназ, тем ниже уровень экспрессии генов коллагена и соответственно тем активнее идет поражение суставного хряща. При РА первостепенное значение имеет аутоиммунная местная воспалительная реакция, сопровождающаяся разрастанием синовиальной ткани, - происходит усиленное образование коллагена на фоне снижения экспрессии генов ростовых факторов и матричных металлопроте-

иназ. При хроническом воспалении синовиоцит-подобные фибробласты способствуют миграции лейкоцитов и развитию местного иммунного ответа посредством продукции различных иммуномодуляторов, усиливая таким образом экспрессию генов молекул адгезии ICAM-1 и VCAM-1. РеА также характеризуется наличием местной воспалительной реакции в суставе, которая проявляется в виде усиления продукции молекул адгезии ICAM-1 и VCAM-1, однако уровни экспрессии данных генов менее значимы, чем при РА. Также обращает на себя внимание практически «нормальные» значения уровней экспрессии ростового фактора TGF- β 2, матричных металлопротеиназ MMP, а также коллагена COL4A1. Данный генный профиль свидетельствует о наличии инфекционного процесса в полости сустава без разрастания синовиальной ткани, что согласуется с клинико-анамнестическими данными.

Заключение. Изучение экспрессии генов открывает новые возможности для клинической ревматологии. Эта технология в настоящее время наиболее передовая и всеобъемлющая для скрининга активности генов, изучения молекулярных профилей и может широко использоваться в клинических исследованиях при ревматических заболеваниях. Кроме того, изучение мутаций в генах, предрасполагающих к ревматическим заболеваниям, может помочь в диагностике и прогнозе заболевания. Клинические вопросы и ожидания сосредоточены на исследовании молекулярных маркеров и профиля экспрессии генов для первоначального диагноза, профили экспрессии генов в этой начальной стадии заболевания могут обеспечить важную информацию о пусковых механизмах патологического процесса. Также они предоставляют возможность выявления генетических основ, которые коррелируют с характеристиками заболевания, что дает широкие возможности клинического применения в будущем. Гетерогенность устанавливается при использовании высокочувствительных генных технологий, которые позволяют разделить группу пациентов, страдающих сложным гетерогенным заболеванием, на более гомогенные субгруппы. Молекулярно-генетический профиль клеток крови и специфически поражаемых тканей позволяет выявить гетерогенность внутри конкретных нозологических форм ревматоидных заболеваний, улучшив понимания патогенеза тех или иных нозологических форм, обеспечить молекулярное и биологическое обоснование тяжести поражения тканей.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ SAA, CCR5, CXCL12 И CX3CR1 С ОСЛОЖНЕНИЯМИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

Кочетова О.В.¹, Ахмадишина Л.З.¹, Корытина Г.Ф.¹, Авзалетдинова Д.Ш.², Мустафина О.Е.¹

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия

²Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Сахарный диабет типа 2 (СД2) – масштабная медико-биологическая и социальная проблема современного мира. На терапию СД2 и его осложнений расходуются огромные средства из бюджета многих государств. Заболевание характеризуется высокой частотой развития

хронических осложнений (ретинопатия, нефропатия, нейропатия, синдром диабетической стопы), которые приводят к ранней инвалидизации и смертности. Эксперты Международной диабетической федерации (International Diabetes Federation – IDF) прогнозируют, что

к 2025 г. количество лиц с диабетом достигнет 380 млн человек, которые в большинстве своем будут пациентами с СД2.

Патогенез заболевания СД2 заключается в развитии, с одной стороны, инсулинорезистентности, а с другой – дефекта секреции инсулина. В настоящее время установлено, что одним из механизмов патогенеза СД2 является хроническое воспаление, которое как обязательный компонент участвует и в развитии инсулинорезистентности. Воспалительный процесс сопровождается привлечением иммунных клеток, которые включают их мобилизацию из костного мозга, адгезию, хемотаксис, трансформацию, изменение соотношения между различными подклассами лейкоцитов. Все эти процессы контролируются множеством белков – медиаторов воспаления, к числу которых относятся хемокины и белки острой фазы воспаления.

Целью исследования явился анализ генов системы воспаления (генов хемокинов CCL2, CXCL, генов хемокиновых рецепторов CCR5, CX3CR1, гена сывороточного амилоида А, гена мономерного трансмембранного гликопротеина надсемейства Ig CD4 и гена CRP, кодирующего С-реактивный белок) у пациентов с СД2 и у лиц контрольной группы.

Материал и методы. Всего было обследовано 637 человек, проживающих в Республике Башкортостан. Из них 310 пациентов с СД2 и 327 лиц без клинических и лабораторных признаков диабета, а также без наследственной отягощенности по диабету. Выборки пациентов и контроля были сопоставимы по полу, возрасту и этнической принадлежности. ДНК выделяли из венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование однонуклеотидных замен шести полиморфных локусов CXCL12 rs1801157, CD14 rs2569190, CCL2 rs1024611, CX3CR1 rs3732378, SAA rs1136743, CRP rs1130864 анализировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим расщеплением соответствующей рестриктазой. Анализ делеционного полиморфизма гена CCR5 del32 проводили методом ПЦР. Статистическая обработка дан-

ных проводилась с использованием программы SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/snpstats/start.htm?>).

Основные результаты. В нашем исследовании не было выявлено ассоциации полиморфных маркеров генов системы воспаления с риском развития сахарного диабета 2 типа ни в одной модели наследования. Вместе с тем была определена ассоциация осложнений СД2 с полиморфными вариантами исследованных генов. Полиморфный локус rs1136743 гена SAA ассоциирован с риском развития диабетической катаракты OR=1.97 (CI95% 1.04-3.71), p=0.03 в аддитивной модели. Также показана ассоциация полиморфного маркера rs1136743 гена SAA с диабетической полинейропатией OR=2.28 (CI95% 1.20-4.33), p=0.009 в доминантной модели и ишемической болезнью сердца OR=1.99 (CI95% 1.04-3.82), p=0.03 в доминантной модели. Полиморфный локус rs3732378 гена CX3CR1 ассоциирован с риском развития диабетической полинейропатии OR=4.77 (CI95% 1.04-24.26), p=0.04.

Проведен анализ клинических и метаболических параметров в зависимости от полиморфных вариантов генов системы воспаления. У больных СД2, являющихся гомозиготными носителями редких аллелей генов CCR5 del32 и CXCL12, наблюдалось повышение уровня глюкозы, p=0.0059 и p=0.018, соответственно. Показано, что гомозиготные носители аллели А маркера rs1801157 гена CXCL12 имеют повышенный уровень С-пептида. Уровень С пептида ассоциирован с полиморфным локусом rs1801157 гена CXCL12 <0.0001 и локусом rs1136743 гена SAA p=0.03.

Заключение. В результате исследования генов, системы воспаления, не было выявлено ассоциации с риском развития СД2, но выявлены генетические маркеры предрасположенности к осложнениям СД 2: диабетической катаракте, диабетической полинейропатии, ишемической болезни сердца. Определены ассоциации с количественными показателями, характеризующими тяжесть заболевания по генам CXCL12, SAA, CCR5 del32.

Работа получила частичную финансовую поддержку РФГНФ № 13-06-00101 и РФФИ 14-06-97003 р_Поволжье.

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ НОЗОЛОГИЧЕСКОЙ СИНТРОПИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Кузьмина Л.П., Хотулева А.Г.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда», Москва, Россия

Частое сочетание профессиональной бронхиальной астмы (ПБА) и метаболического синдрома (МС) связано с общностью патогенетических механизмов, одним из которых является развитие системного воспалительного процесса. Наличие метаболических нарушений у больных ПБА может быть связано и с терапией бронхообструктивного синдрома глюкокортикостероидами (ГКС).

В регуляции воспалительной реакции важное значение имеет баланс между про- и противовоспалительными цитокинами. Закономерность применения методов ДНК-диагностики для определения полиморфизмов генов, кодирующих те или иные цитокины, вместо

прямой оценки содержания цитокинов подтверждает тот факт, что количественное содержание цитокинов зачастую подвержено колебаниям, связанным с изменениями параметров окружающей среды, в связи с чем однократное определение полиморфизмов цитокинов позволит оценить наличие провоспалительного фенотипа. Полиморфизмы генов цитокинов способствуют развитию дисбаланса в сторону провоспалительных цитокинов, что инициирует развитие воспалительного процесса, играющего ключевую роль как в развитии ПБА, так и МС.

В связи с вышесказанным целью настоящего исследования явилось изучение ассоциации полимор-