

ный анализ изучаемых показателей локальной антимикробной защиты и цитокинов копрофильтратов позволили выделить достоверно значимые факторы, позволяющие дифференцировать клинические варианты течения РеА. Острое течение РеА ассоциировалось с уровнем в копрофильтратах ЛФ и TNF- α , хроническое течение – с показателями IL-10 и IL-6, что свидетельствует о целесообразности использования этих факторов в качестве маркеров прогнозирования исхода артрита (выздоровление или хронизация).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Scher J. U., Littman D. R., Abramson S. B. Microbiome in inflammatory arthritis and human rheumatic diseases. *Arthritis Rheumatol.* 2016, 68(1), 35-45.
2. Vitetta L., Coulson S., Linnane A. W. et al. The gastrointestinal microbiome and musculoskeletal diseases: a beneficial role for probiotics and prebiotics. *Pathogens* 2013, 2, 606-626.
3. O'Hara A. M., Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 2006, 7, 688-693.
4. Челпаченко О. Е., Перунова Н. Б., Иванова Е. В. и соавт. Локальные антимикробные факторы у детей с реактивным артритом. *Российский иммунологический журнал* 2016, 10(19), 2(1), 372-374.

CLINICAL ROLE OF LOCAL ANTIMICROBIAL FACTORS AND CYTOKINES IN CHILDREN WITH REACTIVE ARTHRITIS

E. I. Danilova, I. A. Nikiforov, O. E. Chelpachenko, L. P. Fedotova,
E. V. Ivanova, N. B. Perunova, T. A. Bondarenko

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

Significant local antimicrobial factors of the intestinal biotope and cytokines associated with the variant of the course of reactive arthritis (ReA): IL-17, IL-6, INF- γ , lysozyme, CRB have been determined, which allows them to be used as markers for predicting the course and the outcome of ReA.

Key words: reactive arthritis, coprofiltrates, lactoferrin, lysozyme, cytokines

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИДЕНТИФИКАЦИИ ОСОБЕННОСТЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА, КАК МАРКЕРОВ РАННИХ НАРУШЕНИЙ ИММУННОЙ РЕГУЛЯЦИИ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭКСПОЗИЦИИ СТРОНЦИЕМ

Долгих О. В., Зайцева Н. В., Кривцов А. В., Дианова Д. Г.,
Отавина Е. А., Безрученко Н. В., Гусельников М. А.

ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Пермь, Россия

Использование таргетного секвенирования генов (секвенатор Roche 454) у пациентов-европеоидов с избыточным содержанием стронция в крови позволило выявить наличие значительного количества точечных замен в 10 генах: *MTHFR* – ген метилентетрагидрофолатредуктазы (23 замены); *SULT1A1* – ген сульфотрансферазы (41 замена); *SIRT3* – ген сиртуина (13 замен); *NOS3* – ген эндотелиальной NO-синтазы (19 замен), и *PPARD* – ген рецептора (6 замен), активируемого пролифераторами пероксисом и иммунорегуляции: *TERT* – ген теломеразы (14 замен); *FAS* – ген рецептора смерти (9 замен); *FOXP3* – транскрипционный фактор клеточной супрессии (4 замены); *TP53* – транскрипционный фактор онкосупрессии (7 замен); *VEGF* – ген васкулярного эндотелиального фактора роста (8 замен). Участки данных генов могут быть предложены в качестве маркерных для доказательства вреда здоровью при воздействии химических факторов.

Ключевые слова: ген *FAS*, ген *FOXP3*, ген *TERT*

Введение. Выявление структуры и особенностей экспрессии генов, кодирующих все белковые молекулы человека, а также внедрение в рутинную лабораторную практику новых диагностических технологий тестирования различных генных полиморфизмов (варианты одного и того же гена в популяции) позволяет предсказывать риски развития определенных заболеваний у конкретного индивидуума. Для решения задач ранней диагностики и повышения эффективности профилактики развития процессов дезадаптации в условия техногенной экспозиции актуальным является установление особенностей идентификации нарушений генетических показателей [1].

Цель. Разработка методических подходов к идентификации особенностей генетического полиморфизма, как маркера ранних нарушений адаптационных процессов (иммунных, обменных, соматических, пролиферативных) в условиях хронической экспозиции стронцием.

Материалы и методы. Для задач изучения индивидуального риска здоровью в условиях экспозиции стронцием подготовлен жидкий биочип с направленным отбором генов с соответствующими зондами из библиотеки (библиотека зондов была подготовлена заранее по 27 интересующим нас генам и включала в себе около 2 млн. олигонуклеотидных зондов, комплементарных интересующим нас областям). По результатам секвенирования (секвенатор Roche 454, Genome Sequencer, Швейцария) отобраны 15 кандидатных генов для которых выполнен анализ на полиморфность. Для верификации генетического полиморфизма использовался стандартный алгоритм ДНК-детекции методикой ПЦР в режиме реального времени (термоциклер CFX96), который включал в себя оценку групп генов, отражающих особенности обменных, топических (органных), иммунных и детоксикационных процессов. Для диагностики генного полиморфизма нами подобраны гены и их участки в качестве маркеров чувствительности вероятных рисков возникновения индуцированных средой нарушений здоровья: цитохрома *P-450 CYP1A1* (*rs4646421* и *rs1048943*), копропорфириногенаксидазы *CPOX* (*rs1131857*), метилентетрагидрофолатредуктазы (*rs1801133*) *MTHFR*, эндотелиальной NO-синтазы *eNOS* (*rs1799983*), белка аполипопротеина E *ApoE* (*rs429358*), матриксных протеиназ *MMP9* и *MMP12* (*rs17576* и *rs652438*), сульфотрансферазы *SULT1A1*

(*rs9282861*), онкогенов *BRCA1*, *BRCA2* и *TP53* (*rs3950989*, *1801439*, *1042522*), гена рецептора эстрогена *ESR1* (*rs2228480*) и промоторной области гена *TNFA* (*rs1800629*) фактора некроза опухолей, *GSTA4* (глутатион-трансфераза) *rs3756980*, *SOD2 C14510A*, *ZMPSTE24* (цинк-металлопептидаза) *rs2076697*, *TERT C309G*, *DRD2 rs6275*, *SIRT1 rs7069102*, *TLR4* (толл-рецептор 4) *A8595G*, *FAS C14405T*, *FOXP3 T(-3499)C*, *VEGF G634C*, *ACEAluI/D*. Для определения генотипа человека использовали метод аллельной дискриминации.

Основные результаты. По результатам секвенирования проведена оценка числа полиморфных вариантов кандидатных генов различных функциональных систем у экспонированных стронцием пациентов. Установлено, что максимальной полиморфностью обладают гены детоксикации – 37,5% из всей выборки генов, второй ранг занимают гены обмена 27,5% и гены иммунорегуляции, заменены в соматических генах выражены в меньшей степени. Это связано с высокой лабильностью полиморфности функциональных белков и медиаторов обмена веществ, обеспечивающих адаптивность к изменяющимся характеристикам среды и высокой чувствительностью транскриптомно-геномных взаимосвязей иммунорегуляторных генов.

Результаты секвенирования генов у пациентов-европеоидов группы наблюдения (10 человек с содержанием стронция в крови $0,0704 \pm 0,011$) и группы контроля (10 человек с содержанием стронция в крови $0,191 \pm 0,019$) позволили установить наличие значительного количества точечных замен (транзиций) в 10 генах: *MTHFR* – ген метилентетрагидрофолатредуктазы (23 замены); *SULT1A1* – ген сульфотрансферазы (41 замена); *SIRT3* – ген сиртуина (13 замен); *NOS3* – ген эндотелиальной NO-синтазы (19 замен), и *PPARD* – ген рецептора (6 замен), активируемого пролифераторами пероксисом и иммунорегуляции: *TERT* – ген теломеразы (14 замен); *FAS* – ген рецептора смерти (9 замен); *FOXP3* – транскрипционный фактор клеточной супрессии (4 замены); *TP53* – транскрипционный фактор онкосупрессии (7 замен); *VEGF* – ген васкулярного эндотелиального фактора роста (8 замен). По результатам верификации полученных результатов методом ПЦР в режиме реального времени установлена избыточная вариабельность участков генов *CYP1A2*, *TERT*,

FAS, *FOXP3*, *TP53*, *HLADRBI*, *MTHFR*, *GSTA*, *SULT1A1*, *NOS*, *SIRT*, *ACE*, отвечающих за особенности иммунорегуляции и детоксикации в условиях повышенной экспозиции стронцием. Результаты анализа изменчивости экспрессии, вызванной экспозицией стронцием *ex vivo* по сравнению со спонтанной экспрессией выявлено угнетение экспрессии дефензина альфа, что указывает на наличие иммунодефицита.

Вывод. Таким образом, методология генотипирования, заключающаяся в алгоритмической последовательности проведения сиквенса,

ПЦР в реальном времени и анализа экспрессии кандидатных генов может быть предложена для проведения мероприятий для доказательства вреда здоровью при воздействии химических факторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Долгих О.В., Кривцов А.В., Лыхина Т.С., Бубнова О.А., Ланин Д.В., Вдовина Н.А., Лужецкий К.П., Андреева Е.Е. Особенности иммуногенетических показателей у работников предприятия цветной металлургии // Гигиена и санитария. – 2015. – Т. 94, № 2. – С. 54-57

METHODOLOGICAL APPROACHES TO IDENTIFICATION OF PECULIARITIES OF GENETIC POLYMORPHISM AS MARKERS OF EARLY VIOLATIONS OF IMMUNE REGULATION IN CONDITIONS OF CHRONIC EXPOSITION TO CHEMICAL FACTORS

Dolgikh O. V., Zaitseva N. V., Krivtsov A. V., Dianova D. G., Otavina E. A., Bezruchenko N. V., Guselnikov M. A.

FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies", Perm, Russia

The use of targeted gene sequencing (Roche 454 sequencer) in the patients-representatives of European ethnicity with an excessive amount of strontium in the blood made it possible to detect the presence of a significant number of point replacements in 10 genes: *MTHFR* – gene of methylenetetrahydrofolate reductase (23 replacements); *SULT1A1* – sulfransferase gene (41 replacement); *SIRT3* – sirtuin gene (13 replacements); *NOS3* – gene of endothelial NO- synthase (19 replacements), and *PPARD* – receptor gene (6 replacements), activated by peroxisome proliferator: *TERT* – telomerase gene (14 replacements); *FAS* – gene of the death receptor (9 replacements); *FOXP3* – transcriptional factor of cellular suppression (4 replacements); *TP53* – transcriptional factor of onco suppression (7 replacements); *VEGF* – gene of vascular endothelial growth factor (8 replacements). Sites of these genes can be proposed as markers to manifest the harm to health caused by chemical factors.

Key words: gen *FAS*, gen *FOXP3*, gen *TERT*