

экспрессии миРНК при люминальном РМЖ. Исследование включало 33 случая люминального А или люминального В (Her2-) подтипов РМЖ. Относительные уровни экспрессии миРНК-20а; -21; -125b; -126; -200b; -181а; -205; -221; -222; -451а; -99а; -145; -200а; -214; -30а; -191 измерялись методом ОТ-ПЦР в реальном времени в четырёх различных пространственных точках внутри каждой опухоли (граница опухоли, центр опухоли, периферия 1 и периферия 2 опухоли), а также в прилежащей морфологически неизменной ткани молочной железы. Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между нормальной тканью молочной железы и различными внутриопухолевыми участками показал, что только четыре миРНК: миРНК-21, миРНК-200b, миРНК-200а и миРНК-191 являются общими дифференциальными маркерами при сравнении образцов, взятых из различных участков опухоли в сравнении с нормальной тканью. Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между нормальной тканью молочной железы и границей опухоли выявил статистически значимые различия для десяти миРНК (-21; -126; -200b; -221; -222; -99а; -145; -200а; -30а; -191); десять миРНК (-21; -125b; -200b; -181а; -205; -99а; -145; -200а; -30а; -191) показали значимые различия уровней экспрессии при сравнении образцов нормальной ткани молочной железы и образцов, полученных из центральной части опухолевого образования; девять миРНК (-21; -125b; -200b; -181а; -451а; -99а; -200а; -30а; -191) показали значимые различия уровней экспрессии при сравнении образцов нормальной ткани молочной железы и образцов, взятых с периферии 1; тринадцать миРНК (миРНК-20а; -21; -125b; -126; -200b; -181а; -205; -221; -222; -145; -200а; -214; -191) показали значимые различия уровней экспрессии при сравнении образцов нормальной ткани молочной железы и образцов, взятых с периферии 2. Таким образом, мы делаем вывод, что уровни экспрессии миРНК подвержены значительным вариациям в зависимости от области опухоли люминального РМЖ, из которой взят образец на исследование. Этот факт может объяснить несогласованность данных об уровнях экспрессии миРНК, полученных из разных лабораторий.

ПОИСК SNP-МАРКЕРОВ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМУ ГОНАРТРОЗУ СРЕДИ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ВОСПАЛЕНИЯ

***В.В. Внуков¹, И.В. Кролевец², С.Б. Панина¹, А.А. Ананян¹, А.А. Плотников¹,
М.А. Забродин³, Н.П. Милютин¹***

¹*Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

²*Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 344022, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29*

³*Травмпункт МБУЗ «Горбольницы № 1 им. Н.А. Семашко», 344010, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, Ворошиловский пр., 105*

E-mail: natmilut@rambler.ru

Остеоартроз (ОА) является многофакторным заболеванием, при котором наряду со старением, важная роль отводится травматическому повреждению суставов и генетической предрасположенности. Гонартроз (ГА) – деформирующий остеоартроз коленного сустава, встречается у каждого пятого человека на Земле. Установлено, что у лиц трудоспособного возраста остеоартроз коленного сустава в 80 % является посттравматическим. Причем доля вторичного – посттравматического – ОА неуклонно возрастает, что связано с ростом числа лиц травмоопасных профессий (военнослужащие, шахтеры, спасатели МЧС и пожарные и др.), а также с популяризацией спорта и активного образа жизни. Это приводит к увеличению встречаемости посттравматического артроза у лиц молодого и среднего возраста, что может быть связано, в том числе, с генетической предрасположенностью [1].

Цель исследования – провести поиск полиморфных маркеров (SNP-маркеров) предрасположенности к развитию посттравматического гонартроза (ПТГА) среди генов, регулирующих развитие окислительного стресса, и воспаления у пациентов с ПТГА русской популяции Ростовской области.

В группу для генотипирования SNP-локусов были включены 117 пациентов с ПТГА (46 мужчин/71 женщина; возраст $46,33 \pm 1,44$ лет; ИМТ $26,7 \pm 0,83$ кг/м²). В контрольную группу было включено 94 человека (возраст $44,01 \pm 1,55$ лет; 39 мужчин/55 женщин; ИМТ $25,41 \pm 0,58$ кг/м²) без признаков ПТГА в анамнезе, что было подтверждено рентгенологическим методом. Все обследованные пациенты имели русскую национальность и проживали на территории Ростовской области.

Среди исследованных генов локусами-маркерами повышенного риска развития посттравматического гонартроза, как показал генетический скрининг пациентов с ПТГА и здоровых людей, являются следующие полиморфные локусы: *A-82G MMP-12* и *G-84A NOS1* в общих выборках; *-16071G/2G MMP-1* у женщин. Так, аллель *-82G* в промоторе гена матричной металлопротеиназы-12 (*MMP-12*) ассоциирован с ПТГА, поскольку наличие данного аллеля увеличивает в 1,90 раза риск развития патологии в общей выборке: OR=1,90 (CI 1,11-3,25), $\chi^2=5,58$, $p=0,02$. Аллель *-82A* может иметь «протективное» значение. Показанная нами ассоциация генотипа *2G/2G* матричной металлопротеиназы-1 (*MMP1*) с риском развития ПТГА у женщин (OR=3,07 (CI 1,24-7,62), $\chi^2=7,38$, $p=0,03$) может быть связана с увеличением продукции MMP-1. Аллель *A* полиморфизма *-84G>A* гена нейрональной NO-синтазы (*nNOS*) встречается в группе пациентов с ПТГА в 2,02 раза чаще по сравнению со здоровыми людьми (OR=2,02 (CI 1,08-3,76), $\chi^2=7,41$, $p=0,02$).

В основе ОА лежит взаимодействие приобретённых факторов и наследственной предрасположенности, определяемой множеством генов. Однако отдельные рассматриваемые полиморфные замены не являются мутациями, с большой вероятностью повышающими риск развития артроза. Исходя из этого, особую значимость приобретают полногеномные поиски ассоциаций (GWAS) и анализы сцепления генов [2]. Метод редукции многофакторной размерности (MDR) был разработан для моделирования межгенных (эпистаз) и ген-средовых взаимодействий высокого порядка, которые невозможно оценить с помощью традиционно используемых параметрических методов, и является альтернативой другим методам, например, логистической регрессии. Адекватность MDR-модели оценивается двумя главными параметрами – контрольной взвешенной точностью и воспроизводимостью. Используя метод 10-кратной воспроизводимости (Cross-validation consistency, CVC), все данные разделяются на 10 групп, из которых 9 – опытных, 1 – контрольная. CVC – это количество раз выбора наилучшей модели из всего набора данных [3]. Анализ межгенных взаимодействий проводили с помощью программ MDR v.3.0.2 и её модифицированной версии, позволяющей работать с неравными выборками «случай-контроль», – Generalized MDR, GMDR v.0.9. С помощью опций Exhaustive search (полный мультилокусный анализ) и Forced search (принудительный поиск) были получены следующие результаты. Наиболее значимыми среди всех возможных моделей оказались: двухлокусная модель *CAT C-262T × MMP-12 A-82G* (следует отметить, что оба эти гена локализованы на одной хромосоме - 11), трёхлокусная модель *CAT C-262T × MMP-12 A-82G × NOS1 G-84A*, четырёхлокусная модель *CAT C-262T × MMP-12 A-82G × NOS1 G-84A × IL1b T-31C*, пятилокусная модель *CAT C-262T × MMP-12 A-82G × NOS1 G-84A × IL1b T-31C × NOS3 T-786C*. Наибольшей достоверностью и воспроизводимостью среди возможных MDR- и GMDR-мультилокусных моделей для детерминации риска развития посттравматического гонартроза в исследованной популяции обладает пятилокусная модель *CAT C-262T × MMP-12 A-82G × NOS1 G-84A × IL1b T-31C × NOS3 T-786C*.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ключевая роль в детерминации предрасположенности к посттравматическому гонартрозу принадлежит полиморфным локусам генов NO-синтаз (*NOS1*, *NOS3*), каталазы (*CAT*), матричной металлопротеиназы-12 (*MMP-12*) и интерлейкина-1β (*IL-1b*).

ЛИТЕРАТУРА

1. Valdes A.M., Doherty S., Muir K.R. et al. // Ann. Rheum. Dis., 2013. Vol. 72. P. 1687–1690.
2. Prieto-Montana J.R., Riancho J.A. // Rev. esp. cir. ortop. traumatol. 2009. Vol. 53. P. 271–277.
3. Moore J.H. // Adv. Gen., 2010. Vol. 72. P. 101–116.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ в рамках базовой части госзадания Минобрнауки РФ (проект №6.6762.2017/БЧ).

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ микро-РНК-33А, -758, -96 ПРИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Г.И. Волосовцова, Е.В. Бутенко

*Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1
E-mail: volaga@yandex.ru*

Исследования за последние три десятилетия выявили ключевые сигнальные и молекулярные регуляторные пути, участвующие в инициации и прогрессировании атеросклеротических бляшек. Выявление роли микро-РНК в качестве важных регуляторов патофизиологических процессов, таких как клеточная адгезия, пролиферация, поглощение и отток липидов с генерацией медиаторов воспаления, представило новое молекулярное понимание их влияния на эти процессы при атеросклерозе. Микро-РНК-33а, 758, 96, нацеленные на регуляцию метаболизма холестерина, а именно, липопротеинов высокой плотности, представляют особый интерес как важные факторы развития патологии и перспективные терапевтические мишени для ее лечения.

Исходя из этого, целью данного исследования явилось изучение ассоциации полиморфизма генов микро-РНК с развитием атеросклеротической патологии.

В исследовании приняли добровольное участие 112 жителей Ростовской области в возрасте от 60 до 83 лет, в равном процентном соотношении между мужчинами и женщинами. Средний возраст участников исследования составил 67 лет. По толщине поражения интимо-медиального слоя сонных артерий, как основному критерию оценки атеросклеротического поражения сосудов, а также клинических и биохимических симптомов атеросклеротического статуса, определённых кардиологом, выполнена градация добровольцев на три группы: контрольная, умеренный и выраженный атеросклероз. Геномная ДНК для молекулярно-генетических исследований была выделена из периферической крови с использованием набора QIAamp DNA Blood minikit (Qiagen, Germany). Исследование выполнено на базе центра коллективного пользования «Высокие технологии ЮФУ», клинический материал и инструментальные исследования выполнены на базе кардиологического центра Ростовской областной клинической больницы, медицинских центров НАО «Наука», АО «ВрачЪ». Аллель-специфические праймеры для генов *MIR758*, *MIR33a*, *MIR96* для выполнения ПЦР анализа были подобраны с помощью программы WASP Web-based Allele Specific Primer <http://bioinfo.biotech.or.th/WASP>. ПЦР анализ выполняли при помощи готовых реагентов «Евроген» России. Использовали готовую смесь qPCRmix-NS. Амплификацию проводили на приборе BIO-RAD CFX96 (США). Анализ равновесия Харди-Вайнберга и различия в распределении вариантов аллелей между группами пациентов и контроля оценивали с помощью критерия χ^2 . Для оценки риска развития атеросклероза мы использовали коэффициенты отношения шансов (OR).

В результате исследования установлено, что характер распределения частот полиморфизмов генов *MIR-758* (*rs1885068*), *MIR-96* (*rs13231740*), *MIR-33a* (*rs9620000*) в контрольной группе соответствует равновесию Харди-Вайнберга.

Частота минорной аллели межгенного варианта g.129775479 С гена *MIR-96* (44 %), как и интронного варианта с.2907 + 201>С гена *MIR-33a* (8%) в контрольной группе добровольцев по