

**СРАВНЕНИЕ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕРНЫХ РАЙОНОВ ДНК  
ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ  
АРТРИТОМ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ  
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ**

*Абрамова Т.Я., Абрамов С.В., Борисов В.И., Сизиков А.Э., Кожевников В.С.*

УРАМН НИИ КИ СО РАМН, г. Новосибирск, Россия

tatjana-abramova@mail.ru

В соответствии с мультифакторной теорией ревматоидный артрит (РА) является иммунопатологическим процессом аутоиммунной природы и может развиваться под влиянием разнообразных воздействий окружающей среды при наличии генетической предрасположенности [6]. Вместе с тем, особенности клинического течения РА связывают с межполушарными взаимоотношениями, состоянием нейроэндокринной и вегетативной систем (воздействием стрессоров, психофизиологическими отклонениями, гормональными нарушениями) [7,9], что позволяет рассматривать РА как психосоматическое заболевание. Кроме того, известно, что одной из основных причин развития ревматоидного артрита являются нарушения функций иммунокомпетентных клеток, в частности, дисбаланс Т - звена и формирование клеточных иммунных реакций [4]. Указанное нарушение при РА связано с особенностями церебральной асимметрии. Так, например, ранее нами было установлено что больные РА характеризуются дисбалансом основных Т – клеточных субпопуляций ( $CD4^+CD45RO^+$ ,  $CD4^+CD45RA^+$ ,  $CD8^+CD45RA^+$ ,  $CD8^+CD45RO^+$ ) не только между группами с различной функциональной асимметрией мозга, но и относительно здоровых людей с аналогичной асимметрией[1].

Как известно, теломерами являются участки хромосом, предохраняющие хромосомы от концевой слипания друг с другом и от концевой дегградации ДНК ферментами [2,3,8]. Теломерные районы играют важную роль в создании специфической архитектоники и внутренней упорядоченности клеточного ядра и, к тому же, с их помощью решается проблема концевой недорепликации ДНК. В настоящее время известно, что в соматических клетках организма, как и в клетках иммунной системы, длина теломерных районов является функцией возраста, т.е. с возрастом происходит укорочение теломер практически во всех клетках организма. Таким образом, длина теломерных районов ДНК становится важным биологическим показателем пролиферативной активности клеток.

Большое количество работ, посвященных изучению длины теломерных районов ДНК в иммунокомпетентных клетках больных РА, показывает их укорочение в лимфоидном и миелоидном ростках кроветворения по сравнению со здоровыми людьми [2,5,8].

**Целью** настоящей работы являлось исследование длины теломерных участков ДНК в иммунокомпетентных клетках больных РА и здоровых доноров в зависимости от функциональной межполушарной асимметрии.

### **Материалы и методы.**

В процессе выполнения работы обследовано 36 женщин больных РА (средний возраст  $48 \pm 1,2$ ), находившихся на лечении в отделении ревматологии ГУ НИИ КИ СО РАМН, г. Новосибирск. Все пациентки в качестве базисной терапии получали лечение иммуносупрессивными препаратами (метотрексат).

Кроме того, было обследовано 33 женщины, не имевших аутоиммунных, аллергических и острых воспалительных заболеваний (средний возраст  $43,3 \pm 0,9$ ).

Определение профиля функциональной сенсомоторной асимметрии по четырем парным функциям проводилось с помощью опросного метода и функциональных проб [1]. При этом в моторной сфере выявлялось функциональное предпочтение руки и ноги. Асимметрия в сенсорной сфере выявлялась в преимуществе одного глаза в бинокулярном акте зрения (так называемая, прицельная способность глаз), а также в преимуществе уха при слухо-пространственном различении в бинауральном восприятии акустических сигналов. Асимметрия зрения, слуха, рук и ног определялась по преобладанию правых или левых значений проб, в каждом случае использовалось не менее 10 проб. Если сумма левых показателей равнялась сумме правых и были случаи равенства по одному из показателей, то отмечалась симметрия.

Обследованные лица разделялись на 3 группы, отличающиеся степенью выраженности признаков право- и леволатеральности. В группу правшей были отнесены люди абсолютно праволатеральные по четырем парным функциям. Группа амбидекстров включала всех остальных людей с различной степенью латерализованности в обоих полушариях право- левосторонних и симметричных показателей: амбидекстры с одним симметричным или латерализованным слева признаком (амбидекстры1) и амбидекстры с двумя и более симметричными или латерализованными слева признаками (амбидекстры2).

### Определение длины теломерных участков ДНК.

$1 \times 10^6$  лейкоцитов смешивали с  $5 \times 10^5$  спленоцитов мыши и осаждали. Осадок ресуспендировали в 300 мкл гибридизационного раствора, содержащего 70% формамида. Флуоресциин (СССТАА)<sub>3</sub> Peptide Nucleic Acid (PNA) зонд добавляли в концентрации 0,3 мкг/мл. Инкубировали при 80°C в течение 10 минут, гибридизация длилась 3 часа. Затем клетки переносили в пробирки для цитометрии, дважды отмывали 70% формамидом и однократно 3ФР-БСА, содержащим 0,1% Tween 20. Осадок ресуспендировали в 0,5 мл 3ФР-БСА, содержащим 25 мкл/мл РНКазы и 7-аминоактиномицина. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACS Calibur. Сигнал флуоресценции теломер определяли как средний уровень флуоресценции (mean fluorescence intensity, MFI) клеток, находящихся G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> фазе клеточного цикла, вычитанием фоновой аутофлуоресценции. Относительное значение длины теломерных районов ДНК определяли как отношение MFI исследуемого образца к MFI спленоцитов мыши. Дополнительно вводится коэффициент для уравнивания сигнала на количество хромосом в клетках, т.к. у человека 46 хромосом, а у мыши 42, т.е. и количество будет разное.

Оценка абсолютной длины теломерных участков ДНК проводилась пересчетом через относительную длину по формуле  $Y = 2014 + 286 \times X$ , где «Y» - это получаемая абсолютная длина в парах нуклеотидов, а «X» - это длина теломерных участков ДНК относительно клеток внутреннего контроля [3].

Статистический анализ проводился с помощью пакета программ STATISTICA 6.0. с использованием методов описательной, параметрической и непараметрической статистики.

### **Результаты.**

При сравнении длины теломерных участков ДНК иммунокомпетентных клеток больных РА и здоровых доноров получены результаты, подтверждающие литературные данные об укорочении концевых участков хромосом в иммунокомпетентных клетках больных РА – в частности в Т - клетках (CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> - лимфоциты) и гранулоцитах (таблица 1).

**Таблица 1**

**Сравнение длины теломерных районов ДНК иммунокомпетентных клеток больных РА и здоровых доноров**

	больные РА	доноры	p
CD4 <sup>+</sup> -лимфоциты(п.н.)	5332,4±326,5 (n=17)	6920,±202,6 (n=33)	0,001
CD8 <sup>+</sup> -лимфоциты(п.н.)	5213,1±402 (n=17)	6926,7±219 (n=33)	0,001
гранулоциты(п.н.)	6484,4±251,5 (n=36)	8215,7±178,7 (n=32)	0,001

**Примечание:** Единицы измерения - пары нуклеотид; M±m

Следующим этапом нашей работы было сравнение длины теломерных районов ДНК в иммунокомпетентных клетках больных РА и здоровых доноров в зависимости от функциональной межполушарной асимметрии (таблица 2). Были получены данные, свидетельствующие об укорочении длины теломерных участков ДНК в группах больных РА с преимущественным доминированием левого полушария (правши) и с преимущественным доминированием правого полушария (амбидекстры 2) относительно им групп здоровых доноров с аналогичной асимметрией. В группе амбидекстров 1, с активностью обоих полушарий (с одним симметричным или латерализованным слева и тремя латерализованными справа признаками) статистически достоверных различий длины теломерных районов ДНК в иммунокомпетентных клетках больных РА и здоровых доноров не было установлено.

**Таблица 2**

**Сравнение длины теломерных районов ДНК иммунокомпетентных клеток больных РА и здоровых доноров в зависимости от ФМА**

	больные РА	доноры	p
CD4 <sup>+</sup> -лимфоциты (правши)	4438,7±806,9	6800,2±160,2	0,001
CD8 <sup>+</sup> -лимфоциты (правши)	4305,4±762,6	6726,7±282,6	0,002
гранулоциты (правши)	5999,3±403,6	8091,1±194,5	0,001
CD4 <sup>+</sup> -лимфоциты (амбидекстры1)	5284,3±423,1	6516,1±344,1	>0,05
CD8 <sup>+</sup> -лимфоциты (амбидекстры1)	5348,±463,6	6530,8±307,3	>0,05
гранулоциты	6787,0±396	7818,9±468	>0,05

(амбидекстры1)			
CD4 <sup>+</sup> - лимфоциты (амбидекстры2)	5750,9±444,8	7477,6±596,2	0,03
CD8 <sup>+</sup> - лимфоциты (амбидекстры2)	5556,6±645,2	7624,8±565,9	0,028
гранулоциты (амбидекстры2)	6627,0±537,8	8779,5±273,6	0,004

**Примечание:** Единицы измерения - пары нуклеотид; M±m

### **Заключение.**

Полученные данные свидетельствуют о зависимости длины теломерных районов ДНК, характеризующей молекулярно-биологические процессы в клеточном ядре, не только от возраста и уровня пролиферативной активности, о чем свидетельствуют литературные источники, но и от функциональной межполушарной асимметрии.

### **Литература.**

1. Абрамов С.В., Абрамова Т.Я., Шишкова И.В., Сизиков А.Э., Кожевников В.С., Абрамов В.В. Сравнительная характеристика Т- клеточного звена иммунной системы у доноров и больных ревматоидным артритом с различной функциональной межполушарной асимметрией (ФМА) головного мозга. «Актуальные вопросы функциональной межполушарной асимметрии и нейропластичности. Москва, 18-19 декабря 2008 г. С.271-275
2. Борисов В.И., Кожевников В.С., Сенюков В.В., Сизиков А.Э., Коненкова Л.П., Герцог О.А., Козлов В.А. Укорочение длины теломер моноцитов при ревматоидном артрите./Медицинская иммунология.-2006.-Т.8(1).-Стр. 87-90.
3. Борисов В.И., Демаков С.А., Непомнящих В.М., Леонова М.И., Демина Д.В., Баровская Н.А., Кожевников В.С. Особенности изменения средней длины теломер в лимфоцитах у больных бронхиальной астмой/ Медицинская иммунология.-2009.- Т.11.-№6.-Стр. 523-530.
4. С.Н. Быковская, Е.Л. Насонов Роль дефектов иммуносупрессии в развитии аутоиммунных заболеваний/Научно-практическая ревматология, №4.-2005.-81.
5. Зиннатова Е.В., Борисов В.И., Кожевников В.С., Коненкова Л.П., Козлов В.А. Динамика изменения длины теломер в В-лимфоцитах при ревматоидном

артрите/вестник уральской медицинской академической науки.-2010.-№2/1.-Стр. 135-136.

6. Ревматические болезни. Руководство для врачей // Под ред. В.А. Насоновой. – М.: Медицина. – 1997. – 520 с.
7. Calcagni E, Elenkov I. Ann N Y Acad Sci. – 2006. - V 1069. – p.62-76
8. Ines Colmegna, et al. Defective proliferative capacity and accelerated telomeric loss of hematopoietic progenitor cells in rheumatoid arthritis/ARTHRITIS & RHEUMATISM Vol. 58, No. 4, April 2008, pp 990-1000
9. Shahabi S, Hassan ZM, Jazani NH, Ebtekar M. Med Hypotheses. – 2006. – V 67. – N 4. – p.900-903.

**Анкета участника**

<b>Ф.И.О.</b>	Абрамова Татьяна Яковлевна
<b>Место работы:</b>	УРАМН НИИ КИ СО РАМН, г. Новосибирск, Россия
<b>Должность, звание:</b>	Ведущий научный сотрудник, д.м.н.
<b>Адрес:</b>	г. Новосибирск, ул. Ядринцевская 14
<b>Е-mail, телефон для связи:</b>	<a href="mailto:tatjana-abramova@mail.ru">tatjana-abramova@mail.ru</a> (383) 2282120
<b>Название статьи/доклада, авторы:</b>	СРАВНЕНИЕ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕРНЫХ РАЙОНОВ ДНК ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ Абрамова Т.Я., Абрамов С.В., Борисов В.И., Сизиков А.Э., Кожевников В.С.
<b>Необходимость размещения в гостинице</b>	

<b>Форма участия:</b>	<b>отметить</b>	
	Устный доклад	
	Стендовый доклад	
	Только публикация статьи	+