

Н. В. Никитченко¹, И. Ю. Бакутенко¹, А. М. Чичко², Е. В. Сечко², Н. И. Рябоконт¹

МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ ЛОКУСЫ ГЕНОВ *PSMA6*, *FAM177A1* И *PRORP* КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ В СУСТАВАХ У ДЕТЕЙ

¹Государственное научное учреждение
«Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси»
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

e-mail: n.ryabokon@igc.by

²Учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет»
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83

У педиатрических пациентов с воспалительным процессом в суставах различной этиологии, а именно с диагнозом ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) и с суставным синдромом без аутоиммунной этиологии, а также в группе клинического контроля (без аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний) проведено генотипирование полиморфизма хромосомной области 14q13.2–14q13 по пяти микросателлитным локусам генов *PSMA6*, *FAM177A1* и *PRORP*: HSMS006 (TG)_n, HSMS602 (CAA)_n(A)_m, HSMS701 (AC)₅AT(AC)_n, HSMS702 (TG)_n и HSMS801 (CA)_n. При анализе частот полиморфных микросателлитных повторов у пациентов с воспалением суставов различной этиологии по сравнению с контролем было выделено пять аллелей генов *FAM177A1* и *PRORP*: 170 п. н. HSMS602, 138 п. н. HSMS701, 124 п. н. HSMS702, 137 и 151 п. н. HSMS801, — которые ассоциированы с риском воспаления суставов в детском возрасте. Сравнительный анализ групп с ЮИА и суставным синдромом не аутоиммунной этиологии позволил обнаружить еще один аллель гена *PSMA6* (189 п. н. HSMS006), который связан с риском ЮИА и, таким образом, возможно, с возникновением аутоиммунной компоненты при воспалении суставов у детей.

Ключевые слова: микросателлитные локусы, гены *PSMA6*, *FAM177A1* и *PRORP*, суставной синдром, ювенильный идиопатический артрит, воспалительный процесс, фрагментный анализ.

Для цитирования: Микросателлитные локусы генов *PSMA6*, *FAM177A1* и *PRORP* как генетические маркеры предрасположенности к развитию воспалительного процесса различной этиологии в суставах у детей / Н. В. Никитченко, И. Ю. Бакутенко, А. М. Чичко [и др.] // Молекулярная и прикладная генетика: сб. науч. тр. / Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси; редкол.: А. В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. — Минск, 2025. — Т. 39. — С. 74–83.

Введение

Микросателлитные повторы составляют около 3% человеческого генома и представляют собой участки повторяющихся олигонуклеотидных мотивов или тандемных повторов. Микросателлиты состоят из 5–30 повторов, каждый из которых содержит 1–13 нуклеотидов, из-за чего их еще называют короткими тандемными повторами (Short Tandem Repeat — STR) [1]. Они распространены по всему геному и расположены чаще всего в нетранскрибируемых и нетранслируемых

участках, в то же время являются важными компонентами последовательностей, регулирующих экспрессию генов: энхансеров, сайленсеров и инсуляторов. Микросателлиты также вовлечены в ряд других процессов, протекающих в клетке: в альтернативный сплайсинг, рекомбинацию и репарацию ДНК. Таким образом, очевидно, что микросателлиты причастны к различным аспектам функционирования генома. Изучение этих процессов важно для понимания механизмов регуляции генов и их роли в развитии различных патологий.

Известно, что микросателлиты вовлечены в патогенез около 50 заболеваний человека, большинство из которых являются тяжелыми дегенеративными [2].

Основу полиморфизма микросателлитов составляют различия в числе повторяющихся единиц. Показано, что большинство микросателлитов, ассоциированных с патологиями у человека (саркоидоз, болезнь Альцгеймера, диабет 1-го и 2-го типов и т. д.), располагаются в генах, кодирующих ферменты; при этом во многих случаях прослеживается влияние длины микросателлита на функции гена [3]. В некоторых случаях патологическое увеличение количества нуклеотидных повторов в нестабильных участках генома может приводить к развитию болезней экспансии нуклеотидных повторов. Эти заболевания обусловлены нарушением функции протеинов, и наиболее известными из них являются спинальная и бульбарная мышечная атрофия (болезнь Кеннеди), а также синдром ломкой X-хромосомы (синдром Мартина – Белл). В целом, в настоящее время обнаружено более 30 патологий, характеризующихся экспансией нуклеотидных повторов [2, 4].

Т. Sjakste с соавторами установлена ассоциация микросателлитных повторов в отдельных локусах слабоизученной хромосомной области 14q13.2–14q13 с гипертиреозом (болезнь Базедова) [5] и ювенильным идиопатическим артритом (ЮИА) [6] в латвийской популяции, а также диабетом 2-го типа в латвийской и финской популяциях [7], что делает исследование в данном направлении многообещающими. В указанной хромосомной области авторами изучались пять микросателлитных локусов трех генов: протеасомного гена *PSMA6* (Proteasome Subunit Alpha Type 6) и прилегающих к нему генов *FAM177A1* (Family With Sequence Similarity 177 Member A1, также известный как *C14orf24*) и *PRORP* (Protein Only RNase P Catalytic Subunit, известный как *KIAA0391*).

Ген *FAM177A1* кодирует белок, участвующий в ингибировании сигнального пути интерлейкина-1 β (IL-1 β), мощного провоспалительного цитокина [8].

Ген *PRORP* кодирует каталитическую субъединицу митохондриальной РНКазы Р, необходимую для процессинга митохондриальных

тРНК и, следовательно, для нормальной функции митохондрий [9, 10]. Митохондриальный биогенез зависит как от ядерного, так и от митохондриального генома, и дисбаланс в их экспрессии может привести к врожденным ошибкам метаболизма, воспалению и старению [11]. Hong с соавторами провели метаанализ ассоциаций по всему геному и выявили более 241 локуса восприимчивости к воспалительным заболеваниям кишечника, а также идентифицировали новые ассоциации, в частности, rs57275892 в новом локусе *PRORP/PSMA6* [12].

Ген *PSMA6* отвечает за синтез субъединицы альфа 6 протеасомы 20S. Протеасома — это многобелковый комплекс, предназначенный для разрушения дефектных или короткоживущих белков в клетке и, таким образом, для сохранения клеточного гомеостаза. Это крупномолекулярная мультикаталитическая протеаза, которая способна гидролизовать белки до более мелких пептидов как по убиквитинзависимому, так и по убиквитин-независимому механизму [13]. В работе Wang J. с соавторами [14] описывается повышенная концентрация протеасом при отдельных системных аутоиммунных заболеваниях, таких как системная красная волчанка и ревматоидный артрит, связывая это с усилением симптомов. Авторы объясняют это наблюдение вовлеченностью протеасом в регуляцию активации NF- κ B — антиапоптотического и провоспалительного регулятора экспрессии цитокинов, которые играют важные роли в развитии воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

Имеющиеся данные [8–14] дали нам основание предполагать, что нестабильность микросателлитных повторов хромосомной области 14q13.2–14q13 может быть связана с различными воспалительными процессами соединительной ткани, включая суставы. Воспаление суставов (суставной синдром) в детском возрасте является симптомом ряда заболеваний, включая неспецифические артриты, артралгию, реактивную артропатию, синовит, ЮИА и другие. В целом генетическая природа воспаления суставов слабо изучена, что объясняется вовлечением большого числа генов в возникновение воспалительной реакции и в патогенез перечисленных заболеваний [15].

Целью представленной работы был поиск связи между микросателлитной изменчивостью хромосомной области 14q13.2–14q13, включающей гены *PSMA6*, *FAM177A1* и *PRORP*, и воспалительными заболеваниями суставов у детей.

Материалы и методы

Участники исследования

Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации. Оно одобрено комитетом по этике учреждения здравоохранения «2-я городская детская клиническая больница» (г. Минск), являющегося клинической базой 1-й кафедры детских болезней учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет». Пациенты были включены в исследование при прохождении ими терапии в 2012–2021 гг. в учреждении здравоохранения «2-я городская детская клиническая больница» после подписания добровольного информированного согласия на участие в научных исследованиях. За пациентов в возрасте до 16 лет информированное согласие подписали их родители.

Общее количество участников исследования составило 663 человека в возрасте от 1 года до 17 лет, которые были включены в различные группы исследования в соответствии с диагнозом. Из них 368 человек без аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваний составили группу клинического контроля, 182 пациента вошли в группу с системным аутоиммунным ревматическим забо-

леванием, а именно с диагнозом ювенильный идиопатический артрит (ЮИА), и 113 человек — с суставным синдромом без аутоиммунной этиологии. Среди пациентов с ЮИА преобладающим диагнозом (более 50%) был олигоартрит (M08.4 в соответствии с Международной классификацией болезней МКБ-10), а в группе с суставным синдромом — артрит неуточненный (M13.9). Воспалительный процесс у большинства пациентов в основных группах исследования затрагивал один или несколько (до трех) суставов.

Базовые демографические характеристики групп исследования представлены в таблице 1. Распределение по возрасту и полу в группах исследования соответствовало демографическим характеристикам этих заболеваний в белорусской популяции (неопубликованные данные).

Выделение и исследование ДНК

Геномную ДНК выделяли из образцов периферической цельной крови стандартным фенол-хлороформным методом.

Генотипирование образцов ДНК проведено в хромосомной области 14q13.2–14q13 по пяти микросателлитным локусам: HSMS006 (TG)_n гена *PSMA6*; HSMS602 (CAA)_n (A)_m гена *FAM177A1*; HSMS701 (AC)₅AT(AC)_n, HSMS702 (TG)_n и HSMS801 (CA)_n гена *PRORP*. Генотипирование основано на амплификации участков ДНК с последующей проверкой наличия продуктов ПЦР путем электрофореза в 1%-ом агарозном геле и на фрагментном анализе ПЦР-продуктов. Использованы праймеры с флуоресцентными метками и следующие условия амплификации, подробно описанные

Таблица 1

Демографические характеристики групп исследования

Группы исследования	Число пациентов, n (%)	Пол, м / ж, n (%)	Возраст на момент обследования, годы Среднее значение ± стандартное отклонение
Контроль клинический	368 (55,51)	205 / 163 (55,7 / 44,3)	14 ± 2,48
Ювенильный идиопатический артрит	182 (27,45)	66 / 116 (36,3 / 63,7)	9 ± 4,95
Суставной синдром без аутоиммунной этиологии	113 (17,04)	63 / 50 (55,8 / 44,2)	9 ± 5,16
Все участники исследования	663 (100,0)	334 / 329 (50,4 / 49,6)	12 ± 4,66

в работе [5]: денатурация при 94 °С в течение 5 мин; 35 циклов амплификации — 30 сек денатурации при 94 °С; 30 сек отжига при 55 °С (60 °С для HSMS006); 30 сек элонгация при 72 °С, 10 мин при 72 °С; охлаждение до 4 °С.

Фрагментный анализ продуктов амплификации проводился методом автоматического капиллярного электрофореза с полихромным лазерным сканированием на анализаторе «ABI PRISM 3500» (Applied Biosystems, США); использовались капилляры длиной 50 см и 7%-й раствор полимера POP-7 (Applied Biosystems).

Подготовка реакционной смеси выполнялась в соответствии с инструкцией фирмы-производителя генетического анализатора.

Анализ длины фрагментов проводился с помощью пакета программ GeneMapper v.4.1 (Microsatellite Analysis Getting Started Guide). Для каждого микросателлитного локуса выбирались один или два пика с максимальной концентрацией фрагментов, свидетельствующих соответственно о гомозиготном или гетерозиготном состоянии микросателлита (рис. 1).

Уточнение длины фрагментов выполнено

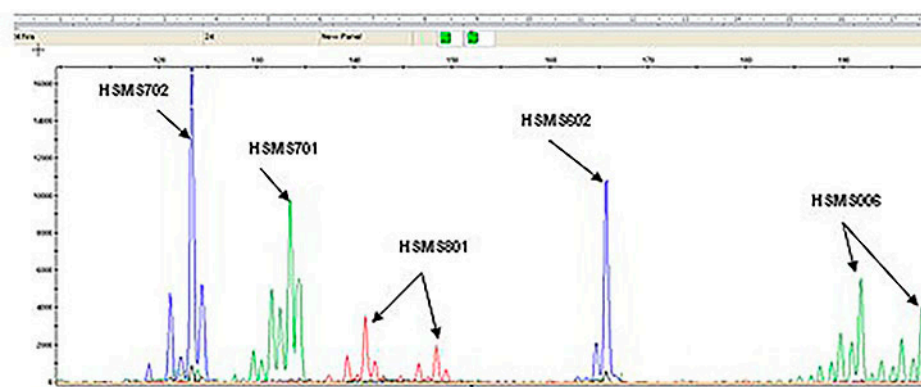


Рис. 1. Пример электрофореграмм исследуемых микросателлитных локусов HSMS702, HSMS701, HSMS801, HSMS602 и HSMS006 с указанием стрелками фрагментов, имеющих максимальную концентрацию (пик): одиночная стрелка — один пик при гомозиготном состоянии, двойная стрелка — два пика при гетерозиготном состоянии микросателлита

на том же приборе путем секвенирования по Сэнгеру выбранных образцов ДНК, полученных от гомозиготных особей. Пример секвеннограммы представлен на рис. 2.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакетов программ

STATISTICA 7.0 (Statsoft), MS Excel 2010. Об ассоциации аллелей с заболеванием судили по величине показателя отношения шансов (OR — odd ratio) и 95% доверительного интервала (95% CI — 95% confidence interval). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

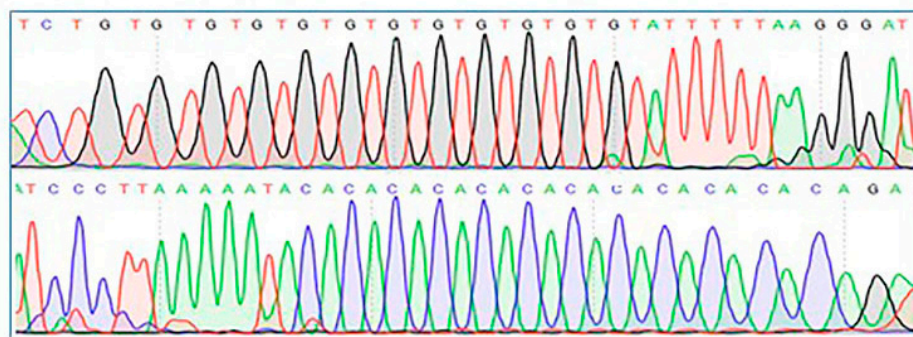


Рис. 2. Фрагмент секвеннограммы микросателлитного локуса HSMS702, содержащего 12 TG повторов, при использовании прямого (верхний рисунок) и обратного праймеров (нижний рисунок)

Результаты и обсуждения

Проведенные исследования показали, что диапазон длин микросателлитных локусов на исследуемом хромосомном участке 14q13.2–14q13 у детей белорусской популяции был следующим: 171–195 п. н. HSMS006 (диапазон повторов $(TG)_{15}-(TG)_{26}$), 166–177 п. н. HSMS602 ($(CAA)_7(A)_6-(CAA)_{10}(A)_8$), 126–142 п. н. HSMS701 ($(AC)_5AT(AC)_{14}-(AC)_5AT(AC)_{22}$), 124–150 п. н. HSMS702 ($(TG)_{12}-(TG)_{24}$) и 129–155 п. н. HSMS801 ($(CA)_{11}-(CA)_{24}$). При этом обнаружена высокая вариабельность полиморфных аллелей каждого микросателлитного локуса: в среднем около 10 аллелей на локус в каждой группе исследования, — что характерно для микросателлитов в целом и соответствует известным литературным данным по этому хромосомному участку в латвийской и финской популяциях [3, 5–7].

Полный перечень аллелей в нашем исследовании был следующий:

171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193 и 195 п. н. HSMS006;

166, 167, 168, 169, 170, 171, 174 и 177 п. н. HSMS602;

126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140 и 142 п. н. HSMS701;

124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 142, 144, 148 и 150 п. н. HSMS702;

129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153 и 155 п. н. HSMS801.

Сравнительный анализ частот встречаемых аллелей между исследуемыми группами пациентов выявил несколько особенностей. Так, из всего разнообразия обнаруженных аллелей было отмечено восемь (табл. 2), которые имели значимо более высокие или низкие частоты при суставном синдроме и/или при ЮИА по сравнению с группой клинического контроля. При этом существенные различия между группами с ЮИА и суставным синдромом отсутствовали. Это позволило объединить данные этих групп по 7 (из 8) аллелям, которые имели тенденции в одном направлении (протективные или рискованные), и тем самым повысить статистическую значимость для большинства полученных результатов в объединенной группе, которая имеет одну общую составляющую — воспаление суставов. Таким образом, были выявлены семь микросателлитных аллелей (табл. 2), которые с высокими уров-

нями значимости (от 0,006 и менее) были ассоциированы с воспалительным процессом суставов различной этиологии. При этом пять аллелей: 170 п. н. HSMS602, 138 п. н. HSMS701, 124 п. н. HSMS702, 137 и 151 п. н. HSMS801 — были связаны с повышенным риском, и только два аллеля: 167 п. н. HSMS602 и 136 п. н. HSMS701 — имели протективное значение по отношению к воспалению суставов у детей.

В отличие от перечисленных аллелей, представленных в табл. 2, один аллель 130 п. н. HSMS702 показал свое протективное значение в отношении ЮИА ($OR = 0,26 [0,08-0,86]$, $p = 0,019$), но не в группе суставного синдрома без аутоиммунной этиологии, что не позволило объединить эти данные в одну группу и, скорее всего, указывает на связь этого аллеля только с ЮИА. Однако низкая частота встречаемости этого аллеля у пациентов с ЮИА требует подтверждения полученных результатов на большей выборке пациентов.

Кроме того, было обнаружено два аллеля (табл. 3): 189 п. н. HSMS006 и 141 п. н. HSMS801, — частота которых значимо ($p < 0,05$) отличалась у пациентов с аутоиммунным ревматическим заболеванием ЮИА по сравнению с суставным синдромом без аутоиммунной компоненты. Частота аллеля 189 п. н. HSMS006 была существенно выше в группе с ЮИА. Эти данные, по-видимому, указывают на связь аллеля 189 п. н. HSMS006 с возникновением аутоиммунной реакции при воспалительном процессе в суставах и на то, что он может быть использован в качестве маркера повышенного риска возникновения ЮИА у пациентов с выявленным суставным синдромом. И наоборот, в отношении аллеля 141 п. н. HSMS801, показавшего протективное действие как по сравнению с суставным синдромом (табл. 3), так и с клиническим контролем ($OR = 0,32 [0,17-0,62]$, $p = 0,0022$), можно предположить его использование в качестве маркера пониженного риска ЮИА (табл. 3).

Микросателлитные повторы $(TG)_n$ HSMS006 расположены в интроне 6 протеасомного гена *PSMA6*, и их связь с аутоиммунными заболеваниями (гипертиреозом, диабетом 2-го типа и ЮИА) была установлена в латвийской и частично финской популяциях [3, 5, 6]. В наших предыдущих работах было выявлено, что гено-

Таблица 2
 Анализ частот аллелей микросателлитных повторов на хромосомном участке 14q13.2–14q13 у пациентов с диагнозом ЮИА и суставным синдромом без аутоиммунной компоненты по сравнению с группой клинического контроля (представлены данные, статистически значимо отличающиеся от группы клинического контроля)

Название микросателлита, нуклеотидный мотив	Аллели, п. н.	Клинический контроль (общее N = 736), n (%)	Суставной синдром без аутоиммунной этиологии (общее N = 226)			ЮИА (общее N = 364)			Объединенные данные по суставному синдрому без аутоиммунной этиологии и ЮИА (общее N = 590)		
			n, %	OR [95% CI]	p	n, %	OR [95% CI]	p	n, %	OR [95% CI]	p
HSMS602, (CAA) _n (A) _m	167	215 (29,21)	47 (20,80)	0,64 [0,44–0,91]	0,013	75 (20,60)	0,63 [0,47–0,85]	0,002	122 (20,68)	0,63 [0,49–0,82]	0,0004
	170	58 (7,88)	33 (14,60)	2,0 [1,27–3,15]	0,004	50 (13,74)	1,86 [1,25–2,78]	0,003	88 (14,17)	2,05 [1,44–2,91]	0,00006
HSMS701, (AC) ₅ AT(AC) _n	136	223 (30,38)	37 (16,37)	0,45 [0,3–0,66]	0,00002	63 (17,31)	0,48 [0,35–0,66]	0,000002	100 (16,95)	0,47 [0,36–0,61]	0,000000
	138	98 (13,32)	51 (22,57)	1,9 [1,3–2,77]	0,001	63 (17,31)	1,36 [0,97–1,92]	0,085	114 (19,32)	1,55 [1,16–2,09]	0,004
HSMS702, (TG) _n	124	383 (52,04)	140 (61,95)	1,5 [1,11–2,04]	0,009	215 (59,07)	1,33 [1,03–1,71]	0,029	355 (60,17)	1,39 [1,12–1,73]	0,003
	130	23 (3,13)	6 (2,65)	0,85 [0,34–2,10]	0,826	3 (0,82)	0,26 [0,08–0,86]	0,019	–	–	–
HSMS801, (CA) _n	137	82 (11,14)	40 (17,70)	1,72 [1,14–2,59]	0,011	57 (15,66)	1,48 [1,03–2,13]	0,042	97 (16,55)	1,57 [1,14–2,15]	0,006
	151	35 (4,76)	25 (11,06)	2,49 [1,46–4,26]	0,001	27 (7,42)	1,6 [0,96–2,70]	0,094	52 (8,81)	1,94 [1,24–3,01]	0,004

Примечание. n — количество аллелей в группах; п/ж начертанием выделены статистически значимые результаты

Таблица 3

Сравнительный анализ частот микросателлитных аллелей на хромосомном участке 14q13.2–14q13 у пациентов с диагнозом ЮИА и суставным синдромом без аутоиммунной компоненты (представлены статистически значимые результаты)

Название микросателлита, нуклеотидный мотив	Аллели, п. н.	Суставной синдром без аутоиммунной этиологии (общее N = 226), n (%)	ЮИА (общее N = 364)		
			n (%)	OR [95% CI]	P
HSMS006, (TG) _n	189	20 (8,85)	55 (15,11)	1,83 [1,07-3,15]	0,031
HSMS801, (CA) _n	141	16 (7,08)	11 (3,02)	0,41 [0,19-0,90]	0,026

Примечание. n — количество аллелей в группах; п/ж начертанием выделены статистически значимые результаты

тип G/C rs1048990 гена *PSMA6* ассоциирован с риском возникновения ЮИА в целом, особенно у девочек, а также с олигоартикулярной формой ЮИА (или олигоартритом) в частности [16, 17]. Эти данные подтверждают наличие тесной связи между изменчивостью гена *PSMA6* и риском возникновения аутоиммунной реакции в различных органах.

Существует предположение о влиянии полиморфной изменчивости (длины) микросателлитных повторов протеасомного гена *PSMA6* на функциональную активность самого гена и, соответственно, на предрасположенность к патологии [3]. Одним из возможных механизмов его участия в воспалительных и аутоиммунных реакциях допускается регуляция активности фактора транскрипции NF-κB, играющего ключевые роли в этих реакциях. Активная форма NF-κB представляет собой гетеродимер, состоящий из субъединицы p65 и субъединицы p50. Последняя представлена в цитозоле клетки в неактивной форме, а именно p105, полипептидного предшественника p50. Кроме того, преобразованные p50 и p65 поддерживаются в цитозоле в виде неактивного комплекса с ингибирующим белком IκB. Сигналы воспаления активируют NF-κB в результате инициации сигнального пути на полную деградацию IκB и стимулируют также превращение p105 в p50. Таким образом, для сигнала, индуцирующего активацию NF-κB, требуется два протеолитических события, оба определяемые убиквитин-протеасомным путем. Повышенная активность протеасомного гена *PSMA6* может усиливать убиквитин-протеасомный путь, который активирует фактор

транскрипции NF-κB, и наоборот, низкая экспрессия гена может вызывать снижение активности NF-κB [3, 18, 19].

Фактор транскрипции NF-κB играет плеiotропную роль в иммунной системе и, в частности, участвует в миграции иммунных эффекторных клеток, обеспечивая секрецию провоспалительных цитокинов. Неудивительно, что генетические варианты, влияющие на функцию эффекторов или на потерю функции негативных регуляторов пути NF-κB, ответственны за аутоиммунные или воспалительные заболевания. Можно сказать, что NF-κB действует на перекрестке многих сигнальных путей. Неправильная или чрезмерная активация NF-κB может привести к воспалительным заболеваниям и раку [18, 20]. Хорошо известно также, что активация NF-κB тесно связана с патогенезом ревматоидного артрита — тяжелого аутоиммунного заболевания у взрослых, которое характеризуется хроническим воспалением синовиальной ткани и, как следствие, повреждением костей и хрящей [20, 21].

Четыре других микросателлитных повтора, исследуемых в нашей работе, также локализованы в интронах [3]. Первый повтор (CAA)_n HSMS602 — в гене *FAM177A1*, кодирующего белок, локализованный в комплексе Гольджи, участвующий в ингибировании сигнального пути интерлейкина-1β (IL-1β), мощного провоспалительного цитокина. Изменение экспрессии или функции *FAM177A1* влияет на его способность ингибировать TRAF6-Ubc13-зависимую передачу сигнала от рецептора IL-1β [8, 22]. Протективный аллель 167 п. н. микросателлита HSMS602 может способствовать

поддержанию оптимального уровня экспрессии *FAM177A1*, что обеспечивает адекватное сдерживание IL-1 β -опосредованного воспаления. Если *FAM177A1* эффективно подавляет этот провоспалительный путь, то аллели, поддерживающие или усиливающие эту функцию, логично должны снижать риск развития воспалительных заболеваний. И наоборот, микросателлитные аллели, снижающие активность гена *FAM177A1*, могут способствовать развитию провоспалительной цепочки событий. К последним, возможно, относится аллель 170 п. н. микросателлита HSMS602 (табл. 2).

Три оставшихся интронных повтора (AC)_mAT(AC)_n HSMS701, (TG)_n HSMS702 и (CA)_n HSMS801 локализованы в гене *PRORP*, кодирующем эндонуклеазную субъединицу Р митохондриального рибонуклеазного комплекса, ответственного за созревание транспортной РНК [23]. Интронные микросателлиты способны влиять на процессы сплайсинга мРНК, ее стабильность или участвовать в формировании регуляторных некодирующих РНК [24]. Это подтверждается существованием естественного химерного некодирующего транскрипта *PRORP-PSMA6*, обнаруженного в 2022 г. Сквозной транскрипт представляет собой мРНК и вряд ли будет производить белковый продукт, но может иметь регуляторное значение [25].

Тем не менее, накопленных данных недостаточно, чтобы объяснить роль генов *PSMA6*, *FAM177A1* и *PRORP* в возникновении воспалительных и/или аутоиммунных реакций. Их изучение имеет особое значение, поскольку этот регион неоднократно связывался с предрасположенностью к различным аутоиммунным и воспалительным заболеваниям, включая ЮИА [5, 6]. Близость этих генов повышает вероятность их совместного наследования в виде гаплотипов, а также возможность существования общих регуляторных элементов, координирующих их экспрессию. Эта область генома активно изучается, т. к. она может привести к пониманию новых фундаментальных механизмов межгенных взаимодействий и их влияния на многофакторные заболевания [23], а также к разработке новых методов диагностики. Результаты нашей работы указывают на ассоциацию исследуемых микросателлитов генов *FAM177A1* и *PRORP* с воспалительным

процессом в суставах при различных формах суставного синдрома, включая аутоиммунное заболевание ЮИА. Эти результаты находятся в соответствии и расширяют данные, полученные Т. Sjakste с соавторами [3], которые впервые описали микросателлитную изменчивость на хромосомном участке 14q13.2–14q13 в связи с ЮИА в латвийской популяции.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование представило описание микросателлитных локусов на хромосомном участке 14q13.2–14q13 у детей, проживающих на территории Беларуси. Впервые была установлена ассоциация микросателлитных повторов в генах *FAM177A1* и *PRORP* с суставным синдромом различной этиологии, свидетельствуя об их вовлеченности в воспалительный процесс суставов в детском возрасте. Кроме того, обнаружено, что микросателлитный аллель (189 п. н. HSMS006), локализованный в гене *PSMA6*, ассоциирован с риском ЮИА, но не суставного синдрома без аутоиммунной этиологии, что, по-видимому, указывает на его участие в возникновении аутоиммунной реакции при воспалительном процессе в суставах. Полученные данные раскрывают новые функциональные роли генов *PSMA6*, *FAM177A1* и *PRORP* и могут служить основой для разработки дополнительных критериев оценки предрасположенности к воспалительным и аутоиммунным реакциям в суставах у детей.

Работа проведена в рамках задания 2.28 подпрограммы «Геномика» ГПНИ «Фундаментальные основы биотехнологий» в 2012–2014 гг. и мероприятия 6.4 НТП Союзного государства «ДНК-идентификация» в 2017–2021 гг. Фрагментный анализ выполнен в центре коллективного пользования «Геном» Государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси» с использованием прибора «ABI PRISM 3500» (Applied Biosystems, США). Авторы выражают благодарность сотрудникам центра за обслуживание прибора, а также медицинским работникам Учреждения здравоохранения «2-я городская клиническая больница», участвующим в сборе биологического материала.

Список использованных источников

1. Initial sequencing and analysis of the human genome / E. S. Lande, L. M. Linton, B. Birren [et al.] // *Nature*. – 2001. – Vol. 409, № 6822. – P. 860–921.
2. Khristich, A. N. On the wrong DNA track: Molecular mechanisms of repeat-mediated genome instability / A. N. Khristich, S. N. Mirkin // *Journal of Biological Chemistry*. – 2020. – Vol. 295, № 13. – P. 4134–4170.
3. Sjakste, T. Functional significance of microsatellite markers / T. Sjakste, N. Paramonova, N. Sjakste // *Medicina (Kaunas)*. – 2013. – Vol. 49, № 12. – P. 505–509.
4. Нестабильность микросателлитных повторов при неопухолевых заболеваниях легких: взаимосвязь с воспалением / К. А. Сычевская, М. В. Ерохина, С. К. Кравченко, Л. Н. Лепеха // *Практическая пульмонология*. – 2021. – № 1. – С. 52–60.
5. Microsatellite genotyping of chromosome 14q13.2–14q13 in the area of proteasomal gene *PSMA6* and association with Graves' disease in the Latvian population / T. Sjakste, J. Eglite, A. Sochnevs [et al.] // *Immunogenetics*. – 2004. – Vol. 56, № 4. – P. 238–243.
6. Identification of a novel candidate locus for juvenile idiopathic arthritis at 14q13.2 in the Latvian population by association analysis with microsatellite markers / T. Sjakste, I. Trapina, I. Rumba-Rozenfelde [et al.] // *DNA and Cell Biology*. – 2010. – Vol. 29, № 9. – P. 543–551.
7. Association of microsatellite polymorphisms of the human 14q13.2 region with type 2 diabetes mellitus in Latvian and Finnish populations / T. Sjakste, M. Kalis, I. Poudziunas [et al.] // *Annals of Human Genetics*. – 2007. – Vol. 71, Part 6. – P. 772–776.
8. FAM177A1 Inhibits IL-1 β -Induced Signaling by Impairing TRAF6-Ubc13 Association / B. W. Liao, H. Y. Zhang, W. T. Du [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2021. – Vol. 207, № 12. – P. 3090–3097.
9. Reinhard, L. Structure of the nuclease subunit of human mitochondrial RNase P / L. Reinhard, S. Sridhara, B. M. Hällberg // *Nucleic Acids Research*. – 2015. – Vol. 43, № 11. – P. 5664–5672.
10. Bi-allelic variants in the mitochondrial RNase P subunit PRORP cause mitochondrial tRNA processing defects and pleiotropic multi-system presentations / I. Hochberg, L. A. M. De-main, J. Richer [et al.] // *The American Journal of Human Genetics*. – 2021. – Vol. 108, № 11. – P. 2195–2204.
11. Cytosolic *N6AMT1*-dependent translation supports mitochondrial RNA processing / M. M. Foged, E. Reczens, S. Chollet [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2024. – Vol. 121, № 47. – e2414187121.
12. Immunochip Meta-Analysis of Inflammatory Bowel Disease Identifies Three Novel Loci and Four Novel Associations in Previously Reported Loci / M. Hong, B. D. Ye, S. K. Yang [et al.] // *Journal of Crohn's and Colitis*. – 2018. – Vol. 12, № 6. – P. 730–741.
13. Сорокин, А. В. Протеасомная система деградации и процессинга белков / А. В. Сорокин, Е. Р. Ким, Л. П. Овчинников // *Успехи биологической химии*. – 2009. – Т. 49. – С. 3–76.
14. Wang, J. The ubiquitin-proteasome system and its role in inflammatory and autoimmune diseases / J. Wang, M. A. Maldonado // *Cellular and Molecular Immunology*. – 2006. – Vol. 3, № 4. – P. 255–261.
15. Osteoarthritis: trauma vs disease / G. Jiménez, J. Cobo-Molinos, C. Antich, E. López-Ruiz // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2018. – Vol. 1059. – P. 63–83.
16. Полиморфные варианты генов *PSMA6* и *PSMC6* как факторы предрасположенности к ювенильному идиопатическому артриту в белорусской популяции / И. Ю. Бакутенко, И. Д. Гилевская, Н. В. Никитченко [и др.] // *Молекулярная и прикладная генетика: сб. науч. тр.* – 2019. – Т. 27. – С. 39–45.
17. Polymorphism of proteasomal genes can be a risk factor for systemic autoimmune diseases in children / I. Y. Bakutenko, I. D. Hileuskaya, N. V. Nikitchenko [et al.] // *Journal of Pediatric Genetics*. – 2021. – Vol. 10, № 2. – P. 98–104.
18. NF- κ B: At the borders of autoimmunity and inflammation / L. Barnabei, E. Laplantine, W. Mbongo [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – 716469.
19. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs / L. Chen, H. Deng, H. Cui [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 9, № 6. – P. 7204–7218.
20. Valin, A. The role of the transcriptional regulation of stromal cells in chronic inflammation / A. Valin, J. L. Pablos // *Biomolecules*. – 2015. – Vol. 5, № 4. – P. 2723–2757.

21. Firestein, G. S. NF- κ B: holy grail for rheumatoid arthritis / G. S. Firestein // *Arthritis and Rheumatology*. – 2004. – Vol. 50. – P. 2381–2386.
22. VPS13B is localized at the interface between Golgi cisternae and is a functional partner of FAM177A1 / B. Ugur, F. Schueder, J Shin [et al.] // *Journal of Cell Biology*. – 2024. – Vol. 223, № 12. – e202311189.
23. Rossmann, W. Discovery, structure, mechanisms, and evolution of protein-only RNase P enzymes / W. Rossmann, Ph. Giegé, R. K. Hartmann // *Journal of Biological Chemistry*. – 2024. – Vol. 300, № 3. – 105731.
24. Sjakste, T. Structural and functional significance of microsatellites / T. Sjakste, N. Paramonova, N. Sjakste // *Biopolymers and Cell*. – 2016. – Vol. 32, № 5. – P. 334–346.
25. An integrative database of all non-coding RNA (ncRNA) human genes. – URL: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PRORP-PSMA6#publications> (date of access: 11.06.2025).

N. V. Nikitchenko¹, I. Y. Bakutenko¹, A. M. Tchichko², E. V. Sechko², N. I. Ryabokon¹

MICROSATELLITE LOCI OF THE *PSMA6*, *FAM177A1* AND *PRORP* GENES AS GENETIC PREDISPOSITION MARKERS TO THE DEVELOPMENT OF THE INFLAMMATORY PROCESS OF VARIOUS ETIOLOGY IN CHILDREN'S JOINTS

¹State Scientific Institution

“Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus”

27 Akademicheskaya St., 220072 Minsk, the Republic of Belarus

e-mail: n.ryabokon@igc.by

²Belarusian State Medical University

83 Dzerzhinsky Ave., Minsk 220116, the Republic of Belarus

In pediatric patients with an inflammatory process in joints of various etiology, namely with a diagnosis of juvenile idiopathic arthritis (JIA) and the articular syndrome of non-autoimmune etiology, as well as in the clinical control group (without autoimmune and chronic inflammatory diseases), genotyping of the polymorphism of the chromosomal region 14q13.2–14q13 was performed by 5 microsatellite loci of the *PSMA6*, *FAM177A1* and *PRORP* genes: HSMS006 (TG)_n, HSMS602 (CAA)_n(A)_m, HSMS701 (AC)₅AT(AC)_n, HSMS702 (TG)_n и HSMS801 (CA)_n. When analyzing the frequencies of polymorphic microsatellite repeats in patients with the inflammation of joints of various etiology compared to the control, 5 alleles of the *FAM177A1* and *PRORP* genes were identified: 170 bp HSMS602; 138 bp HSMS701; 124 bp HSMS702; 137 and 151 bp HSMS801 associated with joint inflammation risk in childhood. The comparative analysis of groups with the JIA and the articular syndrome of non-autoimmune etiology made it possible to detect one more allele of the *PSMA6* gene (189 bp HSMS006), which is associated with JIA risk and, thus, possibly with the emergence of an autoimmune component in the inflammation of joints in children.

Keywords: microsatellite loci, *PSMA6*, *FAM177A1* and *PRORP* genes, articular syndrome, juvenile idiopathic arthritis, joint inflammation, fragment analysis.

Дата поступления в редакцию: 16 июня 2025 г.