

РОЛЬ SNP-МУТАЦИЙ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Проф. Е. Я. Гречанина, А. И. Безродная*, доц. Э. М. Ходош**, доц. П. И. Потейко**

Харьковский национальный медицинский университет,
*Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина,
**Харьковская медицинская академия последипломного образования

В статье исследована распространенность полиморфных вариантов генов цитокинов IL4 C-589T, IL17F His-161 Arg среди пробандов с разными степенями тяжести бронхиальной астмы. Hmzg-полиморфизм по аллелю C-589T гена IL4 не встречается среди больных с I и III формами тяжести. Носители Htzg-полиморфизма по гену IL17F чаще встречаются среди больных с тяжелой персистирующей формой.

РОЛЬ SNP-МУТАЦІЙ ГЕНІВ ЦИТОКІНІВ ПРИ БРОНХІАЛЬНІЙ АСТМІ

Проф. О. Я. Гречанина, А. І. Безродна*,
доц. Е. М. Ходош**, доц. П. І. Потейко**

У статті досліджено розповсюдженість поліморфних варіантів генів цитокінів IL4 C-589T, IL17F His-161 Arg серед пробандів з різними ступенями тяжкості бронхіальної астми. Hmzg-поліморфізм за алелем C-589T гена IL4 не зустрічається серед хворих з I і III формами тяжкості. Носії Htzg-поліморфізму за геном IL17F частіше зустрічаються серед хворих на тяжку персистувальну форму.

THE ROLE OF SNP-MUTATIONS OF CYTOKIN GENES IN PATIENTS WITH ASTHMA

E. Y. Grechanina, A. I. Bezrodnaya*,
E. M. Hodosh**, P. I. Poteyko**

We investigated the prevalence of polymorphic variants of cytokin genes: IL4 C-589T, IL17F His-161 Arg among probands with varying degrees of severity of asthma. Hmzg polymorphism C-589T allele of the gene IL4 is not found among patients with I and III forms of gravity. Carriers Htzg-gene polymorphism IL17F more common in severe persistent form.

Согласно определениям, данным в докладах рабочей группы GINA, бронхиальная астма (БА) — хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, в развитии которого принимают участие многие клетки и клеточные элементы: тучные клетки, эозинофильные гранулоциты, Т-лимфоциты и др. У предрасположенных лиц это воспаление приводит к повторяющимся эпизодам хрипов, одышки, тяжести в груди и кашля, особенно ночью и/или ранним утром. Эти симптомы обычно сопровождаются диффузной, но варьирующей обструкцией бронхиального дерева, которая, по крайней мере частично, обратима спонтанно или под влиянием лечения. Воспаление также приводит к гиперреактивности бронхов. То есть бронхообструктивные состояния, характеризующиеся хроническим аллергическим воспалением дыхательных путей, гиперреактивностью бронхов и обратимым ограничением воздушного

потока, стали объединять термином «бронхиальная астма» [4; 5; 7].

Альтернативные состояния генов, называемые аллелями и сформировавшиеся под действием механизмов эволюции, образуют широкий наследственный полиморфизм. Ген считается полиморфным, если он присутствует в популяции в виде двух и более аллелей, с частотой редкого не менее 1 %. В человеческой популяции не менее 25 % (около 10 000) генов являются полиморфными [1; 2]. SNP (Single nukleotide polimorfizm), или однонуклеотидные замены, относятся к генным мутациям.

В современной науке имеются результаты множества исследований, свидетельствующих об ассоциации аллельных вариантов генов интерлейкинов с патологическими состояниями БА вследствие опосредованности Т-клетками антигенспецифических иммунных механизмов патогенеза данного заболевания [1; 2; 6; 8].

Таблиця 1

Анализ полиморфного локуса С-589Т гена IL4, His-161Arg гена IL17F среди больных БА

БА	Частота аллеля		h_{obs}	h_{exp}	D	Генотип, n (%)		
	С	Т				СС	СТ	ТТ
Все формы	0,80	0,20	0,30	0,32	-0,0625	26(65)	12 (30)	2 (5)
	His	Arg				His His	His Arg	Arg Arg
	0,94	0,06	0,08	0,11	-0,2727	36 (89)	3 (8)	1 (3)

Примечание: IL17F — наиболее хорошо изученные по своим свойствам цитокины семейства IL17 [6; 9]; n — число генотипов, h_{obs} и h_{exp} — ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность, соответственно; D — относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой.

IL4 — плейотропный цитокин, продуцируемый Тн2-клетками и переключающий синтез изотопов иммуноглобулинов В-лимфоцитами на производство IgE. Уровень синтеза цитокина ассоциирован с определенными вариантами аллельных генов. Для гена IL4 наличие Т в положении 589 ассоциировано с гиперпродукцией IgE [8].

IL17F — цитокин Тн17-клеток, являющийся защитой от внеклеточных патогенов, которые не могут эффективно элиминироваться Тн1 и Тн2. Кроме того, он часто ассоциирован с различными аллергическими реакциями [6; 9].

Цель работы — изучение генотипа и частоты аллелей IL4 (С-589Т), IL17F (His-161 Arg) у пробандов с разными степенями тяжести бронхиальной астмы (БА).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведение молекулярно-генетических исследований осуществлялось на базе Украинского института клинической генетики Харьковского национального медицинского университета. Анализировался полиморфизм генов IL4 (С-589Т), IL17F (His-161 Arg) с помощью тест-систем ООО НТП «Литех» (г. Москва) у 40 пациентов с разными степенями тяжести БА

методом ПЦР. Детекция результатов ПЦР проводилась в 3 %-м агарозном геле. Пациенты пребывали на стационарном лечении в городском пульмонологическом центре г. Харькова (ГКБ № 13). Разницу долей оценивали с помощью угловой трансформации ф. Сравнение рядов распределения проведено с помощью критерия χ^2 на уровне значимости 0,05. Ожидаемую гетерозиготность полиморфизма генов IL4, IL17F рассчитывали по опубликованным методикам [3]. Относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой (D) рассчитывали по формуле:

$$D = (h_{obs} - h_{exp}) / h_{exp}$$

где h_{obs} и h_{exp} — ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность, соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа распределения генотипов 589 СС, 589 СТ, 589 ТТ гена IL4; 161 His His, 161 His Arg, 161 Arg Arg гена IL17F среди больных БА (табл. 1) показали, что встречаются все возможные генотипы. Выявлено, что IL17 экспрессируется в биоптате легких при БА, поскольку Тн17-клетки вовлекаются в иммунный ответ при бактериальном заражении, а также

Таблиця 2

Количество больных с разными формами БА

Степень тяжести	♀, ♂		Ж		М	
	n	%	n	%	n	%
I	24	60,0	14	58,2	10	62,6
II	4	10	4	16,7	0	0
III	3	7,5	2	8,4	1	6,3
IV	9	22,5	4	16,7	5	31,1
Σ	40	100	24	100	16	100

Примечание: n — число пар.

Таблиця 3

Распределение генотипов полиморфных локусов генов IL17F (His-161 Arg), IL4 (C-589T), CYP1A1 (Ile462 Val) среди больных с разными формами БА

Степень тяжести БА	N, n	%	Htzg, n	%	Hmzg, n	%
IL-17F						
I	23	57,5	1	2,5	1	2,5
II	4	10	0	0	0	0
III	2	5	0	0	0	0
IV	7	17,5	2	5	0	0
Σ	36	90	3	7,5	1	2,5
IL-4						
I	19	47,5	5	12,5	0	0
II	2	5	1	2,5	1	2,5
III	2	5	1	2,5	0	0
IV	3	7,5	5	12,5	1	2,5
Σ	26	65	12	30	2	5
CYP1A1						
I ст.	22	55	2	5	0	0
II ст.	4	10	0	0	0	0
III ст.	3	7,5	0	0	0	0
IV ст.	9	22,5	0	0	0	0
Σ	38	95	2	5	0	0

Примечание: n — число генотипов; IL4: N-589 CC, Htzg-589 CT, Hmzg-589 TT; IL17F: N-161 His His, Ht-161 His Arg, Hm-161 Arg Arg; CYP1A1: N-462 Ile Ile, Htzg-462 Ile Val, Hmzg-462 Val Val, * — $p < 0,05$.

патогенетически связаны с развитием хронических воспалительных заболеваний. После того как инфекционный агент проникает в организм, IL17 связывается с сигнальным рецептором IL-17RA. Такая реакция вызывает резкое увеличение нейтрофилов в организме носителя инфекции. Белые кровяные клетки нарушают работу легких и провоцируют их изменения.

Генотип 161 His His встречается в 29,6 раза чаще среди представителей с БА, чем генотип 161 Arg Arg, что подтверждается результатами исследований, проводимых на лабораторных мышах. Поломки генома IL17 обеспечивали меньшую подверженность повреждениям легких, спровоцированным вирусной инфекцией. Кроме того, у дефектных мышей был зафиксирован пониженный уровень нейтрофилов в легких [10].

Были также проанализированы результаты распределения пробандов в зависимости от формы тяжести БА (табл. 2). Среди данного контингента больных встречались все возможные степени тяжести БА согласно классификации GINA (2006): I степень — легкая

интермитирующая; II — легкая персистирующая; III — среднетяжелая персистирующая; IV степень — тяжелая персистирующая. Значительную долю, а именно 60 %, в общей выборке больных сформировали пробанды с легкой интермитирующей формой БА, что в 6 раз превышает долю больных с легкой персистирующей, в 8 раз — со среднетяжелой персистирующей и почти в 3 раза — с тяжелой персистирующей формами заболевания.

При сравнении в исследованной выборке пробандов в зависимости от пола не выявлено достоверной разницы ($p > 0,05$).

Полученные результаты анализа распределения генотипов полиморфных локусов генов IL17F (His-161 Arg), IL4 (C-589T), CYP1A1 (Ile462 Val) показали, что среди больных с разными формами БА (табл. 3) не встречается генотип 462 Val Val. По всем вышеуказанным генам было зафиксировано носительство нормального аллеля с большей частотой, чем полиморфного для представителей с легкой интермитирующей БА. Носители Htzg-полиморфизма по гену IL17F

чаще встречаются среди тяжелой персистирующей формы. По гену IL4 вышеуказанный полиморфизм встречается с одинаковой частотой у больных с I и IV, II и III степенями тяжести.

ВЫВОДЫ

1. Носители Htzg-полиморфизма по гену IL17F чаще встречаются при тяжелой персистирующей форме заболевания.

2. Hmzg-полиморфизм по аллелю C-589T гена IL4 не встречается среди больных с I и III степенями тяжести заболевания.

В перспективе планируется исследовать SNP-мутации более широкого спектра цитоклинов при БА.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Бочков Н. П. Клиническая генетика / Н. П. Бочков. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. — 480 с.
2. Гречанина Е. Я. Медицинская генетика : учебник / Е. Я. Гречанина. — К. : ВСИ «Медицина», 2010. — 552 с.
3. Животовский Л. А. Популяционная биометрия / Л. А. Животовский — М. : Наука, 1991. — 271 с.
4. Обструктивные заболевания легких. Образовательная программа для врачей / Ю. И. Фещенко, Л. А. Яшина, М. А. Полянская [и др.] — К., 2004. — 287 с.
5. Ходош Э. М. Бронхиальная астма: эволюция взглядов в аспекте GINA / Э. М. Ходош // Therapia. — 2008. — № 7–8 (28). — P. 23–28.
6. Bettelli E. Th17: the third member of effector T cell Trilogy / E. Bettelli, T. Korn, K. Vijay // Immunol. — 2007. — Vol. 19, № 6. — P. 652–657.
7. Erkoçoğlu M. Consistency of GINA criteria and childhood asthma control test on the determination of asthma control / M. Erkoçoğlu, A. Akan, E. Civelek, R. Kan [et al.] // Pediatr. Allergy Immunol. — 2011. — Vol. 4, № 10. — P. 1399–3038.
8. Hoffjan S. Genetic variation in immunoregulatory pathways and atopic phenotypes in infancy / S. Hoffjan, I. Ostrovnaia, D. Nicolae [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. — 2004. — V. 113, № 3. — P. 511–518.
9. Kurschus F. C. Genetic proof for the transient nature of the Th17 phenotype / F. C. Kurschus, A. L. Croxford, A. P. Heinen // Eur. J. Immunol. — 2010. — Vol. 40. — P. 3336–3346.
10. Stark J. M. Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus infection in inbred mice / J. M. Stark, S. A. Mc Dowell, V. Koenigsnecht // J. Med. Virol. — 2002. — V. 67 — P. 92–100.

Перелік платних циклів, проведення яких планується в 2012 р.

Кафедра

ОНКОЛОГІЧНОЇ ГІНЕКОЛОГІЇ

Опорна кафедра за спеціальністю «Онкогінекологія»

Зав. кафедри проф. С. М. Карташов, тел.: 311-80-76, 311-80-75

Кольпоскопія в діагностиці передпухлинних та пухлинних станів шийки матки, піхви та вульви (для акушерів-гінекологів, онкогінекологів) 09.10–20.10

Кольпоскопія в діагностиці передпухлинних та пухлинних станів шийки матки, піхви та вульви (для акушерів-гінекологів, онкогінекологів) 06.11–20.11

За довідками звертатись до навчального відділу ХМАПО за тел. (057) 711-80-31