

УДК 616.832-004.2-056.7:599.323.4:612.6.06.001.36

В. В. Гейко

СОПОСТАВИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОДИФИКАЦИОННОЙ (ОБУСЛОВЛЕННОЙ ВНУТРИУТРОБНЫМ ВЛИЯНИЕМ) И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СОСТАВЛЯЮЩИХ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ АУТОИММУННОЙ ДЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩЕЙ ПАТОЛОГИИ У КРЫС РАЗНОГО ПОЛА, НАСЛЕДСТВЕННО ОТЯГОЩЕННЫХ РАССЕЯНЫМ СКЛЕРОЗОМ ПО МАТЕРИНСКОЙ ЛИНИИ

В. В. Гейко

Порівняльний аналіз модифікаційної (зумовленої внутрішньоутробним впливом) і генетичної складових схильності щодо розвитку аутоімунної демієлінізуючої патології у щурів різної статі, спадково обтяжених розсіяним склерозом за материнською лінією

V. V. Geiko

Comparative analysis of modification (due to prenatal influence), and genetic components of the predisposition to the induction of autoimmune demyelinating pathology in the rats of different sex with the family history of multiple sclerosis, maternally

С целью определения средовой и генетической составляющих в обеспечении половых особенностей риска развития экспериментального рассеянного склероза проведен сопоставительный анализ восприимчивости и устойчивости к индукции аутоиммунного энцефаломиелита в качестве модели рассеянного склероза у сибсов I поколения иммунизированных самок в различных условиях их антенатального и постнатального развития, сопряженного с периодами болезни и ремиссии у матери. При оценке наследственного риска показана существенная роль эпигенетической наследственности у самочек, наряду с самцами, для которых характерно преобладание собственно генетического компонента, что, вероятно, свидетельствует о необходимости учета терапевтической чувствительности и пластичности демиелинизирующей патологии на этапе планирования беременности у больных рассеянным склерозом пациенток с целью ослабления экспрессии наследственной отягощенности потомства.

Ключевые слова: экспериментальный рассеянный склероз, наследственная отягощенность, потомство, фенотипическая дисперсия, относительный риск

З метою визначення середови та генетичної складових у забезпеченні статевих особливостей ризику розвитку експериментального розсіяного склерозу проведений порівняльний аналіз сприйнятливості та стійкості щодо індукції аутоімунного енцефаломієліту як моделі розсіяного склерозу у сибсів I покоління імунізованих самок за різних умов їх антенатального і післянатального розвитку, пов'язаного з періодами хвороби та ремісії у матері. Під час оцінки спадкового ризику показано суттєву роль епігенетичної спадковості у самочок, поряд із самцями, для яких характерним є переважання власне генетичного компонента, що, ймовірно, свідчить про необхідність урахування терапевтичної чутливості і пластичності демієлінізуючої патології на етапі планування вагітності у хворих на розсіяний склероз пацієнток з метою послаблення експресії спадкової обтяженості потомства.

Ключові слова: експериментальний розсіяний склероз, спадкова обтяженість, потомство, фенотипова дисперсія, відносний ризик

The aim was to determine the environmental and genetic components to ensure the risk of sexual characteristics of experimental multiple sclerosis and comparative analysis was carried out to access the susceptibility and resistance to induction of autoimmune encephalomyelitis in siblings of the 1st generation of immunized female rats under various conditions of their antenatal and postnatal development, coupled with the periods of illness and remission in mother. In assessing the risk of hereditary the essential role of epigenetic inheritance in female rats was shown, along with males, which are characterized by the predominance of the actual genetic component, which is probably can indicate on the need to consider the type and severity of demyelinating disease, as well as its therapeutic sensitivity and plasticity at the planning stage of pregnancy in patients with multiple sclerosis in order to reduce the expression of hereditary in progeny.

Key words: experimental multiple sclerosis, family history of multiple sclerosis, posterity, phenotypical dispersion, related risk

С учетом результатов клинического анализа заболеваемости и течения экспериментального рассеянного склероза (РС) у потомства иммунизированных самок-матерей, свидетельствующих об определенном вкладе молочного вскармливания в реализацию предрасположенности к развитию аутоиммунной демиелинизирующей патологии [1], а также в продолжение дальнейшего изучения эндоэкологических триггеров, способствующих ее инициации, является актуальным исследование половых особенностей внутриутробного влияния как фактора эпигенетической наследственности, обусловленной модуляцией структуры ДНК и хроматина, а также модификацией гистонов, регулирующих функции генома [2, 3]. Наряду с этим, выяснение доли собственно генетической составляющей, связанной с наследственным аппаратом особи в условиях исключения непосредственных модулирующих воздействий на экспрессию генов, представляет существенный научный интерес как в вопросах

влияния болезни матери на склонность к формированию заболевания у потомства, так и в общей проблеме «семейного» РС, приобретающей все возрастающую актуальность в связи с повышением уровня деторождения среди пациенток на фоне совершенствования современных терапевтических стратегий РС. В рамках этого в работе проведен сопоставительный анализ качественно-количественных показателей заболеваемости и клинического течения экспериментального РС у потомства одних и тех же самок-матерей в двух пометах. Первый — был получен в условиях параллельного развития беременности и болезни путем иммунизации самок на разных сроках гестации, что, по сути, является моделью процесса возможных эксцессиваций демиелинизирующей патологии. Второй помет развивался в состоянии «практического здоровья» самок-матерей, вследствие спонтанной обратимости экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита как модели РС у крыс, спустя 2 месяца после их иммунизации.

© Гейко В. В., 2015

Таким образом, потомство представляло собой первое поколение животных по типу «родные братья-сестры» (сисбы) по материнской линии, а сравнительные данные о формировании РС у интактных и внутриутробно скомпрометированных болезнью матери животных были использованы для изучения средовой и генетической составляющих биологической предрасположенности к индукции экспериментальной демиелинизирующей патологии. Тот факт, что часть самок-матерей отличалась устойчивостью к ее моделированию, послужил основанием для дифференцированного изучения половых особенностей отягощенного потомства, которое в пределах групп, в свою очередь, подразделялось на подгруппы в зависимости от заболеваемости матери — от болевшей и от устойчивой. Целью работы являлось проведение сопоставительного анализа восприимчивости и устойчивости к индукции РС у сисбов в различных условиях их антенатального и постнатального развития, сопряженного с периодами болезни и ремиссии у матери.

Исследование выполнено в соответствии с «Общезначительными принципами экспериментов на животных» (Украина, 2001), которые согласуются с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985), с использованием 123 иммунизированных животных обоего пола. В их числе — 57 крыс случайной популяции (контроль), 66 — потомство иммунизированных самок, из которых 33 — от болевших и 33 — от устойчивых матерей. В качестве модели РС индуцировали экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит посредством активной иммунизации животных энцефалитогенной смесью, приготовленной *extemporae* из гомогената аллогенного спинного мозга в дозе 55—60 мг на 100 г массы тела с 0,2 мл полного адьюванта Фрейнда ("Difco Laboratories", USA) общим объемом 0,35—0,40 мл путем инокуляции антигена в подошвенные поверхности задних конечностей.

Дизайн исследования включал анализ общей фенотипической дисперсии признаков — заболеваемости (восприимчивости) и устойчивости — у самок и самцов в группах сравнения с соответствующим контролем и относительно фактора непосредственного внутриутробного влияния болезни. В каждой исследуемой группе определяли относительный риск заболевания (*related risk*) с последующим вычислением отношения шансов развития РС с учетом влияния отягощенной наследственности, в том числе вклада дополнительных сопутствующих факторов — внутриутробной интоксикации и последующего грудного вскармливания с возможным наличием антител в составе материнского молока.

Определение риска развития рассеянного склероза (OP_{PC}) в каждой изучаемой группе осуществлялось по формуле: $OP_{PC} = A/B$, где A — количество заболевших животных, B — количество устойчивых животных.

При интерпретации полученных показателей учитывалось, что отношение рисков, равное 1, свидетель-

ствует об отсутствии разницы между двумя группами; отношение рисков меньше 1 — указывает на то, что в экспериментальной группе событие развивается реже, чем в контрольной; отношение рисков больше 1 — отражает преобладание исследуемого показателя над контролем.

Кроме этого, в работе применен широко используемый статистический показатель «отношение шансов» (*odds ratio*) с указанием 95 % доверительного интервала (95 % ДИ), позволяющий сравнивать уровень значимости факторов риска посредством ретроспективного сопоставления их влияния в двух группах сравнения [4].

Отношение шансов (ОШ), являясь показателем риска наступления события (болезни) в группе сравнения (отягощенная наследственность, внутриутробное развитие и контроль), вычислялось по формуле: $ОШ = (A/B) : (C/D)$, где A — количество заболевших животных в группе изучаемого фактора, B — количество устойчивых животных в группе изучаемого фактора, C — количество заболевших животных в группе сравнения, D — количество устойчивых животных в группе сравнения.

В результате анализа фенотипической дисперсии по признаку наличия восприимчивости к индукции РС у потомства подверженных РС и устойчивых к нему самок показано, что самочки обоих пометов тотально характеризовались повышенной склонностью к развитию экспериментальной демиелинизирующей патологии, более выраженной (в 2—3 раза) в группе животных, антенатальное развитие которых осуществлялось в условиях клинической манифестации демиелинизирующих процессов с прогрессированием неврологической симптоматики. Однако данные расчета ОР и ОШ (табл., см. тонировку), свидетельствовали в пользу того, что наследственная предрасположенность в виде увеличения риска развития заболевания в сравнении с контрольной группой (ОШ — 1,50, 95% ДИ = 2,38—10,85) реализуется только в условиях внутриутробного влияния, что, вероятно, способствует ее эпигенетической экспрессии, являясь дополнительным разрешающим фактором реализации.

Вместе с тем, у самцов первого помета иммунизированных матерей, независимо от болезни у матери, наблюдалось существенное повышение риска развития экспериментального РС, которое у сисбов второго помета отмечалось только у животных из подгруппы — от болевшей самки-матери ($OP = 4,0$; $ОШ = 2,47$, 95 % ДИ = 2,30—9,99), что, очевидно, указывает на значительную роль наследственной отягощенности РС в обеспечении риска его развития. Факт того, что заболеваемость самцов превышала контрольный уровень как у внутриутробно скомпрометированного потомства, так и у потомства болевших самок-матерей в состоянии ремиссии, вероятно, свидетельствует, в отличие от самочек, о превалировании собственно наследственного компонента восприимчивости к индукции экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита и подчеркивает перспективность исследований полового фактора при прогнозировании риска развития демиелинизирующих нарушений у отягощенного по материнской линии потомства.

Соотношение генетического и средового компонентов в реализации предрасположенности к развитию аутоиммунной демиелинизирующей патологии у крыс разного пола

Группа животных	Заболее- ваемость	Устойчи- вость	Относитель- ный риск заболевания (ОР), у. е.	Отношение шансов, у. е.; 95 % доверительный интервал			
				ОР _п /ОР _к	ОР _{п1} /ОР _{п2}	ОР _{п2} /ОР _{п1}	ОР _{♀♂} /ОР _{♂♀}
САМКИ							
Контроль (n = 23)	20	3	6,67	—	—	—	4,12 (1,40—4,05)
П1 (n = 20):	16	4	4,00	0,60 (1,63—5,10)	2,00 (1,53—4,62)	—	—
от болевшей ♀ (n = 11)	10	1	10,00	1,50 (2,38—10,85)	3,33 (2,60—13,56)	—	—
от устойчивой ♀ (n = 9)	6	3	2,00	0,30 (1,84—6,29)	1,50 (2,03—7,67)	—	—
П2 (n = 15):	10	5	2,00	0,30 (1,62—5,03)	—	0,50 (1,53—4,62)	—
от болевшей ♀ (n = 8)	6	2	3,00	0,45 (2,00—7,45)	—	0,30 (2,60—13,60)	—
от устойчивой ♀ (n = 7)	4	3	1,33	0,26 (1,92—6,82)	—	0,67 (2,04—7,67)	—
САМЦЫ							
Контроль (n = 34)	21	13	1,62	—	—	—	0,24 (1,40—4,05)
П1 (n = 19):	17	2	8,50	5,25 (1,63—5,09)	8,47 (2,32—10,16)	—	—
от болевшей ♀ (n = 9)	8	1	8,00	4,94 (2,14—8,48)	2,00 (2,30—9,99)	—	—
от устойчивой ♀ (n = 10)	9	1	9,00	5,56 (2,18—8,86)	22,24 (2,64—13,97)	—	—
П2 (n = 12):	6	6	1,00	0,62 (1,34—3,83)	—	0,06 (1,86—6,42)	—
от болевшей ♀ (n = 5)	4	1	4,00	2,47 (2,30—9,99)	—	0,04 (3,02—20,56)	—
от устойчивой ♀ (n = 7)	2	5	0,40	0,25 (1,78—5,96)	—	0,04 (2,64—13,97)	—

Примечания: П — потомство, П1 — первый помет, П2 — второй помет; К — контроль; ♀ — самки, ♂ — самцы; *тонировка серым цветом*: заболеваемость выше, чем в группе сравнения (ОР > 1)

Таким образом, данные генетического анализа на основе разложения общей фенотипической дисперсии признаков восприимчивости и устойчивости к индукции РС, свидетельствующие о важном значении средовой составляющей в обеспечении наследственной предрасположенности к формированию демиелинизирующей патологии, указывают на необходимость обязательного учета терапевтической чувствительности и пластичности заболевания на этапе планирования беременности с целью оценки как возможности ее благополучного исхода, так и снижения «груза» наследственной отягощенности потомства.

Список литературы

1. Гейко, В. В. Влияние грудного вскармливания на формирование рассеянного склероза у потомства самок, иммунизированных в раннем послеродовом периоде / В. В. Гейко, С. В. Утевская, О. В. Кириченко // Материалы наук.-практ. конф. з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології» (Дванадцяті Данилевські читання). — Харків, 2013. — С. 37—38.

2. Handel, A. E. Epigenetics: molecular mechanisms and implications for disease / A. E. Handel, G. C. Ebers, S. V. Ramagopalan // Trends Mol Med. — 2010. — 16(1). — P. 7—16.

3. Epigenetics in multiple sclerosis susceptibility: difference in transgenerational risk localizes to the major histocompatibility complex / [M. J. Chao, S. V. Ramagopalan, B. M. Herrera et al.] // Hum Mol Genet. — 2009. — Vol. 18. — P. 261—266.

4. Влияние генетических факторов на фенотипическую экспрессию рассеянного склероза / [Д. С. Коробко, Н. А. Малкова, Е. В. Булатова и др.] // Журнал неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова. — М., 2013. — Вып.2, № 2. — С.10—16.

Надійшла до редакції 08.11.2014 р.

ГЕЙКО Валентина Василівна, кандидат біологічних наук, провідний науковий співробітник лабораторії нейрофізіології, імунології та біохімії Державної установи «Інститут неврології, психіатрії та наркології Національної академії медичних наук України», м. Харків; e-mail: elevelteria@rambler.ru

GEYKO Valentyna, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Neurophysiology, Immunology and Biochemistry of State Institution "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv; e-mail: elevelteria@rambler.ru