

**АНАЛИЗ СИНТРОПНЫХ ГЕНОВ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ, АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА И ПСОРИАЗА****<sup>1</sup>Украинский институт клинической генетики ХНМУ (г. Харьков)****<sup>1</sup>Харьковский специализированный медико-генетический центр (г. Харьков)****<sup>2</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина (г. Харьков)****<sup>3</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования (г. Харьков)****<sup>4</sup>Институт дерматологи и венерологи НАМН Украины (г. Харьков)**

Данное исследование является фрагментом научной темы "Обґрунтувати принципи трьохрівневої профілактики спадкової патології на підставі молекулярно-генетичних досліджень», № гос.регистрации 0111U001390.

**Вступление.** Наличие в геноме огромного количества общих генов-кандидатов, или синтропных генов, для многих мультифакториальных заболеваний (МФЗ) обуславливает развитие общих биохимических и физиологических нарушений для них [1,2,5,6]. К настоящему времени накоплены результаты множества исследований свидетельствующие о ассоциации аллельных вариантов генов интерлейкинов и генов ферментов детоксикации ксенобиотиков (ФДК) с патологическими состояниями атопии и аутоаллергии [7,9-11,14], поскольку антигенспецифические иммунные механизмы их патогенеза опосредованы Т-клетками. Т-хелперные клетки (Тн) обычно рассматривались, как делящиеся по двум клеточным эффекторным линиям - Тн1 и Тн2-клетки, формирующим клеточный и гуморальный иммунитет соответственно, который основывается на экспрессируемом профиле цитокинов [17,18]. Иммунологические нарушения при атопических заболеваниях выражаются в изменении соотношения популяций Тн1- /Тн2- в сторону Тн2, при аутоиммунных – наоборот, соответственно с продуцируемыми цитокинами первого, либо второго типа, которые имеют антагонистическое воздействие на Т-клетки «конкурирующей» субпопуляции и являются противовоспалительными для них. Некоторыми авторами [13] подчеркивается роль смешанного Тн1 x Тн2 ответа в деструктивных процессах, обусловленных как клеточно-опосредованной, так и антителозависимой цитотоксичностью. Более поздние исследования описывают третью линию эффекторных клеток - Тн17-клетки, которые антагонистически воздействуют своими цитокинами на Тн1 и Тн2 клеточные линии, экспрессируя цитокины семейства IL-17. Наиболее хорошо изученные - это IL-17A, IL17F [8,15].

IL-4 - плейотропный цитокин, продуцируемый Тн2-клетками, переключающий синтез изотопов иммуноглобулинов В-лимфоцитами на производство IgE. Недавние исследования показали, что хотя инициация атопии обеспечивается продукцией IL-4 Тн-2 клетками, хронический процесс характеризуется,

как продукцией IL-4 Тн-2 клетками, так и продукцией ИФН-γ Тн-1 клетками. Более того, наличие ИФН-γ коррелировало с хронизацией и ухудшением течения атопии [18]. Уровень синтеза цитокина ассоциирован с определенными вариантами аллельных генов. Для гена IL-4 наличие Т в положении 589 ассоциировано с гиперпродукцией IgE.

IL-17A и IL17F – цитокины Тн17-клеток, являющиеся защитой от внеклеточных патогенов, которые не могут эффективно элиминироваться Тн1 и Тн2. Кроме того, они часто ассоциированы с различными аутоиммунными процессами и аллергическими реакциями [16].

Биотрансформация ксенобиотиков и эндогенных веществ, осуществляемая ферментами системы цитохрома Р-450, является мощным механизмом защиты организма от внешних химических факторов и регуляции метаболических реакций. Члены семейства CYP1 отличаются широкой субстратной специфичностью и изозимным спектром, формирующимся, в частности, благодаря полиморфизму кодирующих их генов. Гены ферментов биотрансформации рассматривают как кандидаты для атопии и аутоиммунных патологий, поскольку они участвуют в метаболизме медиаторов воспаления лейкотриенов и простагландинов, а также в регуляции механизмов оксидативного стресса [12].

Однако однозначной модели иммунопатогенеза как атопических, так и аутоиммунных заболеваний, пока не существует.

**Целью данного исследования** является изучение генотипа и частоты аллелей IL4 C-589T, IL17A G-197A, IL17F His-161 Arg, CYP1A1 Ile462Val у пробандов с атопией - бронхиальной астмой (БА), атопическим дерматитом (АД) и псориазом (ПС) - аутоиммунной патологией.

**Объект и методы исследования.** Проведение молекулярно-генетических исследований осуществлялось на базе Украинского Института клинической генетики. Анализировался полиморфизм генов IL4 (C-589T), IL17A (G-197A), IL17F (His-161 Arg), CYP1A1 (Ile462Val) с помощью тест-систем ООО НТП «Литех» у 120 пациентов. Группу для исследования сформировали 40 человек с БА, 40 человек с АД, 40 – с ПС. Пациенты с БА пребывали на стационарном лечении в в городском пульмонологическом центре Харькова (ГКБ №13). Пациенты с ПС и АД

пребывали на стационарном лечении в Институте Дерматологии и венерологии НАМН Украины. 5 человек с АД пребывали на учете в Украинском институте клинической генетики. Материалом для исследования были образцы периферической крови. У больных БА проводилась молекулярная диагностика полиморфизма генов IL4 (C-589T), IL17F (His161 Arg), CYP1A1 (Ile462Val). У больных АД проводилась молекулярная диагностика полиморфизма генов IL4 (C-589T), CYP1A1 (Ile462Val). У больных ПС проводилась молекулярная диагностика полиморфизма генов IL4 (C-589T), IL17A (G-197A), CYP1A1 (Ile462Val). Для исследования использованы тест-системы НПФ «Литех» (г. Москва). Разницу долей оценивали с помощью угловой трансформации  $\varphi$ . Сравнение рядов распределения проведено с помощью критерия  $\chi^2$  на уровне значимости 0,05. Ожидаемую гетерозиготность полиморфизма генов IL4, IL17A, IL17F, цитохрома P450 CYP1A1 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 исследований и их обсуждение.**

В таблице 1 приведены результаты анализа распределения генотипов 589 CC, 589 CT, 589 TT гена IL4 среди больных БА, АД, ПС. Из полученных данных видно, что у представителей с разными нозологиями встречаются все возможные генотипы [21]. Нами установлено, что генотип 589 CC встречается среди представителей с БА у 1,37 раз чаще чем среди представитель лей с АД, и 1,25 раза чаще чем среди представитель лей с ПС. Данный генотип встречается в 1,1 раза чаще среди представителей с ПС по сравнению с представителями с АД.

Таблица 1

**Анализ полиморфного локуса C-589T гена IL4 среди больных БА, АД, ПС**

Патология	Частота алеля		$h_{obs}$	$h_{exp}$	D	Генотип, n (%)		
	C	T				CC	CT	TT
БА	0,80	0,20	0,30	0,32	-0,0625	26(65)	12 (30)	2 (5)
АД	0,66	0,34	0,38	0,44	-0,1363	19 (47)	15 (38)	6 (15)
ПС	0,73	0,27	0,40	0,39	0,0256	21(52)	16 (40)	3 (8)

**Примечание:** n – число пар,  $h_{obs}$  и  $h_{exp}$  – ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность соответственно, D - относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой.

Наибольшее количество представителей (40%) с генотипом 589 CT наблюдается в группе больных с диагнозом ПС. Данный генотип встречается в 1,3 раза меньше среди представителей с БА. Но достоверно не отличается от частоты среди представителей с АД ( $p > 0,05$ ). Генотип 589 TT чаще всего встречается у пробандов с АД, в 3 раза чаще чем среди пробандов с БА ( $p < 0,05$ ) и почти в 2 раза – чем среди пробандов с ПС ( $p < 0,05$ ).

В таблице 2 – результаты анализа распределения генотипов 462 Ile Ile, 462 Ile Val, 462 Val Val гена CYP1A1 среди больных БА, АД, ПС. Из приведенных данных видно, что у представителей с разными нозологиями не встречается генотип 462 Val Val. Данный феномен может объясняться тем, что представители с мутантным генотипом элиминируются. Поскольку белковые продукты указанного гена выполняют взаимодействие с окружающей средой, детоксицируя или токсичируя чужеродные химические соединения, которые попадают в организм, в том числе и лекарственные препараты [21], а

носители мутации не способны к детоксикации, чем увеличивают токсичность внутренней среды организма, как результат - они не выживают.

Нами установлено, что генотип 462 Ile Val встречается среди представителей с АД и ПС в 2 раза чаще, чем среди представитель лей с БА ( $p < 0,05$ ). А также показатели частот генотипов 462 Ile Val и 462 Ile Ile одинаковые среди пробандов с АД и ПС. Данный факт может свидетельствовать про сходность течения патологических состояний при дерматологических болезнях (АД и ПС) и их общей особенности - «меньшего» вреда от токсичности внутренней среды организма, по сравнению с респираторной патологией БА. Одним из объяснений данной гипотезы может служить факт того, что гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК), а именно CYP1A1 берет участие в метаболизме лекарств, то цитохром P450 отвечает за побочные эффекты медикаментозной терапии [14].

В течение длительного времени развитие ПС считали связанным с нарушением Тn1-клеток и

Таблица 2

**Анализ полиморфного локуса Ile-462Val гена CYP1A1 среди больных БА, АД, ПС**

Патология	Частота алеля		$h_{obs}$	$h_{exp}$	D	Генотип, n (%)		
	Ile	Val				Ile Ile	Ile Val	Val Val
БА	0,98	0,02	0,05	0,04	0,25	38 (95)	36 (90)	36 (90)
АД	0,95	0,05	0,1	0,095	0,0526	2 (5)	4 (10)	4 (10)
ПС	0,95	0,05	0,1	0,095	0,0526	0 (0)	0 (0)	0 (0)

**Примечание:** n – число пар,  $h_{obs}$  и  $h_{exp}$  – ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность соответственно, D - относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой.

гиперпродукцией цитокинов этой клеточной линии. БА развивается при изменении функции Тн2-клеток. Установлено, что IL17 экспрессируется в биоптате кожи, пораженной ПС, и легких при БА, поскольку Тн17-клетки вовлекаются в иммунный ответ при бактериальном заражении, а также 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 лёгких и провоцируют изменения во всех слоях кожи. IL17A и IL17F наиболее хорошо изученные по своим свойствам цитокины семейства IL17. В **таблице 3** приведены результаты

анализа распределения генотипов 197 GG, 197 GA, 197 AA гена IL17A среди больных ПС и 161 His His, 161 His Arg, 161 Arg Arg гена IL17F среди больных БА. Нами установленные, что генотип 197 AA встречается среди представителей Харьковской популяции больных ПС в 1,1 раза чаще чем генотип 197 GG. 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 которых, обеспечивали меньшую подверженность повреждениям лёгких, спровоцированной вирусной инфекцией. Кроме того, у дефектных мышей был зафиксирован пониженный уровень нейтрофилов в лёгких [19,20].

**Таблица 3**

**Анализ полиморфных локусов G-197A гена IL17A среди больных ПС и His-161Arg гена IL17F среди больных БА**

Патология	Частота алеля		h <sub>obs</sub>	h <sub>exp</sub>	D	Генотип, n (%)		
	His	Arg				His His	His Arg	Arg Arg
БА	0,94	0,06	0,08	0,11	-0,2727	36 (89)	3 (8)	1 (3)
ПС	0,47	0,53	0,25	0,49	-0,4897	14 (36)	10 (24)	16 (40)

**Примечание:** n – число пар, h<sub>obs</sub> и h<sub>exp</sub> – ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность соответственно, D – относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой.

**Таблица 4**

**Распределение генотипов в компаундах полиморфных локусов генов IL4 (C-589T) - CYP1A1 (Ile462Val) среди больных БА, АД и ПС**

Компаунд генотипов	Патология					
	БА		АД		ПС	
	n	%	n	%	n	%
IL4-CYP1A1						
N-N	24	60	17	42,5	20	50
N-Htzg	2	5	2	5	1	2,5
N-Hmzg	0	0	0	0	0	0
Htzg-N	12	30*	14	35*	13	32,5*
Hmzg-N	2	5	6	15*	3	7,5
Htzg-Htzg	0	0	1	2,5	3	7,5*
Hmzg-Hmzg	0	0	0	0	0	0
Htzg-Hmzg	0	0	0	0	0	0
Hmzg-Htzg	0	0	0	0	0	0
Σ	40	100	40	100	40	100

**Примечание:** n – число пар; IL4: N-589 CC, Htzg-589 CT, Hmzg-589 TT; CYP1A1: N-462 IleIle, Htzg- 462IleVal, Hmzg- 462Val Val, \* - p<0,05.

В **таблице 4** – результаты распределения генотипов в компаундах полиморфных локусов генов IL4 (C-589T) - CYP1A1 (Ile462Val) среди больных БА, АД и ПС. Сравнение вариационных рядов компаундов по полиморфным локусам генов IL4 (C-589T) - CYP1A1 (Ile462Val) среди больных БА и АД, БА и ПС, БА и АД показало достоверные различия (p<0,05). Нами было выявлено высокую частоту компаундов полиморфизмов в генах IL4 и CYP1A1 у пробандов с БА, АД и ПС: Htzg-N и Hmzg-N, причем их частота была выше для дерматологических патологий (АД и ПС). Частота компаунда Htzg-Htzg для ПС в 3 раза выше, чем для АД (p<0,05). Даного компаунда не было обнаружено среди пробандов с БА.

**Выводы..**

Анализ синтропных генов БА, АД и ПС показал:

1. Частота полиморфизма 589 CT IL4 наибольшая для ПС и составляет 40%, что подтверждает необходимость IL4-терапии при аутоиммунной патологии.
2. Можно предположить, что полиморфизм 462 Val Val гена CYP1A1 является летальным, потому не встречается среди представителей с атопией и ПС.
3. Частота полиморфизма 197AA гена IL17A для ПС составляет 40%.

**Перспективы дальнейших исследований.**

Планируется исследовать SNP- мутации более широкого спектра цитокинов при БА, АД и ПС.

**Список литературы**

1. Бочков Н.П. Клиническая генетика / Н.П. Бочков. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 480 с.: ил.
2. Гречанина Е.Я. Феномен фенотипической синтропии при некоторых аллергических заболеваниях / Е.Я. Гречанина, А.И. Безродная // *Клінічна генетика*. - 2011. - Вип. 1-2. - С. 197.
3. Животовский Л.А. Популяционная биометрия / Л.А. Животовский. - М.: "Наука", 1991. - 271 с.
4. Кадагидзе З.Г. Цитокины и их использование в онкологии / З.Г. Кадагидзе // *Int. J. Rehabilitation*. - 1997. - № 6. - С. 47-56.
5. Пузырев В.П. Вольность генома / В.П. Пузырев // *Бюллетень сибирской медицины*. - 2002. - Вип. 2. - С. 16-29.
6. Медицинская генетика: учебник / [Е.Я. Гречанина, Г. Хоффман, Р.В. Богатырьова и др.]; под ред. Е.Я. Гречаниной]. - К.: ВСИ «Медицина», 2010. - 552 с.
7. Ajjan R. Intrathyroidal cytokine gene expression in Hashimotos thyroiditis / R. Ajjan, P.Watson, R.Mcintosh, A.Weetman // *Clin. Exp. Immunol.* - 1996. - Vol. 105. - № 3. - P. 523-528.
8. 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.
9. Duffin K.C. Genetic variations in cytokines and cytokine receptors associated with psoriasis found by genome-wide association / K.C. Duffin, G.G. Krueger // *J. Invest. Dermatol.* - 2009. - V. 129(4). - P. 827-833.
10. Ghoreschi K. Interleukin-4 therapy of psoriasis induces Th2 responses and improves human autoimmune disease / K. Ghoreschi, P. Thomas, S. Breit et al // *Nat. Med.* - 2003. - V. 9. - P. 40-46.
11. 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.
12. Honkakoski P. Regulation of cytochrome P450 (CYP) genes by nuclear receptors / P. Honkakoski, M. Negishi // *Biochem. J.* - 2000. - V. 347. - P. 321-337.
13. Hwang J. Epidermal ablation of Dlx3 is linked to IL-17-associated skin inflammation / J. Hwang, R. Kita, H.S. Kwon et al // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2011. - V. 12 - P. 11566-11571.
14. Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolizing cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms / M. Ingelman-Sundberg // *Arch. Pharmacol.* - 2004. - V. 369. - P. 89-104.
15. Kolls J. Interleukin-17 family members and inflammation / J. Kolls, A. Linden // *Immunity*. - 2004. - Vol. 21. - P. 467-476.
16. 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.
17. Mariotti S. T-cell-mediated and antigen-dependent differentiation of human monocyte into different dendritic cell subsets: a feedback control of Th1/Th2 responses / S. Mariotti, V. Sargentini, C. Marcantonio et al // *FASEB J.* - 2008. - V. 22. - P. 3370-3379.
18. Patrick E. Flavell Cutting Edge: Changes in Histone Acetylation at the  $\gamma$  IFN- and IL-4 Loci Accompany Th1/Th2 Differentiation / E. Patrick Fields, T. Kim Sean, A. Richard // *J. Immunol.* - 2002. - V. 169. - P. 647-650.
19. Stark J.M. Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus infection in inbred mice / J.M. Stark, S.A. Mc Dowell, V. Koenigsknecht // *J. Med. Virol.* - 2002. - V.67. - P. 92-100.
20. Stark J.M. Genomewide association analysis of respiratory syncytial virus infection in mice / J.M. Stark, M.M. Barmada, A.V. Winterberg // *J. Virol.* - 2010. - V. 84. - P. 2257-2269.
21. Walley A.J. Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for association with asthma and atopy / A.J. Walley, W.O. Cookson // *J. Med. Genet.* - 1996. - V. 33. - P. 689-692.

УДК 61: 575.- 616.23/.25.- 616.5; 616.97

**АНАЛИЗ СИНТРОПНЫХ ГЕНОВ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ, АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА И ПСОРИАЗА**  
**Гречанина Е.Я., Безродная А.И., Ходош Э.М., Моштаква И.А.**

**Резюме.** Была исследована распространенность полиморфных вариантов 4 генов: IL4 C-589T, IL17A G-197A, IL17F His-161 Arg, CYP1A1 Ile462Val среди пробандов с атопическими патологиями - бронхиальной астмой и атопическим дерматитом и аутоиммунной патологией – псориазом (ПС). Установлена достоверно высокая 27% частота аллеля T-589 гена IL4 для пробандов с ПС, что подтверждает необходимость IL4-терапии при аутоиммунной патологии. У 100% пробандов полиморфизм 462 Val Val гена CYP1A1 отсутствует.

**Ключевые слова:** гены, синтропия, цитокины, Тн-клетки, атопия, аутоиммунные заболевания.

УДК 61: 575.- 616.23/.25.- 616.5; 616.97

**АНАЛІЗ СИНТРОПНИХ ГЕНІВ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ, АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ І ПСОРИАЗА**  
**Гречанина О.Я., Безродна А.І., Ходош Е.М., Моштаква І.О.**

**Резюме.** Була досліджена розповсюдженість поліморфних варіантів 4 генів: IL4 C-589T, IL17A G-197A, IL17F His-161 Arg, CYP1A1 Ile462Val серед пробандів з атопічними патологіями - бронхіальною астмою і атопічним дерматитом, і аутоімунною патологією – псоріазом (ПС). Встановлена достовірно висока 27% частота аллеля T-589 гена IL4 для пробандів з ПС, що підтвержує необхідність IL4-терапії при аутоімунній патології. У 100% пробандів поліморфізм 462 Val Val гена CYP1A1 відсутній.

**Ключові слова:** гени, синтропія, цитокіни, Тн-клітини, атопія, аутоімунні захворювання.

UDC 61: 575.- 616.23/.25.- 616.5; 616.97

**Analysis Of Syntropic Gene Of Asthma, Atopic Dermatitis And Psoriasis**  
**Grechanina E.Y., Bezrodnaya A.I., Hodosh E.M., Moshtakova I.A.**

**Summary.** We investigated the prevalence of polymorphisms of 4 genes: IL4 C-589T, IL17A G-197A, IL17F His-161 Arg, CYP1A1 Ile462Val among probands with atopic pathologies - bronchial asthma and atopic dermatitis and autoimmune disorders - psoriasis (PS). Set significantly higher 27% frequency of allele T-589 gene IL4 for probands with PS, which confirms the need for IL4-treatment for autoimmune diseases. In 100% of probands 462 Val Val polymorphism of the CYP1A1 gene is absent.

**Key words:** genes, syntropy, cytokines, Th cells, atopy, autoimmune disease.

Стаття надійшла 12.09.2011 р.