

А. М. Кучеренко, Г. И. Дрожжина*, В. М. Пампуха, Н. В. Пасечникова*, Л. А. Лившиц

*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, 03680 Киев
*Государственное учреждение “Институт глазных болезней и тканевой терапии
им. В. П. Филатова НАМН Украины”, 65061 Одесса*

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *IL1B*, *IL6*, *IL8* И *IL10* В РАЗВИТИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ ЭРОЗИЯХ РОГОВИЦЫ У БОЛЬНЫХ С РЕШЕТЧАТОЙ ДИСТРОФИЕЙ РОГОВИЦЫ

Наиболее частой причиной обращения больных с решетчатой дистрофией роговицы к офтальмологу являются рецидивирующие эрозии (РЭ). При этом их частота, интенсивность и степень выраженности сопутствующей воспалительной реакции существенно отличаются у разных пациентов. Мы предположили, что у больных с решетчатой дистрофией роговицы развитие РЭ и сопутствующей воспалительной реакции регулируется генами-модификаторами и предложили в качестве возможных кандидатов на их роль полиморфные варианты генов интерлейкинов *IL1B-511C/T*, *IL6-174G/C*, *IL8-781C/T* и *IL10-592C/A*. Обследовано 69 пациентов с решетчатой дистрофией роговицы: I типа — 46, промежуточного I/IIA типа — 23 и с мутациями *Arg124Cys* или *Hys626Arg* гена *TGFBI*, соответственно. Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ. Достоверные различия были обнаружены в частоте встречаемости *IL1B-511CC* генотипа у пациентов с (40,7 %) и без (15,4 %) РЭ роговицы. В группе без РЭ роговицы частота носителей *IL6-174C* аллеля была значительно ниже (50,0 %) по сравнению с пациентами с РЭ (78,0 %). Подобным образом и доля носителей аллеля *IL10-592A* была больше в группе с РЭ (48,2 %) по сравнению с контрольной (32,7 %). Кроме того, было обнаружено, что у больных с решетчатой дистрофией роговицы носителей полиморфизма *IL8-781C* риск развития РЭ роговицы повышается в 5 раз (ОШ = 5,21; 95 % ДИ: 1,28-21,16). Полученные результаты свидетельствуют в пользу гипотезы о возможной роли *IL1B-511C/T*, *IL6-174G/C*, *IL8-781C/T* и *IL10-592C/A* как модификаторов развития РЭ роговицы.

Ключевые слова: дистрофия роговицы, полиморфизм ДНК, интерлейкины, рецидивирующая эрозия роговицы.

Дистрофии стромы роговицы — это клинически и генетически гетерогенная группа наследственных заболеваний, характеризующаяся двусторонним поражением, прогрессирующим накоплением депозитов в различных слоях роговицы, приводящих к снижению прозрачности роговицы и существенному снижению зрения [6, 14, 35, 36]. За

исключением нескольких видов, дистрофии стромы роговицы наследуются по аутосомно-доминантному типу. Известно, что в проявлении клинического фенотипа дистрофии основной вклад принадлежит мутации, ответственной за ее развитие. Наблюдения многих авторов показали, что для дистрофий роговицы характерен значитель-

**Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Отдел геномики человека**

Л. А. Лившиц — зав. отделом, д.б.н., профессор

В. М. Пампуха — н.с., к.б.н.

А. М. Кучеренко — аспирант (kucherenko.a.m@gmail.com)

ГУ “Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины”

Н. В. Пасечникова — директор института, чл.-кор. НАМН Украины

Г. И. Дрожжина — зав. отделом патологии роговицы, д.м.н., профессор

© Л. А. Лившиц, В. М. Пампуха, А. М. Кучеренко, Н. В. Пасечникова, Г. И. Дрожжина, 2014.

ный разброс внутри- и междусемейных клинических проявлений и высокая пенетрантность [6]. В частности, показано, что пациенты с одинаковым типом мутации могут иметь различные клинические проявления заболевания, которые могут различаться даже в пределах одной семьи [7, 10, 37]. Причины таких изменений до настоящего времени окончательно не выяснены.

Решетчатая дистрофия стромы роговицы является наиболее распространенным видом наследственных дистрофий на территории Украины. Ее частота среди других видов дистрофий составляет 40,2 %. Показано, что аутосомно-доминантные формы дистрофии роговицы вызваны специфическими точечными мутациями в гене *TGFBI*, кодирующем индуцируемый трансформирующим фактором роста бета белок кератоэпителин. Ранее нами были проведены исследования по изучению корреляции генотипа по гену *TGFBI* с клиническими проявлениями наследственных дистрофий роговицы [3, 4, 23-26]. Для когорты украинских пациентов наиболее распространенными среди связанных с решетчатой дистрофией роговицы мутаций гена *TGFBI* являются *Hys626Arg* (дистрофия типа I/IIA) и *Arg124Cys* (дистрофия типа I) с частотой 41,6 % и 37,5 %, соответственно [3, 4]. Полная клиническая картина решетчатой дистрофии роговицы (тип I) развивается обычно в 3-4-м десятилетии жизни и включает триаду характерных клинических признаков — прозрачные с двойными контурами радиально ветвящиеся структуры, напоминающие решетку и локализующиеся в передних и средних слоях стромы [18], точечные сероватые помутнения в поверхностных слоях и центральное диффузное субэпителиальное помутнение [6, 14, 35, 36]. Патогномоничными для решетчатой дистрофии при световой микроскопии являются фибриллярные депозиты амилоида, располагающиеся между эпителием и боуеновой мембраной, а также в поверхностных и средних слоях стромы параллельно коллагеновым волокнам. По мере накопления в строме роговицы амилоидные депозиты приводят к развитию дегенеративных изменений в ткани роговицы, нарушению адгезии между базальными эпителиоцитами и боуеновой мембраной. При световой микроскопии роговицы с решетчатой дистрофией определяются атрофия переднего эпителия, дегенерация и разрушение эпителиоцитов базального слоя (базальная мембрана эпителия фрагментирована, утолщена, полудесмосомы отсутствуют) [10, 14, 20, 35]. Перечисленные изменения свидетельствуют о неполноценной адгезии эпителия к базальной мембране. Эпителий легко отслаивается, и возникают рецидивирующие эрозии (РЭ) роговицы. Повреждение эпителия является пусковым механизмом развития

воспаления при решетчатой дистрофии. Ранее нами показано, что течение наследственных стромальных дистрофий роговицы в 68,7 % случаев сопровождается наличием воспалительного компонента, который наиболее часто (в 93,6 % случаев) наблюдается при решетчатой дистрофии [1, 2]. Клинические наблюдения показали, что частота, интенсивность и степень выраженности воспалительной реакции, сопровождающей эрозии роговицы, существенно отличаются у разных пациентов [1, 2, 22].

В настоящее время для изучения регенерации роговицы при различных патологических процессах наряду с клиническими, морфологическими, иммуногистохимическими методами все шире применяются методы молекулярно-генетических исследований, результаты которых дают возможность понять биологию молекулярных процессов, участвующих в регенерации ткани роговицы, а также исследовать дополнительные факторы, участвующие в патогенезе дистрофий роговицы и развитии осложнений при этой патологии.

Известно, что регенерация роговицы — это комплексный ответ организма, успех и синхронизация которого зависят от правильной комбинации цитокинов и факторов роста, экспрессируемых в определенные промежутки времени [5, 29]. Провоспалительные цитокины участвуют в регуляции пролиферации клеток роговицы и дегенерации как некротизированных клеток, так и денатурированного коллагена. Противовоспалительные цитокины обеспечивают удаление клеток воспаления, предотвращая тем самым дальнейшее изъязвление, расплавление и неоваскуляризацию роговицы [34]. В пораженном эпителии роговицы наблюдается экспрессия генов двух основных цитокинов острой фазы воспаления — ИЛ-1 β и ИЛ-6, а также хемокина ИЛ-8 и гена противовоспалительного цитокина ИЛ-10 [31]. Кодированные этими генами белки, которые обнаруживаются в слезной жидкости при повреждении тканей роговицы, играют ключевую роль в регенерации роговицы [32]. Эксперименты на мышинных моделях продемонстрировали, что полиморфизм генов цитокинов значительным образом влияет на уровень и функциональную активность кодируемых ими белков [11]. Кроме того, доказано, что полиморфные варианты генов цитокинов могут существенно модифицировать фенотипические проявления некоторых заболеваний (артрит, астма и др.) [13, 17]. Мы предположили, что у пациентов с решетчатой дистрофией роговицы степень возникающей при РЭ воспалительной реакции находится под контролем генов-модификаторов. Учитывая ключевую роль про- и противовоспалительных цитокинов в регенерации травматических повреждений рого-

вицы, мы выбрали кодирующие их гены в качестве возможных кандидатов, влияющих на воспалительную реакцию, сопровождающую индуцированную дистрофией РЭ роговицы. Влияние полиморфизма генов интерлейкинов *IL1B-511C/T*, *IL6-174G/C*, *IL8-781C/T* и *IL10-592C/A* на экспрессию соответствующих генов уже доказано [8, 15, 16, 28].

Целью исследования явилось изучение возможной роли полиморфных вариантов генов интерлейкинов *IL1B-511C/T*, *IL6-174G/C*, *IL8-781C/T* и *IL10-592C/A* в развитии воспалительной реакции при РЭ у пациентов с решетчатой дистрофией роговицы.

Обследуемые и методы. Обследовано 69 пациентов с решетчатой дистрофией роговицы (I типа — 46, промежуточного I/IIA типа — 23) в возрасте от 23 до 72 лет. Контрольная группа состояла из 105 проживающих в Украине практически здоровых лиц, в семьях которых отсутствовали пациенты с патологией роговицы. Было получено информированное согласие всех участников исследования.

Асептическое воспаление роговицы было подтверждено для всех пациентов с помощью микробиологических исследований — у 56 больных наблюдались РЭ роговицы, у 13 они отсутствовали. Малое число участвующих в исследовании пациентов обусловлено, с одной стороны, низкой встречаемостью решетчатой дистрофии роговицы в целом. С другой стороны, у 80-90 % пациентов с решетчатой дистрофией роговицы I и I/IIa типов наблюдаются РЭ роговицы. У больных с решетчатой дистрофией роговицы по степени тяжести воспалительной реакции, сопровождающей РЭ, выделяли умеренно выраженную (26 — с решетчатой дистрофией I типа и 10 — I/IIa типа) и сильную (12 — с решетчатой дистрофией I типа и 8 — I/IIa типа) воспалительную реакцию.

Умеренная воспалительная реакция характеризовалась болевым синдромом, умеренно выраженной гиперемией конъюнктивы и наличием персистирующих дефектов эпителия (ПДЭ) роговицы (которые эпителизировались в течение не более 3 недель) и отсутствием воспаления сосудистой оболочки глаза.

Сильная воспалительная реакция характеризовалась выраженной гиперемией конъюнктивы и сильным болевым синдромом, наличием асептической инфильтрации в строме роговицы, сливным характером ПДЭ с образованием торпидных язв роговицы, воспалением сосудистой оболочки глаза (в ряде случаев двусторонним поражением), сроками купирования воспалительной реакции от 3 до 6 недель.

Клинический фенотип решетчатой дистрофии роговицы у всех пациентов был подтвержден результатами молекулярно-генетических исследова-

ний. Мутации *Arg124Cys* и *Hys626Arg* в гене *TGFBI* были обнаружены у всех пациентов с решетчатой дистрофией роговицы I-го и промежуточного I/IIA типа, соответственно [19, 24, 26].

Материалом для исследования служила геномная ДНК, которую выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием стандартных методов. Генотипирование полиморфизмов *IL1B-511C/T*, *IL6-174G/C*, *IL8-781C/T*, *IL10-592C/A* проводили с помощью ПЦР с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) соответствующими эндонуклеазами рестрикции [15, 16, 27].

Статистическая обработка проводилась с использованием статистических пакетов *GenePop* и *OpenEpi* [27, 33]. Данные представлены в виде $M \pm SE$. Для оценки достоверности различий в распределении генотипов и аллелей использовали тест Фишера (*Mid-P* метод). Для оценки ассоциации определенного генотипа с развитием РЭ был рассчитан показатель отношения шансов (ОШ).

Результаты и их обсуждение. РЭ роговицы с роговичным синдромом различной степени выраженности являются наиболее частой причиной обращения к офтальмологу больных с решетчатой дистрофией роговицы. Принимая во внимание известный факт, что степень дегенеративных изменений при решетчатой дистрофии увеличивается с возрастом, следовало ожидать увеличение интенсивности воспалительного компонента с возрастом пациентов. Анализ интенсивности воспалительной реакции, сопровождающей РЭ, показал, что средний возраст пациентов с сильной воспалительной реакцией при решетчатой дистрофии I типа был меньше и составил (41,7 ± 11,2) лет, а при I/IIa типа — (55,3 ± 9,6) лет, что обусловлено более ранней манифестацией решетчатой дистрофии I типа. Вместе с тем, при обоих типах решетчатой дистрофии мы наблюдали пациентов молодого возраста (до 40 лет) с РЭ, сопровождающимися сильной воспалительной реакцией. Из 12 пациентов с сильной воспалительной реакцией, сопровождающей РЭ при решетчатой дистрофии I типа, 6 пациентов были моложе 40 лет, а из 8 пациентов с сильной воспалительной реакцией при решетчатой дистрофии I/IIa типа 3 пациента были моложе 50 лет. Следовательно, кроме дегенеративных изменений при решетчатой дистрофии имеются другие факторы, обуславливающие степень выраженности воспалительной реакции при РЭ роговицы.

Учитывая, что регенерация роговицы находится под контролем провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительного цитокина (ИЛ-10), нами изучена роль полимор-

физма генов интерлейкинов как модифицирующих факторов развития воспалительной реакции, сопровождающей РЭ у больных решетчатой дистрофией роговицы. Оказалось, что в исследованных группах наблюдаемые распределения генотипов для всех пяти полиморфных вариантов не отклонялись от ожидаемых согласно равновесию Харди — Вейнберга (таблица).

Частота встречаемости генотипа полиморфных вариантов у больных решетчатой дистрофией с и без РЭ, абс. (%)

Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип	Контрольная группа	Пациенты без РЭ	Пациенты с РЭ
<i>IL1B-511C/T</i>	Всего*	105	13	54
	CC	51 (48,6)	2 (15,4)	22 (40,7)
	CT	47 (44,8)	11 (84,6)	30 (55,6)
	TT	7 (6,7)	0 (0)	2 (3,7)
<i>IL6-174G/C</i>	Всего*	88	12	50
	GG	30 (34,1)	6 (50,0)	11 (22,0)
	GC	39 (44,3)	4 (33,3)	30 (60,0)
	CC	19 (21,6)	2 (16,7)	9 (18,0)
<i>IL8-781C/T</i>	Всего*	100	13	56
	CC	30 (30)	3 (23,1)	17 (30,4)
	CT	45 (45)	5 (38,5)	33 (58,9)
	TT	25 (25)	5 (38,5)	6 (10,7)
<i>IL10-592C/A</i>	Всего*	101	13	56
	CC	68 (67,3)	5 (38,5)	29 (51,8)
	CA	30 (29,7)	6 (46,2)	24 (42,9)
	AA	3 (3,0)	2 (15,3)	3 (5,3)

Примечание: * — общее количество лиц, генотипированных по полиморфному варианту.

Анализ полиморфного варианта гена провоспалительного цитокина *IL1B-511C/T* выявил достоверное различие ($P < 0,05$) частоты встречаемости генотипа $-511CC$ у пациентов с РЭ (40,7 %) и без них (15,4 %). Кроме того, была обнаружена тенденция к снижению частоты встречаемости генотипа *IL1B-511TT* среди пациентов с РЭ роговицы (3,7 %) по сравнению с лицами контрольной группы (6,7 %). Что касается полиморфизма гена другого провоспалительного цитокина *IL6*, частота встречаемости носителей аллеля $-174C$ среди пациентов без РЭ роговицы была значительно ($P < 0,05$) ниже (50,0 %), чем в группе пациентов с РЭ (78,0 %). Аналогичная тенденция наблюдалась и для носителей $-174C$ аллеля, количество которых в группе пациентов с РЭ (78,0 %) превышало аналогичный показатель в контрольной группе (65,9 %), однако это различие не достигло статистической достоверности. Наиболее обнадеживающие, с точки зрения фармакогенетики, результаты были получены для полиморфных вари-

антов третьего из выбранных для этого исследования генов провоспалительных цитокинов — *IL8*. Частота генотипа $-781TT$ была значительно ($P < 0,05$) ниже в группе пациентов с РЭ (10,7 %) по сравнению с пациентами без них (38,5 %) и с контрольной группой (25,0 %). У пациентов с решетчатой дистрофией роговицы, являющихся носителями аллеля *IL8-781C*, риск развития РЭ был в 5 раз выше (ОШ = 5,208; 95 % ДИ: 1,28-21,16). Результаты изучения распределения полиморфных аллелей единственного из взятых в исследование генов противовоспалительных цитокинов *IL10* показывают, что частота носительства аллеля *IL10-592A* в группе пациентов с РЭ роговицы (48,2 %) значительно ($P < 0,05$) превосходит таковую в контрольной группе (32,7 %).

Полученные нами в этом исследовании результаты совпадают с современными представлениями как о регенерации в роговице вообще, так и при РЭ, в частности. Ответ эпителия роговицы на повреждение обусловлен каскадом взаимодействий между эпителиальными клетками, кератоцитами стромы роговицы, клетками иммунной системы и т. д., регулируемых цитокинами [5, 29, 34]. Регенерация эпителия роговицы проходит в несколько стадий: миграции, пролиферации и дифференциации, которые находятся под контролем провоспалительных цитокинов (в том числе ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8) [12, 32]. В результате гибели клеток эпителия роговицы *in vivo* некротизированные клетки секретируют так называемые сигналы опасности (интерферон- α , белки теплового шока и др.), инициирующие в тканях сильные ответные воспалительные реакции [21]. Эти сигналы опасности увеличивают продукцию ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8, которые, в свою очередь, стимулируют миграцию и пролиферацию эпителиальных клеток роговицы — ключевые этапы в регенерации поврежденной роговицы [5]. Повышенный уровень провоспалительных интерлейкинов может способствовать предотвращению развития РЭ роговицы за счет вовлечения моноцитов и последующего очищения от поврежденных или некротических клеток. Быстрый фагоцитоз продуктов некроза, вероятно, способствует торможению механизмов самоиндукции РЭ роговицы, таким образом предотвращая ее развитие.

Наши результаты о распределении полиморфного аллеля $-592A$ гена *IL10* и значительном превышении доли его носителей в группе пациентов с РЭ полностью совпадают с существующими на сегодняшний день представлениями о процессах, протекающих во время регенерации РЭ роговицы. Несмотря на положительный эффект влияния молекул опасности, запускающих воспалительный ответ, их избыток может привести к распространению эрозии, изъязвлению роговицы, расплавл-

нию и неоваскуляризации [5, 29, 34]. Следовательно, роль ИЛ-10 как агента, уравнивающего действия провоспалительных цитокинов и предотвращающего “вторичные” воспалительные повреждения, крайне важна. Присутствие аллеля *IL10-592A* связано со снижением уровня соответствующего белка в организме [28]. Поэтому вполне вероятно, что баланс про- и противовоспалительных процессов у пациентов с решетчатой дистрофией роговицы носителей этого аллеля нарушается, что и создает условия для развития РЭ.

В заключение следует отметить, что наши результаты свидетельствуют в пользу гипотезы о возможной роли полиморфизмов генов *IL1B-511C/T*, *IL6-174G/C*, *IL8-781C/T* и *IL10-592 C/A* как

модификаторов воспалительных реакций при развитии РЭ роговицы. А *IL8-781C* вариант может быть рассмотрен в качестве генетического маркера повышенного риска развития РЭ у больных решетчатой дистрофией роговицы. Можно полагать, что эти полиморфные варианты, оказывая влияние на развитие дегенеративных изменений и воспалительной реакции, сопровождающей РЭ при дистрофиях роговицы, могут изменять проявление клинического фенотипа дистрофии. Полученные результаты позволяют сделать вывод о вовлечении исследованных полиморфизмов в формирование индивидуальных особенностей воспалительной реакции при развитии РЭ у пациентов с решетчатой дистрофией роговицы.

Список использованной литературы

1. Дрожжина Г. И. Спадкові дистрофії стромы рогівки (патогенез, клініка, діагностика, лікування): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Одеса, 2005. — 40 с.
2. Дрожжина Г. И., Вит В. В., Думброва Н. Е. Влияние воспаления на особенности клинического течения и структурные изменения в роговице при решетчатой дистрофии // Офтальмол. журн. — 2002. — № 2. — С. 37-42
3. Дрожжина Г. И., Пампуха В. М., Кравченко С. А. и др. Спектр мутаций в гене *TGFBI* у больных с наследственными дистрофиями стромы роговицы из Украины // Генетика. — 2008. — 44, № 10. — С. 1380-1384.
4. Дрожжина Г. И., Пампуха В. М., Лившиц Л. А. Анализ мутаций H626R, A546T, T538R гена *TGFBI* у больных с решетчатой дистрофией стромы роговицы из Украины // Цитология и генетика. — 2007. — № 6. — С. 56-61.
5. Agrawal V. B., Tsai R. J. Corneal epithelial wound healing // Indian. J. Ophthalmol. — 2003. — 51. — P. 5-15.
6. Auw H. H., Witschel Y. Hornhautdystrophien im Licht moderner molekular genetischer Forschung // Ophthalmologie. — 2002. — 99. — S. 418-426.
7. Bron A. Genetics of the corneal dystrophies. What we have learned in the past twenty-five years? // Cornea. — 2000. — 19, № 5. — P. 699-710.
8. Chen H., Wilkins L. M., Aziz N. et al. Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context // Hum. Mol. Genet. — 2006. — 154. — P. 519-529.
9. Costa G. C., da Costa Rocha M. O., Moreira P. R. et al. Functional IL-10 gene polymorphism is associated with Chagas disease cardiomyopathy // J. Infect. Dis. — 2009. — 199. — P. 451-454.
10. Daly A. K., Day C. P., Donaldson P. T. Polymorphisms in immunoregulatory genes: towards individualized immunosuppressive therapy? // Am. J. Pharmacogenomics. — 2002. — 2, № 1. — P. 13-23.
11. Dighiero P., Niel F., Ellies P. et al. Histologic phenotype-genotype correlation of corneal dystrophies associated with eight distinct mutations in the *TGFBI* gene // Ophthalmology. — 2001. — 108. — P. 818-823.
12. Ebihara N., Matsuda A., Nakamura S. et al. Role of the IL-6 classic- and trans-signaling pathways in corneal sterile inflammation and wound healing // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2011. — 52. — P. 8549-8557.
13. Emonts M., Hazes M. J., Houwing-Duistermaat J. J. et al. Polymorphisms in genes controlling inflammation and tissue repair in rheumatoid arthritis: a case control study // BMC Med. Genet. — 2011. — 12. — doi: 10.1186/1471-2350-12-36.
14. Fishman D., Faulds G., Jeffery R. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis // J. Clin. Invest. — 1998. — 102. — P. 1369-1376.
15. Hacking D., Knight J. C., Rockett K. et al. Increased *in vivo* transcription of an IL-8 haplotype associated with respiratory syncytial virus disease-susceptibility // Genes Immun. — 2004. — 5. — P. 274-282.
16. Heinzmann A., Ahlert I., Kurz T. et al. Association study suggests opposite effects of polymorphisms within IL8 on bronchial asthma and respiratory syncytial virus bronchiolitis // J. Allergy Clin. Immunol. — 2004. — 114. — P. 671-676.
17. Kannabiran C., Klintworth G. K. *TGFBI* gene mutations in corneal dystrophies // Hum. Mutat. — 2006. — 27. — P. 615-625.
18. Lisch W. Ein Beitrag zur Klinik der gittrigen Hornhautdystrophie // Klin. Mbl. Augenheilk. — 1980. — 177. — S. 284-291.
19. Livshits L., Pampukha V. M., Tereshchenko F. A., Drozhyna G. I. Gene symbol: *TGFBI*. Disease: Corneal dystrophy, lattice type // Human Genetics. — 2008. — 124. — P. 296-297.
20. Luchs J., D'Adversa I., Udel J. Ulcerative keratitis associated with spontaneous corneal erosion // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 1995. — 36. — P. 40-41.
21. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self // Science. — 2002. — 296. — P. 301-305.
22. Pampukha, V. M., Drozhyna G. I., Livshits L. A. Analysis of H626R, A546T, T538R mutations of the *TGFBI* gene in patients with lattice corneal dystrophies from Ukraine // Cytol. Genet. — 2007. — 41. — P. 56-61.
23. Pampukha, V. M., Drozhyna G. I., Livshits, L. A. *TGFBI* gene mutation analysis in families with hereditary corneal

- dystrophies from Ukraine // *Ophthalmologica*. — 2004. — **218**. — P. 411-414.
24. Pampukha V. M., Kravchenko S. A., Tereshchenko F. A. Novel L558P mutation of the TGFBI gene found in ukrainian families with atypical corneal dystrophy // *Ophthalmologica*. — 2009. — **223**. — P. 207-214.
 25. Pampukha V. M., Kravchenko S. A., Tereshchenko F. et al. TGFBI gene mutations in the Ukrainian patients with inherited corneal stromal dystrophies // *Genetika*. — 2008. — **44**. — P. 1392-1396.
 26. Rad R., Prinz C., Neu B. et al. Synergistic effect of Helicobacter pylori virulence factors and interleukin-1 polymorphisms for the development of severe histological changes in the gastric mucosa // *J. Infect. Dis.* — 2003. — **188**. — P. 272-281.
 27. Rady P. L., Matalon R., Grady J. et al. Comprehensive analysis of genetic polymorphisms in the interleukin-10 promoter: implications for immune regulation in specific ethnic populations // *Genet. Test.* — 2004. — **8**. — P. 194-203.
 28. Raymond M., Rousset F. GENEPOP (version 12): population genetics software for exact tests and ecumenicism // *J. Heredity*. — 1995. — **86**. — P. 248-249.
 29. Reinach P. S., Pokorny K. S. The corneal epithelium: clinical relevance of cytokine mediated responses to maintenance of corneal health // *Arq. Bras. Oftalmol.* — 2008. — **71**. — P. 80-88.
 30. Sotozono C. Second injury in the cornea: the role of inflammatory cytokines in corneal damage and repair // *Cornea*. — 2000. — **19**. — P. S155-S159.
 31. Sotozono C., He J., Matsumoto Y. et al. Cytokine expression in the alkali-burned cornea // *Curr. Eye Res.* — 1997. — **16**. — P. 670-676.
 32. Sullivan K. M., Dean A., Soe M. M. OpenEpi: a web-based epidemiologic and statistical calculator for public health // *Public Health Rep.* — 2009. — **124**. — P. 471-474.
 33. Torres P. F., Kijlstra A. The role of cytokines in corneal immunopathology // *Ocul. Immunol. Inflamm.* — 2001. — **9**. — P. 9-24.
 34. Waring G., Rodrigues M., Laibson R. Corneal dystrophy: dystrophies of the epithelium, Bowman layer and stromas // *Surv. Ophthalmol.* — 1978. — **23**. — P. 97-101.
 35. Weidle E. Epitheliale und stromale Hornhautdystrophien // *Ophthalmologe*. — 1996. — **93**. — S. 754-767.
 36. Witschel H. Hornhautdystrophien und Molekulargenetik // *Ophthalmologe*. — 2002. — **99**, № 6. — S. 415-417.

Получено 3.09.2014

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМУ ГЕНІВ *IL1B*, *IL6*, *IL8* ТА *IL10* У РОЗВИТКУ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ ПРИ РЕЦИДИВУЮЧИХ ЕРОЗІЯХ РОГІВКИ У ХВОРИХ ІЗ ГРАТЧАСТОЮ ДИСТРОФІЄЮ РОГІВКИ

А. М. Кучеренко, Г. І. Дрожжина*, В. М. Пампуха, Н. В. Пасечнікова*, Л. А. Лівшиць

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, 03680 Київ
Державна установа "Інститут очних хвороб і тканинної терапії
ім. В. П. Філатова НАМН України", 65061 Одеса

Найбільш частою причиною звернення хворих із гратчастою дистрофією рогівки до офтальмолога є рецидивуючі ерозії (РЕ) рогівки. При цьому їх частота, інтенсивність і ступінь вираженості супутньої запальної реакції істотно відрізняються у різних пацієнтів. Ми припустили, що у хворих із гратчастою дистрофією рогівки розвиток РЕ і супутньої запальної реакції регулюється генами-модифікаторами, і запропонували в якості можливих кандидатів на їх роль поліморфні варіанти генів інтерлейкінів *IL1B-511C/T*, *IL6-174G/C*, *IL8-781C/T* та *IL10-592C/A*. Обстежено 69 пацієнтів із гратчастою дистрофією рогівки: I типу — 46, проміжного I/IIA типу — 23 та з мутаціями *Arg124Cys* або *Hys626Arg* гена *TGFBI*, відповідно. Генотипування проводили методом ПЛР-ПДРФ. Достовірну різницю було виявлено у частоті розповсюдження генотипу *IL1B-511CC* серед пацієнтів з (40,7 %) та без (15,4 %) РЕ рогівки. В групі без РЕ була значно нижчою (50 %) і частота носіїв *IL6-174C* алеля ніж у пацієнтів із РЕ (78,0 %). Подібно частка носіїв алеля *IL10-592A* була більшою у групі з РЕ (48,2 %) порівняно з контрольною (32,7 %). Крім того, було виявлено, що у хворих із гратчастою дистрофією рогівки, які є носіями поліморфізму *IL8-781C*, ризик розвитку РЕ рогівки підвищується у 5 разів (ВШ = 5,21; 95 % ДІ: 1,28-21,16). Отримані результати свідчать на користь гіпотези щодо можливої ролі *IL1B-511C/T*, *IL6-174G/C*, *IL8-781C/T* та *IL10-592C/A* як модифікаторів розвитку РЕ рогівки.

**ROLE OF POLYMORPHISM OF *IL1B*, *IL6*, *IL8* AND *IL10* GENES
IN THE DEVELOPMENT OF INFLAMMATORY REACTION IN RECURRENT
EROSIONS OF CORNEA IN PATIENTS WITH LATTICE CORNEAL DYSTROPHY**

A. M. Kucherenko, G. I. Drozhzhina*, V. M. Pampukha, N. V. Pasechnikova*, L. A. Livshits

Institute of Molecular Biology and Genetics NAS Ukraine, 03680 Kyiv

*State Institution "V. P. Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy NAMS Ukraine", 65061 Odessa

Recurrent corneal erosion (RE) is characteristic of autosomal dominant lattice corneal dystrophy (LCD). We suppose RE in LCD patients is under modifier genes control. As possible candidates to influence corneal dystrophy-induced RE polymorphic variants *IL1B*-511C/T, *IL6*-174G/C, *IL8*-781C/T, and *IL10*-592C/A were chosen. Case group consisted of 69 patients with lattice corneal dystrophy type I (n = 46), intermediate type I/IIIA (n = 23) and with *GFBI* Arg124Cys or Hys626Arg mutations accordingly. Genotyping was performed by PCR-RFLP. There was a difference of *IL1B*-511CC genotype frequency between patients with (40.7 %) and without RE (15.4 %). *IL6*-174C carriers frequency in group without RE (50.0 %) was lower comparing to patients with RE (78.0 %). Frequency of *IL10*-592A carriers was higher in group with RE (48.2 %) comparing to control group (32.7 %). Carriers of *IL8*-781C with LCD had 5-fold increased risk of RE development (OR = 5.208; CI 95 %: 1.282-21.16). Obtained results support the hypothesis of *IL1B*-511C/T, *IL6*-174G/C, *IL8*-781C/T and *IL10*-592C/A polymorphisms role as modifiers of RE development.