

ГЕНЫ ЦИТОКИНОВ КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ С КОНТРОЛИРУЕМЫМ И НЕКОНТРОЛИРУЕМЫМ ТЕЧЕНИЕМ

Смольникова М.В.¹, Фрейдин М.Б.^{2,3}, Смирнова С.В.¹

¹ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия

² Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

³ Отдел близнецовых исследований и генетической эпидемиологии, Королевский колледж Лондона, Лондон, Великобритания

Резюме. Атопическая бронхиальная астма (АБА) является многофакторным заболеванием и ее развитие зависит как от множества факторов окружающей среды, так и генетической компоненты. Генетические факторы риска развития АБА могут влиять на фенотип заболевания и степень контроля его течения. Существенный вклад в патогенез АБА вносят гены цитокинов, участвующие в иммунном ответе, развитии и активации воспаления дыхательных путей. Предполагается, что степень контроля заболевания является генно-опосредованным процессом и во многом зависит от наличия того или иного аллельного варианта в генах медиаторов, участвующих в патогенезе АБА. Знания о генетических маркерах позволят прогнозировать течение атопической бронхиальной астмы у детей.

Исследование проведено для оценки ассоциации генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов с уровнем контроля течения атопической бронхиальной астмы (АБА).

У больных детей с контролируемым (КАБА) и неконтролируемым (НАБА) течением заболевания ($n = 110$), а также в популяционной выборке ($n = 138$) изучены 11 полиморфизмов генов *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874 и rs2243250), *IL5* (rs2069812), *IL10* (rs1800872 и rs1800896), *IL12B* (rs3212227), *TNFA* (rs1800629 и rs1800630), *TGFB1* (rs1800469), *IFNG* (rs2069705), кодирующих цитокины, принимающие активное участие в развитии и регуляции аллергического воспаления.

По данным проведенного исследования, у европеоидов Восточной Сибири частоты аллелей и генотипов по изученным полиморфизмам соответствуют таковым в других европеоидных популяциях мира. Получены статистически значимые отличия между группой НАБА и контрольной выборкой по частотам генотипов *IL2* (rs2069762): генотип GG чаще встречается в контрольной группе (14,1% по сравнению с 5,9% в группе НАБА, $p = 0,03$). Показано, что аллель *IL2*Т* или генотип ТТ (rs2069762) предрасполагает к развитию неконтролируемого течения АБА. При сравнении гаплотипов *IL4* (rs2070874 и rs2243250) с поправкой на пол и возраст, с использованием аддитивной модели наследования, показано, что наиболее часто встречающийся гаплотип СС (частота в группах АБА/

Адрес для переписки:

Смольникова Марина Викторовна
Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»
660022, Россия, г. Красноярск.
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел./факс: 8 (391) 228-06-83.
E-mail: smarinv@yandex.ru

Address for correspondence:

Smolnikova Marina V.
Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk,
P. Zheleznyak str., 3g.
Phone/Fax: 7 (391) 228-06-83.
E-mail: smarinv@yandex.ru

Образец цитирования:

М.В. Смольникова, М.Б. Фрейдин, С.В. Смирнова
«Гены цитокинов как генетические маркеры
атопической бронхиальной астмы с контролируемым
и неконтролируемым течением» // Медицинская
иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 605–614.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-605-614
© Смольникова М.В. и соавт., 2017

For citation:

M.V. Smolnikova, M.B. Freidin, S.V. Smirnova
“Cytokine genes as genetic markers of controlled and uncontrolled
atopic bronchial asthma”, *Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya*, 2017, Vol. 19, no. 5,
pp. 605–614.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-605-614
DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-605-614

КАБА/НАБА составляет 0,75/0,76/0,74 соответственно) является протективным в отношении риска развития атопической бронхиальной астмы (RR 0,53; SE 0,32; $p = 0,0439$). Сравнительный анализ гаплотипов *TNFA* (rs1800629 и rs1800630) с поправкой на пол и возраст, с использованием аддитивной модели наследования, показал, что гаплотип GC является протективным в отношении риска развития АБА (RR 0,59±0,17; $p = 0,0028$), а гаплотип GA — предрасполагающим к заболеванию (RR 2,07±0,25; $p = 0,0034$). Это характерно для атопической бронхиальной астмы вне зависимости от степени контроля заболевания (КАБА GA: RR 1,93±1,2; $p = 0,0414$; НАБА GA: RR 2,43±0,31; $p = 0,0051$).

Установлено, что гены цитокинов вносят вклад в развитие АБА у детей. Эти данные для европейской популяции Восточной Сибири получены впервые и представляют интерес с точки зрения пополнения данных о вкладе полиморфизма генов цитокинов в развитие атопической бронхиальной астмы и контроля течения заболевания у детей.

Ключевые слова: атопия, воспаление, бронхиальная астма, цитокины, полиморфизм генов, контроль заболевания

CYTOKINE GENES AS GENETIC MARKERS OF CONTROLLED AND UNCONTROLLED ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA

Smolnikova M.V.^a, Freidin M.B.^{b,c}, Smirnova S.V.^a

^a Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

^c Department of Twin Research and Genetic Epidemiology, King's College London, London, United Kingdom

Abstract. Atopic bronchial asthma (ABA) is a multifactorial disease; its development is dependent on many environmental and genetic factors. Genetic risk factors can affect the clinical phenotype of ABA and the level of therapeutic control over the disease. Cytokine genes are crucially important in pathogenesis of ABA as they encode proteins participating in immune response and development of inflammation in bronchi. It was suggested that the therapeutic control of the disease is genetically mediated and depends on the presence of one or another allele in genes of mediators, participating in ABA pathogenesis. The knowledge about genetic markers will allow to predict clinical course of ABA in children.

We carried out the analysis of association between genes of pro- and anti-inflammatory cytokines with the level of therapeutic control of ABA. In children with controlled and uncontrolled ABA (CABA and UABA, respectively; $n = 110$), and in general a population sample ($n = 138$), we analysed 11 polymorphisms: *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874 и rs2243250), *IL5* (rs2069812), *IL10* (rs1800872 and rs1800896), *IL12B* (rs3212227), *TNFA* (rs1800629 and rs1800630), *TGFB1* (rs1800469), and *IFNG* (rs2069705), encoding cytokines actively participating at the development of allergic inflammation.

According to results of present study, the prevalence of alleles and genotypes of the analysed loci in the East Siberia Caucasians is consistent with the data in other world Caucasian populations. We have found statistically significant differences between UABA and control groups for the prevalence of *IL2* (rs2069762) polymorphism: GG genotype was more common in control group (14.1% compared to 5.9%, $p = 0.03$). It was shown that the *IL2*Т* allele and TT genotype of the rs2069762 are associated with the increased risk of uncontrolled ABA. A comparison of the haplotypes of *IL4* (rs2070874 and rs2243250) gene with correction for sex and age within an additive model revealed that the most common haplotype CC (prevalence in ABA/CABA/UABA groups is 0.75/0.76/0.74, respectively) is protective against the development of ABA (RR 0.53±0.32; $p = 0.044$). A comparative analysis of *TNFA* (rs1800629 and rs1800630) haplotypes has shown the GC haplotype to be protective against the risk of ABA (RR 0.59±0.17; $p = 0.003$) while the GA haplotype is positively associated with the disease (RR 2.07±0.25; $p = 0.003$). This was true for BA, regardless of the control over the disease (CABA GA: RR 1.93±1.2; $p = 0.041$; UABA GA: RR 2.43±0.31; $p = 0.005$).

Thus, it was established that the studied cytokine genes are important for the development of ABA in children. These data were obtained for the first time for Caucasians of East Siberia. They are of interest in terms of accumulation of the data about the impact of cytokine genes polymorphism upon development of ABA and its therapeutic control in children.

Keywords: atopy, inflammation, bronchial asthma, cytokines, gene polymorphism, disease control

Введение

Атопическая бронхиальная астма (АБА) — одно из самых распространенных и изучаемых заболеваний в мире, в основе патогенеза которого лежит воспалительный процесс в бронхах. По данным Всемирной организации здравоохранения, около 235 миллионов человек во всем мире страдают АБА. Бронхиальная астма может развиваться в любом возрасте, но в большинстве случаев первые симптомы возникают в детском возрасте [5, 20]. До настоящего времени бронхиальная астма считается неизлечимым заболеванием, неконтролируемое течение которого приводит к инвалидизации больного.

АБА является многофакторным заболеванием и ее развитие зависит как от множества факторов окружающей среды, так и генетической компоненты. Генетические факторы риска развития АБА могут влиять на фенотип заболевания и сте-

пень контроля его течения. Существенный вклад в патогенез АБА вносят гены, участвующие в иммунном ответе, развитии и активации воспаления дыхательных путей [1, 5]. В частности, гены цитокинов способствуют реализации различных патогенетических аспектов АБА — непосредственно или через межгенные взаимодействия, определяя степень контроля над заболеванием. Вариация уровня экспрессии генов и продукции цитокинов, обусловленная тем или иным полиморфизмом в кодирующей или промоторной части гена, может определять персонифицированный подход к терапии.

Предполагается, что степень контроля заболевания является генно-опосредованным процессом и во многом зависит от наличия того или иного аллельного варианта в генах медиаторов, участвующих в патогенезе АБА. Знания о генетических маркерах позволит прогнозировать течение атопической бронхиальной астмы у детей.

ТАБЛИЦА 1. СТРУКТУРА ПРАЙМЕРОВ И ПАРАМЕТРЫ АМПЛИФИКАЦИИ И РЕСТРИКЦИИ ДЛЯ ИЗУЧЕННЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ

TABLE 1. SEQUENCE OF PRIMERS, PARAMETERS OF DNA AMPLIFICATION, AND RESTRICTION FOR THE GENE POLYMORPHISMS STUDIED

Ген Gene	Полиморфизм (SNP) Polymorphism (SNP)	Структура праймеров Sequence of primers	Температура отжига, °C Annealing temperature, °C	Эндонуклеаза рестрикции Restriction enzyme
<i>IL2</i>	T-330G rs2069762	5'-tattcacatgttcagtgtagttct-3' 5'-acattagccacacttaggt-3'	48	Bfa I*
<i>IL4</i>	C-590T rs2243250	5'-cacctaaactgggagacatggt-3' 5'-gttgtaatgcagtcctcctg-3'	60	Bme 18I
<i>IL4</i>	C-33T rs2070874	5'- caagtactgacaatctggtgt-3' 5'- cggcacatgctagcaggaa-3'	60	BstMA I
<i>IL5</i>	C-703T rs2069812	5'-cagggagagccaatcagt-3' 5'-atgatgtccagactccaggatct-3'	60	PstN I
<i>IL10</i>	C-592A rs1800872	5'-atccaagacaacactactaa-3' 5'-taaatactctcaaagttcc-3'	54	Rsa I
<i>IL10</i>	G-1082A rs1800896	5'-aaggcaacactactaaggcttcctt-3' 5'-taaatactctcaaagttcc-3'	53	BstEN I
<i>IL12B</i>	1188A/C rs3212227	5'-ttctatctgatttgcttta-3' 5'-tgaaacattccatacatcc-3'	43	Taq I
<i>TNFA</i>	G-308A rs1800629	5'-aggcaatagggtttgagggccat-3' 5'-acactcccatctctcccggt-3'	58	Bsp19 I
<i>TNFA</i>	C-863A rs1800630	5'-ggctctgaggaatgggttac-3' 5'-ctacatggccctgtcttcgttacg-3'	60	BstBA I
<i>TGFB1</i>	C-509T rs1800469	5'-ccgcttctgtcctttctagg-3' 5'-aaagcgggtgatccagatg-3'	56	Bse21 I
<i>IFNG</i>	c.-1616C>T rs2069705	5'-attatcaagccagttttacag-3' 5'-gattcttctcctcctttgta-3'	56	Hpa I

Примечание. * — производство (NEB, United Kindom).

Note. *, enzyme manufacturer: NEB, United Kingdom.

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ЗДОРОВЫХ ЕВРОПЕОИДОВ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ (%)

TABLE 2. FREQUENCIES OF DIFFERENT ALLELIC POLYMORPHISMS OF CYTOKINE GENES IN PATIENTS WITH ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA AND HEALTHY EUROPEANS OF EAST SIBERIA (%)

Генотип Genotype	Группы Groups				Группы сравнения = ОШ (95% ДИ) Comparison groups = OR (95% CI)	p
	АБА (1) ABA (1) (n = 110)	КАБА (2) CABA (2) (n = 59)	НАБА (3) UABA (3) (n = 51)	Контроль (4) Control (4) (n = 138)		
IL2 (rs2069762)						
TT	55,5	54,2	56,9	40,7	2,4 = 0,64 (0,40-1,03) 3,4 = 0,56 (0,34-0,40) 1,4 = 0,60 (0,41-0,89)	p2,4 = 0,07 p3,4 = 0,03 p1,4 = 0,01
TG	37,3	37,3	37,2	45,2		
GG	7,2	8,5	5,9	14,1		
IL4 (rs2070874)						
CC	51,8	54,2	49,0	62,5	2,4 = 1,15 (0,69-1,91) 3,4 = 1,47 (0,81-2,46) 1,4 = 1,29 (0,86-1,96)	p2,4 = 0,59 p3,4 = 0,14 p1,4 = 0,22
CT	42,7	42,4	43,1	30,9		
TT	5,5	3,4	7,9	6,6		
IL4 (rs2243250)						
CC	54,6	59,3	49,0	62,2	2,4 = 0,97 (0,58-1,63) 3,4 = 1,36 (0,81-2,28) 1,4 = 1,14 (0,75-1,73)	p2,4 = 0,90 p3,4 = 0,24 p1,4 = 0,53
CT	40,9	37,3	45,1	30,4		
TT	4,5	3,4	5,9	7,4		
IL5 (rs2069812)						
C/C	40,0	39,0	41,2	45,7	2,4 = 1,11 (0,70-1,76) 3,4 = 1,17 (0,72-1,90) 1,4 = 1,14 (0,78-1,66)	p2,4 = 0,66 p3,4 = 0,51 p1,4 = 0,5
C/T	52,7	55,9	49,0	47,1		
T/T	7,3	5,1	9,8	7,2		

Таблица 2 (продолжение)
Table 2 (continued)

Генотип Genotype	Группы Groups				Группы сравнения = ОШ (95% ДИ) Comparison groups = OR (95% CI)	p
	АБА (1) ABA (1) (n = 110)	КАБА (2) CABA (2) (n = 59)	НАБА (3) UABA (3) (n = 51)	Контроль (4) Control (4) (n = 138)		
IL 10 (rs1800872)						
CC	61,8	64,4	58,8	54,8	2,4 = 0,85 (0,51-1,41) 3,4 = 0,83 (0,49-1,42) 1,4 = 0,84 (0,55-1,27)	p _{2,4} = 0,52 p _{3,4} = 0,50 p _{1,4} = 0,41
CA	30,9	25,4	37,2	38,5		
AA	7,2	10,2	3,9	6,7		
IL 10 (rs1800896)						
AA	34,6	39,0	29,4	28,3	2,4 = 1,0 (0,65-1,55) 3,4 = 1,16 (0,74-1,83) 1,4 = 1,07 (0,75-1,53)	p _{2,4} = 1,0 p _{3,4} = 0,52 p _{1,4} = 0,70
GA	42,7	37,3	49,0	58,7		
GG	22,7	23,7	21,6	13,0		
IL12B (rs3212227)						
A/A	68,2	71,2	64,7	59,4	2,4 = 0,70 (0,40-1,23) 3,4 = 0,95 (0,55-1,65) 1,4 = 0,81 (0,52-1,26)	p _{2,4} = 0,22 p _{3,4} = 0,85 p _{1,4} = 0,36
A/C	25,4	23,7	27,5	36,2		
C/C	6,4	5,1	7,8	4,4		
TNFA (rs1800629)						
GG	76,4	72,9	80,4	82,9	2,4 = 1,47 (0,76-2,86) 3,4 = 1,02 (0,47-2,20) 1,4 = 1,26 (0,71-2,24)	p _{2,4} = 0,25 p _{3,4} = 0,96 p _{1,4} = 0,43
GA	23,6	27,1	19,6	14,8		
AA	0,0	0,0	0,0	2,2		

Таблица 2 (окончание)
Table 2 (continued)

Генотип Genotype	Группы Groups				Группы сравнения = ОШ (95% ДИ) Comparison groups = OR (95% CI)	p
	АБА (1) ABA (1) (n = 110)	КАБА (2) CABA (2) (n = 59)	НАБА (3) UABA (3) (n = 51)	Контроль (4) Control (4) (n = 138)		
TNFA (rs1800630)						
CC	62,7	66,1	58,8	76,1	2,4 = 1,69 (0,94-3,04) 3,4 = 2,27 (1,26-4,06) 1,4 = 1,95 (1,20-3,17)	p2,4 = 0,08 p3,4 = 0,005 p1,4 = 0,007
CA	32,7	30,5	35,3	23,9		
AA	4,6	3,4	5,9	0,0		
TGFB1 (rs1800469)						
C/C	47,3	44,1	51,0	43,5	2,4 = 0,88 (0,55-1,41) 3,4 = 0,95 (0,58-1,55) 1,4 = 0,91 (0,62-1,34)	p2,4 = 0,59 p3,4 = 0,83 p1,4 = 0,64
C/T	46,4	54,2	37,2	50,0		
T/T	6,3	1,7	11,8	6,5		
IFNG (rs2069705)						
C/C	33,6	35,6	29,4	26,8	2,4 = 0,72 (0,47-1,12) 3,4 = 1,01 (0,64-1,59) 1,4 = 0,84 (0,59-1,21)	p2,4 = 0,14 p3,4 = 0,97 p1,4 = 0,35
C/T	46,4	49,2	45,1	50,7		
T/T	20,0	15,2	25,5	22,5		

Примечание. $p_{1,2}$ для всех SNP превышали значение 0,05.

Note. $p_{1,2}$ values for all SNPs exceeded 0.05.

Цель исследования: изучить вовлеченность функциональных полиморфизмов генов-кандидатов *IL2* (rs2069762), *IL4* (rs2070874 и rs2243250), *IL5* (rs2069812), *IL10* (rs1800872 и rs1800896), *IL12B* (rs3212227), *TNFA* (rs1800629 и rs1800630), *TGFB1* (rs1800469), *IFNG* (rs2069705) в патогенез АБА с различным уровнем контроля заболевания у европеоидов Восточной Сибири.

Материалы и методы

В работе использовали образцы ДНК жителей г. Красноярск, больных АБА (n = 110). Все обследованные или их родители дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Были сформированы группы детей больных: среднетяжелой АБА с контролируемым течением заболевания (КАБА, n = 59; средний возраст

12,5±1,6 лет) и тяжелой/среднетяжелой АБА с неконтролируемым течением заболевания (НАБА, $n = 51$; средний возраст 13,1±2,8 лет). Диагноз, степень тяжести, уровень контроля над течением заболевания установлен в соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA. Контрольная группа сформирована из практически здоровых детей без признаков атопии ($n = 33$, средний возраст 13,6±2,5 лет), а также популяционной выборки без АБА и аллергии в анамнезе ($n = 105$, средний возраст 38,3±5,4 лет). Предварительно перед объединением был проведен сравнительный анализ частоты аллелей в контрольных группах разного возраста, статистически значимых отличий не выявлено.

Общие критерии включения в исследование: диагноз атопическая бронхиальная астма, среднетяжелое/тяжелое течение, отсутствие ОРВИ и других острых заболеваний на момент обследования, европеоидное происхождение (3 поколения). Использован тест по контролю над астмой (АСТ™). Результат теста в группе КАБА составил 22,5±2,6 балла, в группе НАБА — 14,8±3,1 балла ($p < 0,001$). Критерии включения в контрольную группу: практически здоровые индивиды, отрицательный аллергологический анамнез, уровень общего IgE < 100 МЕ/мл, европеоидное происхождение (3 поколения).

Для выделения ДНК из периферической крови использован стандартный набор («Лаборатория Медиген», Новосибирск). Изученные генные варианты локализованы в промоторных участках соответствующих генов, для гена *IL12B* — в 3'-UTR. Амплификация проведена путем полимеразной цепной реакции (ПЦР) (табл. 1) на амплификаторе «Терцик МС2» («ДНК-технология», Москва). Генотипирование аллельных вариантов осуществлено методом рестрикционного анализа продуктов амплификации (ПДРФ-анализ) специфических участков генома с использованием эндонуклеаз рестрикции («Сибэнзим», г. Новосибирск). Продукты рестрикции фракционировали в 2% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием.

Частоты генотипов по полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга (РХВ) с помощью критерия χ^2 и точного теста Фишера. Сравнение частот аллелей и генотипов между группами проводили с помощью калькулятора http://gen-exp.ru/calculator_or.php. В качестве меры степени ассоциации генетических маркеров с фенотипами использовали величину отношения шансов (ОШ) с расчетом для него 95% доверительного интервала

(ДИ). Анализ гаплотипов проводили с помощью пакета haplo.ccs для программной среды R.

Результаты

Сравнения частот аллелей и генотипов проведены как между общей группой АБА и контролем, так и между группами, выделенными с учетом степени контроля над заболеванием (КАБА и НАБА), и между каждой из групп с популяционной выборкой (табл. 2).

Получены статистически значимые отличия между группой НАБА и контрольной выборкой по частотам генотипов *IL2* (rs2069762): генотип GG чаще встречается в контрольной группе (14,1% по сравнению с 5,9% в группе НАБА, $p = 0,03$).

Сравнительный анализ частоты генотипов полиморфизма *TNFA* (rs1800630) показал статистически значимые отличия между группами АБА и контрольной выборкой (ОШ 1,95; $p = 0,007$), а также между группой НАБА и контрольной выборкой (ОР, $p = 0,005$). Аллельный вариант С чаще встречается в контрольной группе (88,0%) по сравнению с общей группой АБА (79,1%) и НАБА (76,5%).

Для остальных исследованных полиморфизмов, отличий в частотах аллелей и генотипов между больными АБА и контрольной группой не установлено.

При сравнении гаплотипов *IL4* (rs2070874 и rs2243250) с поправкой на пол и возраст, с использованием аддитивной модели наследования, показано, что наиболее часто встречающийся гаплотип CC (частота в группах АБА/КАБА/НАБА составляет 0,75/0,76/0,74 соответственно) является протективным в отношении риска развития атопической бронхиальной астмы (RR 0,53; SE 0,32; $p = 0,0439$). Гаплотип CC может служить протективным генетическим маркером АБА с контролируемым (RR 0,26; SE 0,38; $p = 0,0008$) и неконтролируемым (RR 0,3; SE 0,38; $p = 0,0018$) течением заболевания.

В результате анализа гаплотипов полиморфизмов в гене *IL10* (rs1800872 и rs1800896) с использованием аддитивной модели наследования с поправкой на пол и возраст статистически значимых отличий между группами с разной степенью контроля АБА с популяционной выборкой не выявлено.

При сравнении гаплотипов *TNFA* (rs1800629 и rs1800630) с поправкой на пол и возраст, с использованием аддитивной модели наследования, показано, что гаплотип GC является протек-

тивным в отношении риска развития АБА (RR $0,59 \pm 0,17$; $p = 0,0028$), а гаплотип GA — predisполагающим к заболеванию (RR $2,07 \pm 0,25$; $p = 0,0034$). Это характерно для атопической бронхиальной астмы вне зависимости от степени контроля заболевания (КАБА GA: RR $1,93 \pm 1,2$; $p = 0,0414$; НАБА GA: RR $2,43 \pm 0,31$; $p = 0,0051$).

Обсуждение

Атопическая бронхиальная астма представляет собой многофакторное воспалительное заболевание, связанное со сложными процессами цитокиновой регуляции межклеточных взаимодействий. На май 2017 года, согласно системе Phenopedia (<https://phgkb.cdc.gov/HuGENavigator/startPagePhenoPedia.do>), в отношении бронхиальной астмы исследовано более 1300 генов, в том числе цитокинов и их рецепторов. Цитокины занимают важное место в регуляции иммунного ответа при аллергическом воспалении, которое имеет ведущее значение при развитии бронхиальной астмы. Генетический полиморфизм цитокиновой сети влияет на уровень концентрации цитокинов в сыворотке крови, что в свою очередь оказывает эффект на формирование контролируемого или неконтролируемого течения АБА. Такие ассоциации между определенным аллельным вариантом генов и уровнем продукции описаны для ряда цитокинов [11, 12, 13]. Некоторые из исследований имеют противоречивые данные о роли генетических факторов в патогенезе астмы [3, 16]. В проведенном исследовании изучены однонуклеотидные замены в генах цитокинов, продуцируемых Th1-лимфоцитами (IL-2, IL-12, TNF α , TGF- β , IFN γ), Th2-лимфоцитами (IL-4, IL-5, IL-10) и Treg-клетками (IL-10, TGF- β).

По данным проведенного исследования, у европеоидов Восточной Сибири частоты аллелей и генотипов по изученным полиморфизмам соответствуют таковым в других европеоидных популяциях мира.

В результате проведенного исследования установлена ассоциация аллеля T полиморфизма rs2069762 гена *IL2* с АБА. Цитокин IL-2 играет важную роль в пролиферации активированных T-лимфоцитов и угнетении ответа лимфоцитов путем индуцирования продукции T-супрессоров [10]. Ранее показано, что аллель *IL2**T связан со сниженной продукцией цитокина в культуре лимфоцитов периферической крови здоровых лиц [8, 11]. Поскольку IL-2 является цитокином Th1-профиля, вариант, кото-

рый уменьшает выработку IL-2 (аллель T), будет иметь тенденцию искажать баланс Th1/Th2 в сторону Th2, что типично для атопии. Таким образом, результаты, показывающие снижение экспрессии IL-2, связанной с аллелем T, хорошо коррелируют с полученными нами данными. Следовательно, генотип TT-330 или аллельный вариант T можно считать predisполагающим к развитию АБА и прогностическим маркером неконтролируемого течения заболевания.

В результате проведенного исследования установлен протективный эффект гаплотипа CC по двум изученным полиморфизмам гена *IL4* (rs2243250, rs2070874) в отношении риска развития АБА (RR $0,53 \pm SE 0,32$; $p = 0,0439$). При этом гаплотип CC может служить протективным генетическим маркером АБА как с контролируемым (RR $0,26 \pm SE 0,38$; $p = 0,0008$), так и неконтролируемым (RR $0,3 \pm SE 0,38$; $p = 0,0018$) течением заболевания. Цитокин IL-4 — один из ключевых интерлейкинов, участвующих в патогенезе атопии: он способствует пролиферации плазматических клеток, увеличивает экспрессию низкоаффинного рецептора к IgE на B-клетках, селективно индуцирует синтез IgE. Ранее показана ассоциация редкого аллельного варианта T-590 *IL4* (rs2243250) с гиперпродукцией IL-4 [6, 18, 22, 25]. Полученные нами результаты соответствуют данным литературы, включая результаты метаанализов, об ассоциации полиморфизмов *IL4* с бронхиальной астмой, в том числе в отношении АБА у детей и в популяциях различного этнического состава [9, 15, 19, 23, 24].

В нашем исследовании сравнительный анализ частоты генотипов полиморфизма *TNFA* (rs1800630) показал статистически значимые отличия между общей группой АБА и контрольной выборкой, а также между группой НАБА и контрольной выборкой. При сравнении гаплотипов *TNFA* (rs1800629 и rs1800630) показано, что гаплотип GC можно считать протективным по отношению к риску развития АБА, а гаплотип GA — predisполагающим к заболеванию. Это характерно для атопической бронхиальной астмы вне зависимости от степени контроля заболевания. TNF- α представляет собой провоспалительный цитокин, участвующий во многих аспектах развития патологии дыхательных путей при атопической бронхиальной астме, играет роль в возникновении аллергического воспаления и генерации гиперреактивности бронхов [2, 4, 14]. Однонуклеотидная замена -308G/A (rs1800629) в промоторном регионе ассоциирована с уровнем экспрессии гена и продукции TNF α — ал-

лельный вариант А-308 связан с высокой концентрацией [17, 21]. У носителей варианта А-308 существует повышенный риск развития бронхиальной астмы по сравнению с гомозиготными по аллелю GG [7, 24]. Эти данные подтверждают важную роль $TNF\alpha$ в патогенезе бронхиальной астмы, а ген *TNFA* может быть геном предрасположенности к заболеванию. Изучение гена *TNFA* в отношении развития бронхиальной астмы уступает только гену *IL4* (система Phenopedia) — множество исследований проведено на разных популяционных выборках.

Таким образом, в проведенном нами исследовании впервые получены данные о популяционных частотах аллелей и генотипов генов цитокинов у европеоидного населения Восточной Сибири. Установлена ассоциация полиморфизмов генов *IL2*, *IL4* и *TNF* с контролируемым и неконтролируемым течением АБА. Эти данные для европеоидной популяции Восточной Сибири получены впервые и представляют интерес с точки зрения пополнения данных о вкладе полиморфизма генов цитокинов в развитие atopической бронхиальной астмы и контроля течения заболевания у детей.

Список литературы / References

1. Barnes K.C., Freidhoff L.R., Nickel R., Chiu Y.F., Juo S.H., Hizawa N., Naidu R.P., Ehrlich E., Duffy D.L., Schou C., Levett P.N., Marsh D.G., Beaty T.H. Dense mapping of chromosome 12q13.12-q23.3 and linkage to asthma and atopy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999, Vol. 104, pp. 485-491.
2. Carroll M.C., Katzman P., Alicot E.M., Koller B.H., Geraghty D.E., Orr H.T., Strominger J.L., Spies T. Linkage map of the human major histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, Vol. 84, no. 23, pp. 8535-8539.
3. Chen T., Liang W., Gao L., Wang Y., Liu Y., Zhang L., Zhang L. Association of single nucleotide polymorphisms in interleukin 12 (IL-12A and -B) with asthma in a Chinese population. *Hum. Immunol.*, 2011, Vol. 72, no. 7, pp. 603-606.
4. Chen X., Xiong L., Qin S., Ma W., Zhou Q. Effect of tumor necrosis factor- α antagonism in asthma: a meta-analysis of the published literature. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.*, 2011, Vol. 31, no. 1, pp. 137-141.
5. Eijkemans M., Mommers M., de Vries S.I., van Buuren S., Stafleu A., Bakker I., Thijs C. Asthmatic symptoms, physical activity, and overweight in young children: a cohort study. *Pediatrics*, 2008, Vol. 121, no. 3, pp. e666-672.
6. Freidin M.B., Kobayakova O.S., Ogorodova L.M., Puzyrev V.P. Association of polymorphisms in the human IL4 and IL5 genes with atopic bronchial asthma and severity of the disease. *Comp. Func. Genomics*, 2003, Vol. 4, no. 3, pp. 346-350.
7. Gao J., Shan G., Sun B., Thompson P.J., Gao X. Association between polymorphism of tumour necrosis factor α -308 gene promoter and asthma: a meta-analysis. *Thorax*, 2006, Vol. 61, pp. 466-471.
8. Hoffmann S.C., Stanley E.M., Darrin Cox E., Craighead N., DiMercurio B.S., Koziol D.E., Harlan D.M., Kirk A.D., Blair P.J. Association of cytokine polymorphic inheritance and *in vitro* cytokine production in anti-CD3/CD28-stimulated peripheral blood lymphocytes. *Transplantation*, 2001, Vol. 72, pp. 1444-1450.
9. Liu Y., Zhuo A., Liu W., Xu S., Li S. The -33C/T polymorphism in the interleukin 4 gene is associated with asthma risk: a meta-analysis. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2014, Vol. 24, no. 2, pp. 114-121.
10. Malek T.R. The main function of IL-2 is to promote the development of T regulatory cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2003, Vol. 74, no. 6, pp. 961-965.
11. Matesanz F., Fedetz M., Leyva L., Delgado C., Fernández O., Alcina A. Effects of the multiple sclerosis associated -330 promoter polymorphism in IL2 allelic expression. *J. Neuroimmunol.*, 2004, Vol. 148, no. 1-2, pp. 212-217.
12. Mörmann M., Rieth H., Hua T.D., Assouhou C., Roupelieva M., Hu S.L., Kremsner P.G., Luty A.J., Kube D. Mosaics of gene variations in the Interleukin-10 gene promoter affect interleukin-10 production depending on the stimulation used. *Genes Immun.*, 2004, Vol. 5, no. 4, pp. 246-255.
13. Movahedi M., Mahdavian S.A., Rezaei N., Moradi B., Dorkhosh S., Amirzargar A.A. IL-10, TGF- β , IL-2, IL-12, and IFN- γ cytokine gene polymorphisms in asthma. *J. Asthma*, 2008, Vol. 45, no. 9, pp. 790-794.
14. Nicolae D., Cox N.J., Lester L.A., Schneider D., Tan Z., Billstrand C., Kuldane S., Donfack J., Kogut P., Patel N.M., Goodenbour J., Howard T., Wolf R., Koppelman G.H., White S.R., Parry R., Postma D.S., Meyers D., Bleeker E.R., Hunt J.S., Solway J., Ober C. Fine mapping and positional candidate studies identify HLA-G as an asthma susceptibility gene on chromosome 6p21. *Am. J. Hum. Genet.*, 2005, Vol. 76, no. 2, pp. 349-357.
15. Nie W., Zhu Z., Pan X., Xiu Q. The interleukin-4 -589C/T polymorphism and the risk of asthma: a meta-analysis including 7,345 cases and 7,819 controls. *Gene*, 2013, Vol. 10, no. 520 (1), pp. 22-29.

16. Padrón-Morales J., Sanz C., Dávila I., Muñoz-Bellido F., Lorente F., Isidoro-García M. Polymorphisms of the IL12B, IL1B, and TNFA genes and susceptibility to asthma. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.*, 2013, Vol. 23, no. 7, pp. 487-494.
17. Sharma S., Sharma A., Kumar S., Sharma S.K., Ghosh B. Association of TNF haplotypes with asthma, serum IgE levels, and correlation with serum TNF-(alpha) levels. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2006, Vol. 35, pp. 488-495.
18. Smolnikova M.V., Smirnova S.V., Freidin M.B., Tyutina O.S. Immunological parameters and gene polymorphisms (C-590T IL4, C-597A IL10) in severe bronchial asthma in children from the Krasnoyarsk region, West Siberia. *J. Circumpolar. Health.*, 2013, Vol. 5, p. 72.
19. Tang L., Lin H.G., Chen B.F. Association of IL-4 promoter polymorphisms with asthma: a meta-analysis. *Genet. Mol. Res.*, 2014, Vol. 28, no. 13 (1), pp. 1383-1394.
20. Tang S.P., Liu Y.L., Wang S.B., Weng S.F., Chen S., Zhang M.J., Dong L., Guo Y.H., Lin D.R., Hua Y.H., Wang D.Y. Trends in prevalence and risk factors of childhood asthma in Fuzhou, a city in Southeastern China. *J. Asthma*, 2015, Vol. 52, no. 1, pp. 10-15.
21. Virchow J.C. Jr., Walker C., Hafner D., Kortsik C., Werner P., Matthys H., Kroegel C. T cells and cytokines in bronchoalveolar lavage fluid after segmental allergen provocation in atopic asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1995, Vol. 151, pp. 960-968.
22. Wang R.S., Jin H.X., Shang S.Q., Liu X.Y., Chen S.J., Jin Z.B. Associations of IL-2 and IL-4 Expression and Polymorphisms With the Risks of Mycoplasma pneumoniae Infection and Asthma in Children. *Arch. Bronconeumol.*, 2015, Vol. 51, no. 11, pp. 571-578.
23. Yang H.J. Association between the interleukin-4 gene C-589T and C+33T polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis. *Arch. Med. Res.*, 2013, Vol. 44, no. 2, pp. 127-135.
24. Zhang J., Tian C., Xiao Y., He C., Bogati A., Huang J., Fan H. The -308 G/A polymorphism in TNF- α gene is associated with asthma risk: an update by meta-analysis. *J. Clin. Immunol.*, 2011, Vol. 31, pp. 174-185.
25. Zhang S., Li Y., Liu Y. Interleukin-4 -589C/T Polymorphism is Associated with Increased Pediatric Asthma Risk: A Meta-Analysis. *Inflammation*, 2015, Vol. 38, no. 3, pp. 1207-1212.

Авторы:

Смольникова М.В. — к.б.н., ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия

Фрейдin М.Б. — д.б.н., старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия; Отдел близнецовых исследований и генетической эпидемиологии, Королевский колледж Лондона, Лондон, Великобритания

Смирнова С.В. — д.м.н., профессор, руководитель научного направления, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, г. Красноярск, Россия

Authors:

Smolnikova M.V., PhD (Biology), Leading Research Associate, Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

Freidin M.B., PhD, MD (Biology), Senior Research Associate, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation; Department of Twin Research and Genetic Epidemiology, King's College London, London, United Kingdom

Smirnova S.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Scientific Direction, Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

Поступила 21.04.2017

Отправлена на доработку 02.05.2017

Принята к печати 20.06.2017

Received 21.04.2017

Revision received 02.05.2017

Accepted 20.06.2017