

# ПРОГНОЗ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ ЧЕЛОВЕКА К РАЗВИТИЮ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С ПО ПОЛИМОРФИЗМАМ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ G-308A TNFA, T-330G IL-2, C-590T IL-4, C-703T IL-5 И C-592A IL-10

Авдошина В.В., Дортман В.В., Коненков В.И.,  
Белобородова Е.В.\* , Рязанцева Н.В.\* ,  
Наследникова И.О.\* , Новицкий В.В.\*

ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, Новосибирск, Россия;

\*Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

**Резюме.** Целью данной работы явилось выявление аллельных вариантов генов цитокинов в точках полиморфизма G-308A TNFA, T-330G IL-2, C-590T IL-4, C-703T IL-5 и C-592A IL-10 и их влияние на предрасположенность и резистентность индивидов к развитию вирусного гепатита С. Обращает на себя внимание значительное повышение частоты встречаемости генотипа T/G T-330G IL-2 среди пациентов по сравнению со здоровыми лицами. Исследование характера распределения аллелей промотора гена C-590T IL-4 показал преимущественное распространение среди пациентов генотипа C/T. Среди пациентов с хроническим вирусным гепатитом С возрастает частота распространения генотипа G/A G-308A TNFA, редко выявляемого среди здоровых лиц. На основании анализа частоты встречаемости аллельных вариантов генов цитокинов в данных полиморфных точках мы получаем возможность с вероятностью 95% прогнозировать состояние предрасположенности к хронизации вирусного гепатита С при условии инфицирования данного индивида.

*Ключевые слова:* гепатит С, аллельный полиморфизм генов цитокинов.

*Avdoshina V.V., Dortman V.V., Konenkov V.I., Beloborodova E.V., Ryzantseva N.V., Naslednikova I.O., Novitsky V.V.*

## **PROGNOSIS FOR PREDISPOSAL TO DEVELOPMENT OF VIRAL HEPATITIS C BASED ON G-308A TNFA, T-330G IL-2, C-590T IL-4, C-703T IL-5, AND C-592A IL-10 GENE POLYMORPHISMS**

**Abstract.** The main objective of this work was to identify allelic variants of cytokine genes at the polymorphic positions of G-308A TNFA, T-330G IL-2, C-590T IL-4, C-703T IL-5, and C-592A IL-10, and to assess their contribution to predisposition and resistance of human patients to progression of viral hepatitis C infection. We observed significant increase in frequency of T/G T-330G IL-2 genotype in HCV-infected patients, as compared to healthy individuals. Distribution analysis of C-590T promoter alleles of the IL-4 gene displayed a wide overrepresentation of C/T genotype among HCV-infected patients. Likewise, we have shown the G/A genotype of G-308A TNFA to be highly frequent in the group of HCV-infected patients, whereas this genotype was rare in the sample of healthy persons. When analysing allelic frequencies of cytokine genes at these polymorphic positions, we get an opportunity to predict predisposal for the chronic variant of viral hepatitis C in HCV-infected persons. (*Med. Immunol.*, 2006, vol.8, № 5-6, pp 715-720)

### **Адрес для переписки:**

Ядринцевская, 14, Новосибирск, 630099  
Авдошина Валерия Владимировна,  
Тел.: 8 (3832) 28-50-84,  
факс 8 (3832) 30-21-63.  
valeriya\_avdoshina@ngs.ru

### **Введение**

Хронический вирусный гепатит С – длительно текущее, малосимптомное инфекционное заболевание, развивающееся в результате инфицирования человека вирусом гепатита С. При HCV-инфекции прогрессирует поражение преимущественно печени

с возможным развитием фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы.

До настоящего времени остается открытым вопрос о естественном течении HCV-инфекции. Это обуславливается как значительной вариабельностью темпов прогрессирования заболевания и существования множества факторов, влияющих на его течение, так и недостаточной изученностью вопроса, имеющей ряд объективных причин. К ним относятся прежде всего латентность острой фазы инфекции, делающей невозможным точное установление начала заболевания в большинстве случаев, а также значительную длительность течения HCV-инфекции, что усложняет проведение проспективных и контролируемых исследований.

Выделяют несколько генотипов вируса, отличающихся структурой генома. Существование различных вариантов вируса зачастую не объясняет различные варианты течения вирусного гепатита С. Острый гепатит завершается выздоровлением в среднем в 15% случаев, хронизацией инфекции – в 85% наблюдений [3, 11]. Хроническая HCV-инфекция имеет различные исходы. У значительной части больных (10-40%), главным образом имеющих стойко нормальные уровни сывороточных аминотрансфераз, в отсутствие дополнительных факторов наблюдаются минимальные изменения в печени, низкие темпы развития фиброза и отсутствие риска развития цирроза печени при жизни. У 20-30% больных с хронической HCV-инфекцией развивается цирроз печени, и 20% из числа больных циррозом печени имеют риск развития гепатоцеллюлярной карциномы [3].

Существующие на сегодня данные позволяют предположить, что не только и, вероятно, не столько генотип вируса определяет течение заболевания. В последние годы, помимо классических иммуногенетических подходов, особое внимание уделяется изучению аллельных вариантов генов цитокинов при различных заболеваниях [4, 5]. Существует большая вероятность того, что полиморфизм генов цитокинов оказывает влияние на вариантность формирования иммунного ответа на HCV. При этом отдельные аллельные варианты могут быть ассоциированы с уровнем продукции соответствующего белкового продукта, что тоже оказывает влияние на характер течения и темпы прогрессирования заболевания. В то же время пока не совсем ясно, какие именно мутации и каких цитокинов имеют решающее значение в развитии тех или иных исходов HCV-инфекции. Вероятно, что большую роль играют не столько отдельные аллели генов, сколько их сочетания. Поэтому перспективным направлением молекулярно-генетических исследований является изучение вкладов конкретных аллелей в характер течения HCV-инфекции.

## Материалы и методы

Был обследован 81 HCV-инфицированный пациент и 48 практически здоровых жителей России европейского происхождения.

Критерием отбора пациентов для исследования служили положительные результаты полимеразной цепной реакции (ПЦР) на вирусный гепатит С и данные пункционной биопсии печени. Изучаемая группа включала пациентов на разных стадиях HCV-инфекции, среди которых было 50 мужчин и 31 женщина, их средний возраст в момент забора материала составлял  $35 \pm 6$  лет. По данным световой микроскопии биоптата у все больных выявлялось характерное для вирусного гепатита С лимфо-гистеоцитарная инфильтрация и различные варианты некрозов гепатоцитов и наличие фиброза I-III стадии.

Контрольную группу составили 48 здоровых индивидов, согласившихся на исследования (средний возраст 31 год), из которых 24 мужчины и 24 женщины.

Геномную ДНК выделяли из цельной венозной крови с помощью высаливания с протеиназой К [8]. К 500 мкл крови, собранной в пробирку типа «Эппендорф», содержащую 50 мкл 2,7% Na<sub>2</sub> ЭДТА, добавляли буфер, лизирующий эритроциты (RCLB): 0,32 М сахарозы; 10 мМ Трис-HCl («Sigma», USA), pH 7,5; 5 мМ MgCl<sub>2</sub>; 1% Тритон X-100 («Sigma X100»). Лизат эритроцитов центрифугировали в течение 1 мин при 12000 об/мин. Клеточную и ядерную мембраны лейкоцитов лизировали в растворе, содержащем 1 М Трис-HCl, pH 7,5; 0,5 мМ ЭДТА pH 8,0 («Sigma», USA); 0,5 % SDS («Sigma», USA) и 100 мкг/мл протеиназы К («Boehringer», USA), инкубируя в течение часа при 56° С.

После инкубации к раствору добавляли 100 мкл 6 М NaCl, интенсивно встряхивали в течение 15 с для преципитации протеинов. Затем центрифугировали при 12000 об/мин в течение 6 мин, после чего надосадочную жидкость переносили в другую пробирку, где проводили экстракцию ДНК абсолютным этиловым спиртом. После экстракции ДНК промывали 70% этиловым спиртом и растворяли в стерильной дистиллированной воде до концентрации 100-300 мкг/мл.

Концентрацию и чистоту выделенной ДНК определяли спектрофотометрическим методом, измеряя оптическую плотность при длинах волн 260 и 280 нм, причем 1 о.е. соответствовала 50 мкг ДНК. Выделенную ДНК замораживали и хранили при –20°С. Непосредственно для работы использовали небольшие количества ДНК, хранившиеся при +4°С.

Исследовано пять полиморфных варианта пяти цитокинов: G-308A TNFA, T-330G IL2, C-590T IL4, C-703T IL5, C-592A IL10. Все изученные мутации локализованы в промоторных участках соответствующих генов.

Генотипирование аллельных вариантов осуществляли методом рестриктного анализа продуктов амплификации (ПДРФ-анализ) специфических участков генома. Амплификацию осуществляли в пробирках типа «Эппендорф» путем ПЦР, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе (табл. 1) и учитывая применение нами амплификатора «iCycler» («BioRad», USA).

Реакционная среда общим объемом 20 мкл состояла из буфера для проведения ПЦР («Сибэнзим»,

Табл. 1. ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАННЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ

Ген	Полиморфизм	Структура праймеров	Температура отжига	Фермент рестрикции
IL-2	T-330G	5'-tattcacatgttcagtgtagttct-3' 5'-acattagcccacacttaggt-3'	48	Mae I
IL-4	C-590T	5'-cagggagagccaatcagt-3' 5'-atgatgtccagactccaggatct-3'	65	Bsm FI
IL-5	C-703T	5'-actaggcctcacctgatacg-3' 5'-gttgtaatgcagtcctcctg-3'	60	AlwNI
IL-10	C-592A	5'-atccaagacaacactactaa-3' 5'-taaatatcctcaaggtcc-3'	54	Rsa I
TNF- $\alpha$	G-308A	5'-aggcaataggttttgagggccat-3' 5'-acactccccatcctccggct-3'	57	Bsp19 I (Nco I)

Новосибирск), включающего в себя следующие реагенты: 60 mM Трис-НCl (pH 8,5); 25 mM KCl; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 10 mM 0,1% меркаптоэтанол; Triton X-100; а также 30 пкмоль каждого олигонуклеотида; 125 мкМ каждого dNTP («Сибэнзим», Новосибирск); 50-200 нг геномной ДНК и 1-2 ед. Таq полимеразы («Сибэнзим», Новосибирск).

Программа амплификации включала стандартно предварительную денатурацию при 94°C в течение 5 минут, с последующими 30-35 циклами отжига при специфической для каждой пары праймеров температуре (1 мин), элонгации цепи при 72°C (1 мин) и денатурации при 94°C (1 мин). Программу завершала финальная элонгация при 72°C в течение 5 минут.

После проведения ПЦР 3-5 мкл амплификата разделяли в 2% агарозном геле, содержащем 0,5 мг/мл этидиум бромид при напряжении 120-130 В в течение нескольких минут для последующей визуализации в УФ-свете, подтверждающей наличие продукта амплификации.

Затем продукты амплификации подвергали рестрикции соответствующими эндонуклеазами (табл. 1): рестрикционная смесь в случае определения полиморфизма генов IL4, IL5, IL10 и TNFA включала 7-9 мкл амплификата, 1,0-1,2 мкл 10 × буфера для рестрикции, («New England Biolabs», Великобритания), и 1-2 единицы активности фермента; в случае IL2 рестрикционная смесь включала 5 мкл амплификата, 5 мкл 2×буфера для рестрикции и 1-2 единицы *MaeI*. Рестрикцию продукта амплификации гена IL2 проводили в течение 4 часов при 45°C, IL4 - в течение 6 часов при 65°C, рестрикцию продуктов IL5, IL10 и TNFA проводили в течение 10-12 часов при 37°C. Продукты рестрикции разделяли с помощью электрофореза в 2%-ном агарозном геле, содержащем 0,5 мг/мл этидиум бромид при напряжении 120-130 В в течение 30-45 минут и визуализировали в УФ-свете. В качестве маркера размера ДНК использовали плазмиду *pUC19*, расщепленную рестриктазой *MspI* («Сибэнзим», Новосибирск).

## Результаты и обсуждение

Различия в восприимчивости людей к различного рода инфекциям являются хорошо известным фактом. Однако попытки установить факторы,

определяющие подверженность того или иного индивида к развитию инфекционно-воспалительного заболевания, или его устойчивость к развитию болезни при контакте с возбудителем, до сих пор остаются полностью не выясненными, несмотря на значительные успехи в разработке прогностических программ на основе иммуногенетических данных [2].

Учитывая высокую значимость иммунных процессов в патогенезе вирусных болезней и, в частности, вирусного гепатита С, регуляция которых во многом определяется балансом цитокинов, представляется важным оценить частоту встречаемости аллельных вариантов генов цитокинов среди здоровых и инфицированных лиц. Особое внимание следует уделить анализу аллельного полиморфизма в промоторных зонах этих генов, играющего определяющую роль в уровне спонтанной и индуцированной продукции соответствующих регуляторных факторов.

Представляется логичным начать рассмотрение этой проблемы с анализа полиморфизма гена интерлейкина-2, играющего определяющую роль в регуляции интенсивности Т-клеточных реакций противовирусного иммунитета (табл. 2).

Здесь обращает на себя внимание значительное повышение частоты встречаемости генотипа T/G этого гена среди пациентов по сравнению со здоровыми лицами (p<0002). Необходимо отметить, что частота встречаемости этого генотипа среди обследованных нами здоровых лиц русской национальности практически соответствует аналогичным результатам, полученным при обследовании жителей других стран европеоидного происхождения [10, 14]. Параллельное незначительное возрастание среди пациентов и частоты распространения генотипа G/G приводит к компенсаторному снижению частоты распространения генотипа T/T (p<0,0001), что свидетельствует об ассоциированности этого генотипа с состоянием относительной резистентности к развитию заболевания. Из полученных результатов вытекает, что это, вероятно, ассоциируется с аллельным вариантом IL-2\*-330G, частота которого значительно выше среди инфицированных пациентов в сравнении со здоровыми лицами (OR=2,54; p<0,001).

Учитывая полученные нами данные об ассоциированности генотипов, содержащих аллель IL-2\*-

Табл. 2. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ T-330G IL-2 СРЕДИ HCV ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

Группа	T/T	T/G	G/G	T	G
HCV инфицированные (n=69)	31,9	62,3	5,8	0,63	0,34
Доноры (n=48)	66,67	29,17	4,16	0,81	0,19
OR (95% CI)	-4,27	4,02	1,41	-2,54	2,54
				0,39 (0,21 – 0,73)	
p	0,0001	0,0002	0,3117	0,0011	
DK	-3,2	3,3	1,4	-1,1	2,9

Табл.3. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ C-590T IL-4 СРЕДИ HCV ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

Группа	C/C	C/T	T/T	C	T
HCV инфицированные (n=72)	13,9	72,2	13,9	0,5	0,5
Доноры (n=48)	29,2	58,3	12,5	0,58	0,42
OR (95% CI)	-2,55	1,86	1,13	-1,4	1,4
				0,71 (0,42 – 0,2)	
P	0,0237	0,0455	0,2119	0,0473	
DK	-3,2	0,9	0,5	-0,7	0,8

Табл.4. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ C-703T IL-5 СРЕДИ HCV ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

Группа	C/C	C/T	T/T	C	T
HCV инфицированные (n=73)	1,37	69,86	28,77	0,36	0,64
Доноры (n=48)	18,75	50,0	31,25	0,44	0,56
OR (95% CI)	-16,61	2,32	-1,13	-1,36	1,36
				0,73 (0,43 – 1,24)	
P	0,0009	0,0139	0,1535	0,0546	
DK	-11,4	1,5	-0,4	-0,8	-0,5

330G со сниженной способностью активированных клеток к продукции интерлейкина-2, можно предположить, что одним из механизмов предрасположенности носителей данного аллеля к развитию вирусного гепатита С, является их низкая способность развивать полноценные клеточные реакции противовирусного иммунитета, находящиеся под контролем именно этого цитокина.

Величина прогностического коэффициента для носителей аллеля IL-2\*-330G составляет не слишком значительную величину 3,3, что подтверждает известное положение о полигенном характере генетического контроля состояния предрасположенности и резистентности к развитию мультифакторных заболеваний и наводит на мысль о необходимости исследования значительно большего числа полиморфных точек генов регуляторов иммунного ответа.

Не меньший интерес представляют результаты исследования аллельного полиморфизма промоторных участков генов цитокинов, контролирующих гуморальный Th2 зависимый иммунитет, а именно интерлейкина-4, являющегося костимулятором

В-клеток, интерлейкина-5, являющегося ростовым фактором В-клеток и интерлейкина-10, подавляющего выраженность Th1 зависимых иммунных реакций (табл. 3, 4, 6).

Исследование характера распределения аллелей промотора гена IL-4 показал преимущественное распространение среди носителей генотипа C/T ( $p \leq 0,04$ ) при одновременном снижении частоты встречаемости генотипа C/C ( $p \leq 0,02$ ). Здесь также необходимо отметить совпадение результатов обследованной нами контрольной группы здоровых лиц с результатами, полученными при обследовании других европеоидных популяций [6, 7]. При анализе ассоциированности вирусного гепатита С с отдельными аллельными вариантами, обращает на себя внимание достоверное преобладание среди пациентов аллеля IL-4\*-590T ( $p \leq 0,04$ ).

Проведенные нами исследования ассоциированности генотипа клеток продуцентов интерлейкина-4 с уровнем его индуцированной митогеном продукции показал, что генотип C/T чаще выявляется среди индивидов с оптимальным или высоким уровнем продукции цитокина, что логично укладывается в

концепцию о конкурентных отношениях Th1/Th2 зависимых звеньев иммунитета.

Величина прогностического коэффициента для данного генотипа при установлении генетической предрасположенности к развитию вирусного гепатита С также невысока и составляет величину 0,9. Однако использование процедуры Вальда [1] позволяет нам суммировать полученные коэффициенты и рассчитать величину суммарного прогностического коэффициента  $\Sigma ПК = 3,3 + 0,9 = 4,2$ . Проведя аналогичную процедуру для расчета иммуногенетической предрасположенности к состоянию относительной резистентности можно получить величину  $\Sigma ПК = 3,2 + 3,2 = 6,4$ .

Продолжая анализ часто встречаемости аллельных вариантов генов цитокинов среди пациентов вирусным гепатитом С, мы исследовали эти значения для гена интерлейкина-5 в точке полиморфизма его промотора С-703Т IL-5 (табл. 4).

Полученные при этом анализе результаты не столь выразительны, как представленные выше. Можно предположить, что генетическая предрасположенность к развитию болезни ассоциируется с другим полиморфным участком промоторной зоны гена IL-5, а не с исследованной нами точкой С-703Т. Однако это можно отнести лишь к данным о незначительном, хотя и достоверном ( $p \leq 0,01$ ), повышении частоты встречаемости среди инфицированных пациентов генотипа С/Т, что характеризуется величиной прогностического коэффициента 1,5. Одновременно нами выявлено резкое снижение среди больных частота встречаемости генотипа С/С, что характеризуется значительной величиной прогностического коэффициента, равной 11,4.

Продолжая суммировать эти величины можно получить значения суммарного прогностического коэффициента для состояния предрасположенности  $\Sigma ПК = 3,3 + 0,9 + 1,5 = 5,7$ ; а для состояния резистентности  $\Sigma ПК = 3,2 + 3,2 + 11,4 = 17,8$ . Здесь необходимо отметить, что при проведении непрерывной последовательной процедуры анализа Вальда для получения 95% вероятности реализации прогноза необходимо получить величину  $\Sigma ПК = 12,8$ .

Среди пациентов с вирусным гепатитом С снижено распространение гомозиготного варианта G/G гена TNFA в точке полиморфизма G-308A, выявляемого более чем у 90% здоровых лиц. В противоположность этому возрастает среди таких пациентов частота распространения генотипа G/A, редко выявляемого среди здоровых лиц (табл. 5).

Эти результаты свидетельствуют о том, что обладатели генотипа GG обладают известной степенью резистентности к инфицированию. Очевидно фактор предрасположенности к развитию заболевания сцеплен с аллелем TNFA\*-308A, частота которого среди пациентов почти в два раза превышает частоту его распространения среди здоровых лиц.

Учитывая полученные нами ранее данные об ассоциированности генотипа G/A гена TNFA с повышенной как спонтанной, так и стимулированной митогенами продукцией TNFA, можно предположить, что одним из механизмов такой предрасположенности к развитию вирусной инфекции может служить более высокий уровень данного цитокина с выраженными провоспалительными свойствами у лиц, обладающих именно этими аллельными вариантами. Вызываемый этим интерлейкином, в комплексе с другими провоспалительными цитокинами IL-1, IL-6 и т.п., каскад системных реакций стимулирует гепатоциты к синтезу белков острой фазы, гипоталамический отдел мозга к повышению температурной реакции и т.д., что способствует генерализации инфекционного процесса. Не исключено и влияние эффекта неравновесного сцепления генов, учитывая близкое расположение генов комплекса HLA и TNF на одном участке хромосомы 6 человека.

В противофазе TNFA срабатывает IL-10, обладающий противовоспалительной активностью, подавляющий функции активированных макрофагов и стимулирующий реакции гуморального иммунитета. Среди пациентов с вирусным гепатитом С повышено распространение гомозиготных генотипов С/С и А/А, при одновременном снижении частоты генотипа С/А (табл.6). Среди больных выявлено снижение частоты встречаемости аллельного варианта IL-10\*-592A. По нашим данным, именно этот аллельный вариант ассоциирован с повышенной спонтанной продукцией IL-10 в клеточных культурах, что также может явиться одним из молекулярных механизмов реализации выявленной иммуногенетической резистентности человека с данным генотипом к развитию заболевания.

Продолжая суммировать эти величины можно получить значения суммарного прогностического коэффициента для состояния предрасположенности  $\Sigma ПК = 3,3 + 0,9 + 1,5 + 3,7 + 2,1 = 11,5$ , а для состояния резистентности  $\Sigma ПК = 3,2 + 3,2 + 11,4 + 0,7 + 0,8 = 19,3$ .

Другими словами, на основании анализа частоты встречаемости аллельных вариантов генов цитокинов в ряде полиморфных точек мы получаем возможность с вероятностью 95% прогнозировать состо-

Табл.5. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ G-308A TNFA СРЕДИ ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С

Группа	G/G	G/A	A/A	G	A
НСV инфицированные (n=61)	80,33	18,03	1,64	0,89	0,11
Доноры (n=52)	90,4	7,7	1,9	0,94	0,06
OR (95% CI)	-2,30	2,64	-1,18	-1,95	1,95
				0,51(0,19-1,40)	
p	0,0715	0,0625	0,0512	0,0825	
DK	-0,5	3,7	-0,7	-0,2	2,7

Табл. 6. ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ С-592А IL-10 СРЕДИ ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С

Группа	C/C	C/A	A/A	C	A
HCV инфицированные (n=73)	30,1	64,4	5,5	0,62	0,38
Доноры (n=48)	18,7	77,1	4,2	0,57	0,43
OR (95% CI)	1,87	-1,86	1,33	1,23	-1,23
				1,23 (0,73-2,08)	
p	0,0649	0,0545	0,3194	0,0784	
DK	2,1	-0,8	1,2	0,4	-0,4

яние предрасположенности к хронизации вирусного гепатита С при условии инфицирования данного индивида, и еще с большей вероятностью, превышающей 99%, мы можем прогнозировать состояние резистентности человека с данным генотипом к развитию болезни.

Необходимо, однако, отметить, что эти результаты носят предварительный, хотя и, безусловно, обнадеживающий характер. Их использование потребует дополнительной проверки на больших группах обследованных лиц в условиях слепого опыта. С другой стороны, эта прогностическая процедура может быть использована лишь для той части пациентов, в генотипе которых выявится наличие целого ряда информативных генотипов. Однако увеличение числа используемых для анализа точек аллельного полиморфизма промоторных участков генов цитокинов может позволить решить эту проблему путем расчета серии алгоритмов для различных комбинаций генотипов у большего числа пациентов. Последнее, вероятно, может быть достигнуто путем использования биочиповых технологий, позволяющих одновременно исследовать практически неограниченное количество полиморфных участков различных генов.

## Список литературы

1. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. – М.: Медицина. – 1978. – С. 150-172.
2. Коненков В.И. Медицинская и экологическая иммуногенетика. – Новосибирск. – 1999. – 250 С.
3. Alberti A., Chemello L., Benvenuto L. Natural history of hepatitis C // J. Hepatol. – 1999. – Vol. 31. – Suppl 1. – P. 17-24.
4. Bidwell J., Keen L., Gallagher G., Kimberly R., Huizinga T., McDermott M.F., Oksenberg J., McNicholl J., Pociot F., Hardt C., D'Alfonso S. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases // Genes Immun. – 1999. – Vol.1 (1). – P. 3-19.
5. Bidwell J., Keen L., Gallagher G., Kimberly R., Huizinga T., McDermott M.F., Oksenberg J., McNicholl J., Pociot F., Hardt C., D'Alfonso S. Human cytokine gene nucleotide sequence alignments: supplement 1 // Eur J Immunogenet. – 1999. – Vol. 26 (2-3). – P. 135-223.

6. Burchard E.G., Silverman E.K., Rosenwasser L.J., Borish L., Yandava C., Pillari A., Weiss S.T., Hasday J., Lilly C.M., Ford J.G., Drazen J.M. Association between a sequence variant in the IL-4 gene promoter and FEV1 in asthma // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1999. – Vol. 160. – P.919-922.

7. Cantagrel A., Navaux F., Loubet-Lescoulié P., Nourhashemi F., Enault G., Abbal M., Constantin A., Laroche M., Mazieres B. IL-1beta, IL-1 receptor antagonist, IL-4, and IL-10 gene polymorphisms // Arthr Rheum. – 1999. – Vol.42(6). – P. 1093-1100.

8. Green ED, Olson MV. Chromosomal region of the cystic fibrosis gene in yeast artificial chromosomes: a model for human genome mapping // Science. – 1990. – Vol. 5; 250(4977). – P. 94-98.

9. Rioux J.D., Stone V.A., Daly M.J., Cargill M., Green T., Nguyen H., Nutman T., Zimmerman P.A., Tucker M.A., Hudson T., Goldstein A.M., Lander E., Lin A.Y. Familial eosinophilia maps to the cytokine gene cluster on human chromosomal region 5q31-q33 // Am. J. Hum. Genet. – 1998. – Vol. 63. – P. 1086-1094

10. John S., Turner D., Donn R., Sinnott P., Worthington J., Ollier W.E., Hutchinson I.V., Hajeer A.H. Two novel biallelic polymorphisms in the IL-2 gene // Eur. J. Immunogenet. – 1998. – Vol. 25(6). – P. 419-20.

11. Marcellin P., Martinot M., Boyer N., Levy S. Treatment of hepatitis C patients with normal aminotransferases levels // Clin Liver Dis. – 1999. – Vol. 3(4). – P.843-853.

12. Mok C.C., Lanchbury J.S., Chan D.W., Lau C.S. IL-10 promoter polymorphism in Southern Chinese patients with SLE // Arthritis Rheumatism. – 1998. – V.41(6). – P.1090-1095.

13. Patino-Garcia A., Sotillo-Pineiro E., Modesto C., Sierrasesumaga L. Screening of the tumor necrosis factor- alpha gene promoter polymorphisms by PCR-DGGE analysis // Mutation Research Genomics. – 1999. – Vol. 406. – P. 121-125.

14. Reynard M.P., Turner D., Navarrete C.V. Allele frequencies of polymorphisms of the tumour necrosis factor-alpha, interleukin-10, interferon-gamma and interleukin-2 genes in a North European Caucasoid group from the UK // Eur. J. Immunogenet. – 2000. – Vol. 27(4). – P. 241-249.

поступила в редакцию 16.02.2006  
отправлена на доработку 21.03.2006  
принята к печати 05.04.2006