

А. Ю. Харлап

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ IL4 И ЕГО РЕЦЕПТОРА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Научный руководитель ассист. Е. А. Хотько

Кафедра биологической химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A. Y. Kharlap

IL4 GENE AND ITS RECEPTOR POLYMORPHISM IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Tutor assistant E. A. Khotko

Department of Biological Chemistry,

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В работе исследовалась ассоциация полиморфизмов rs1801275 гена цитокинового рецептора IL4R и rs2243250 гена IL-4 с риском развития хронической обструктивной болезни легких у жителей Республики Беларусь.

Ключевые слова: полиморфизм, ХОБЛ, IL-4, IL-4R.

Resume. The study investigated the associations of polymorphisms rs1801275 of the IL4R gene and rs2243250 of the IL-4 gene with the risk of developing chronic obstructive pulmonary disease in residents of the Republic of Belarus.

Keywords: polymorphism, COPD, IL-4, IL-4R.

Актуальность. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – мультифакторное заболевание, патогенез которого включает миграцию клеток воспаления в легкие с помощью цитокинов и их рецепторов. Было показано, что одним из цитокинов, способствующим развитию ХОБЛ является интерлейкин 4 (IL-4). Функциональная активность молекулы зависит как от самого IL-4, так и от рецептора (IL4R), с которым происходит комплементарное связывание. Модификация структуры одного из участников лиганд-рецепторного взаимодействия, а также количество синтезируемого белка могут быть связаны с наличием однонуклеотидных замен в генах, кодирующих эти белковые молекулы. Так, полиморфизм IL4R rs1801275 приводит к замене глутамина на аргинин в 551 положении цитоплазматического домена зрелого белка, что оказывает существенное влияние на специфическое связывание с IL-4. Ещё одним полиморфизмом, ассоциированным с ХОБЛ, является rs2243250 в структуре гена IL-4, который усиливает связывание ядерных факторов транскрипции с промоторной областью гена и приводит к наработке цитокина [1-3].

Цель: выявить ассоциацию полиморфизмов rs1801275 гена цитокинового рецептора IL4R и rs2243250 гена IL-4 с риском развития хронической обструктивной болезни легких у жителей Республики Беларусь.

Задачи:

1. Сравнить распределение частот генотипов с равновесием Харди-Вайнберга.
2. Проанализировать выборки на предмет статистически значимых отличий в распределении частот генотипов.

3. Провести сравнение рисковости значимости с использованием доминантной модели наследования.

Материал и методы. Клиническое обследование и диагностика проводились на базе учреждения здравоохранения «Минский консультационно-диагностический центр». Материалом для исследования служила сыворотка крови 95 человек с ХОБЛ и 95 клинически здоровых лиц. Выделение ДНК из лимфоцитов осуществлялось с использованием набора NucleoSpin Blood для очистки ДНК из образцов крови согласно методике производителя (MACHERY-NAGEL, Германия). Полученные пробы ДНК хранились при температуре -20°C . Определение полиморфизма генов проводили методом полимеразной цепной реакции «в реальном времени» с помощью детектирующего амплификатора ДТ-322 («ДНК-Технология», РФ) с использованием TaqMan-зондов. Регистрация «дикой» или «мутантной» аллели проводилась в программе q-PCR на основании появления флюоресценции не позже 32 цикла амплификации.

Анализ отклонения наблюдаемых частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга проводили в программе Ген-эксперт. Выборки сравнивали путем составления таблиц сопряженности и вычисления критерия хи-квадрат в программе SPSS Statistics 23. Риск развития ХОБЛ в зависимости от носительства генотипа определяли с помощью показателя ОШ, при условии, что значения ДИ95% не пересекали 1. Результаты считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При анализе распределения частот генотипов полиморфизма rs1801275 IL4R отклонений от равновесия Харди-Вайнберга как в группе пациентов (таблица 1), так и в группе здоровых лиц (таблица 2) выявлено не было, что указывает на репрезентативность исследуемых выборок. Анализ для полиморфизма rs2243250 гена IL4 дал схожие результаты для пациентов с ХОБЛ (таблица 3) и здоровых лиц (таблица 4).

Табл. 1. Результаты теста Харди-Вайнберга для пациентов с ХОБЛ (rs1801275)

Генотип	Пациенты с ХОБЛ	HWE	Хи-квадрат	p
A/A	31,6%	24,2%	1,523	0,467 ($>0,05$)
A/G	62,1%	70,5%		
G/G	6,3%	5,3%		

Табл. 2 Результаты теста Харди-Вайнберга для здоровых лиц (rs1801275)

Генотип	Пациенты с ХОБЛ	HWE	Хи-квадрат	p
A/A	16,9%	24,2%	1,816	0,403 ($>0,05$)
A/G	78,9%	70,5%		
G/G	4,2%	5,3%		

Табл. 3. Результаты теста Харди-Вайнберга для пациентов с ХОБЛ (rs2243250)

Генотип	Пациенты с ХОБЛ	HWE	Хи-квадрат	p
C/C	64,2%	62,1%	0,785	0,676 ($>0,05$)
C/T	28,4%	32,6%		
T/T	7,4%	5,3%		

Табл. 4. Результаты теста Харди-Вайнберга для здоровых лиц (rs2243250)

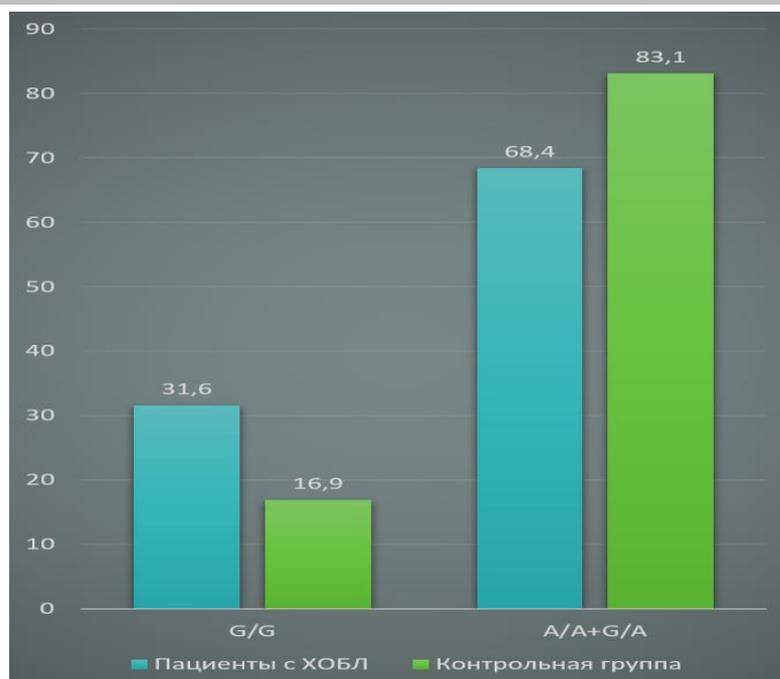
Генотип	Пациенты с ХОБЛ	HWE	Хи-квадрат	p
C/C	58,9%	62,1%	0,808	0,668 (>0,05)
C/T	37,9%	32,6%		
T/T	3,2%	5,3%		

Далее было проведено сравнение рисковой значимости генетических факторов с использованием доминантной модели наследования в отношении полиморфизма. Биологический смысл такой модели заключается в том, что при доминантном наследовании значение признака (вероятности развития ХОБЛ) одинаково для всех генотипов (гомо- и гетерозигот), где присутствует доминантная аллель. После анализа частотного распределения был также рассчитан показатель отношения шансов и соответствующий 95%-ный доверительный интервал с целью количественной оценки взаимосвязи полиморфизма с развитием заболевания.

Сравнение частот генотипов полиморфизма rs1801275 в обследуемой выборке с частотами в группе здоровых лиц выявило существенные различия между исследуемыми группами (таблица 5). Так, среди здоровых лиц процент носителей аллели G составлял 83,1%, в то время как среди лиц, страдающих ХОБЛ, этот показатель был равен 68,4% (диаграмма 1). После анализа частотного распределения был также рассчитан показатель отношения шансов для полиморфизма rs1801275 (таблица 5). В результате полученных нами данных, ОШ составило 0,439 (95%ДИ=0,220-0,875, $\chi^2=5,622$, $p=0,018$). Это свидетельствует о пониженном риске развития ХОБЛ у гетеро- и гомозиготных носителей с аллелью G в 2,28 раза.

Табл. 5. Анализ рисковой значимости полиморфного локуса rs1801275 гена IL4R в группе пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц

Носительство генотипов	Пациенты с ХОБЛ, %	Здоровые лица, n %	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
A/A + G/A	68,4	83,1	5,622	0,018	0,439	0,220-0,875
G/G	31,6	16,9				

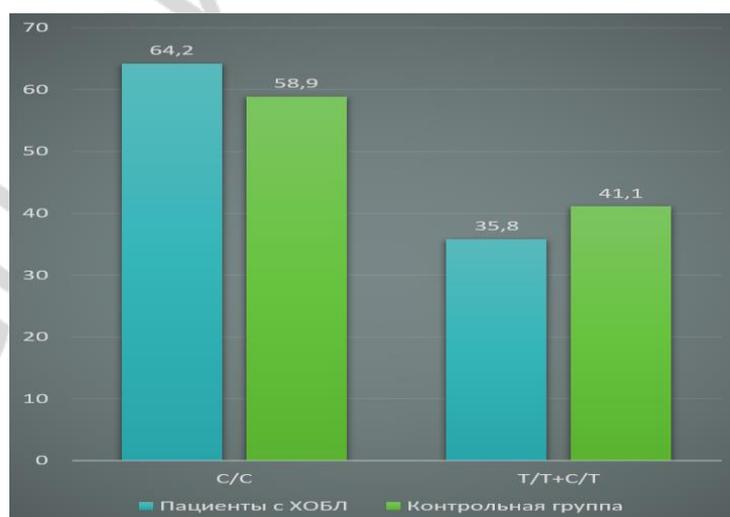


Диагр. 1. – Распределение частот генотипов для rs1801275

Однако сравнение частот генотипов для полиморфизма rs2243250 (диаграмма 2) значимых отличий не выявило (таблица 6), что указывает на отсутствие ассоциации с риском развития ХОБЛ у белорусов.

Табл. 6. Анализ рисковости значимости полиморфного локуса rs2243250 гена IL4 в группе пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц

Носительство генотипов	Пациенты с ХОБЛ, %	Здоровые лица, n %	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
T/T + C/T	35,8	41,1	0,556	0,456	-	-
C/C	64,2	58,9				



Диагр. 2. – Распределение частот генотипов для rs2243250

Выводы:

1 Носительство минорной аллели G полиморфного варианта rs1801275 гена цитокинового рецептора IL4R ассоциировано со снижением вероятности развития ХОБЛ в 2,28 раза ($p=0,018$; ОШ=0,439; 95%ДИ<1) у жителей Республики Беларусь.

2 Полиморфный вариант rs2243250 гена цитокина IL-4 не ассоциирован с вероятностью развития ХОБЛ у жителей Республики Беларусь.

Литература

1. Ganguly K., Upadhyay S., Schulz H. Impaired resolution of inflammatory response in the lungs of JF1/Msf mice following carbon nanoparticle instillation / K. Ganguly, S. Upadhyay, H. Schulz // National Center for Biotechnology Information – 1988. – № 2. – С. 27-30.

2. Scantamburlo G., Vanoni S., Dossena S. Interleukin-4 induces CpG site-specific demethylation of the pndrin promoter in primary human bronchial epithelial cells / G. Scantamburlo, S. Vanoni, S. Dossena // National Center for Biotechnology Information – 1988. – № 2. – С. 245-250.

3. Kubo F., Ariestanti, D. M., Nobuhiro N. Loss of the adhesion G-protein coupled receptor ADGRF5 in mice induces airway inflammation and the expression of CCL2 in lung endothelial cells / F. Kubo, D. M. Ariestanti, N. Nobuhiro // National Center for Biotechnology Information – 1988. – № 2. – С. 146-151.

РЕПОЗИТОРИЙ