



УДК: 575.17: 616.097-002: 616.831-005

А. С. Князева, Н. Н. Страмбовская

ЧАСТОТА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ НЕКОТОРЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И FCGR2A (HIS-166ARG) У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ

*Читинская государственная медицинская академия,
672090, ул. Горького, 39а, тел. 8-(3022)-35-43-24, г. Чита*

Резюме

Представлены результаты исследования встречаемости полиморфизма генотипов противовоспалительных цитокинов IL-4 (C-589T), IL-10 (C-592A), IL-10 (G-1082A), IL-10 (C-819T), полиморфизма гена рецептора к иммуноглобулину G-FCGR2A (His-166Arg) у 195 больных хронической ишемией головного мозга и 149 здоровых резидентов Забайкальского края. Установлено повышение частоты носительства генотипов IL-4-589TT, FCGR2A-166HisHis, аллелей IL-4-589T, FCGR2A-166His ($p < 0,05$) в клинической группе наблюдения.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, интерлейкины, хроническая ишемия головного мозга.

A. S. Knyazeva, N. N. Strambovskaia

FREQUENCY OF GENES POLYMORPHISM SOME ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES AND FCGR2A (HIS-166ARG) AT PATIENTS WITH CHRONIC ISCHEMIA OF A BRAIN IN ZABAYKALSKY REGION

Chita State Medical Academy, Chita

Summary

Results of research of occurrence of polymorphism of genotypes anti-inflammatory cytokines are presented to IL-4 (C-589T), IL-10 (C-592A), IL-10 (G-1082A), IL-10 (C-819T), polymorphism of a gene of a receptor to immunoglobulin G – FCGR2A (His-166Arg) at 195 patients with chronic ischemia of a brain and 149 healthy residents of Zabaykalsky Region. It is established, increase of frequency of a carriage of genotypes of IL-4-589TT, FCGR2A-166HisHis, alleles of IL-4-589T, FCGR2A-166His ($p < 0,05$) in clinical group.

Key words: genetic polymorphism, interleukines, chronic ischemia of a brain.

Основными этиологическими факторами церебральной микроангиопатии, приводящей к хронической ишемии мозга являются артериальная гипертензия (АГ), атеросклероз, в развитии которых принимает участие локальное воспаление [4]. Кроме этого, патологические процессы, развивающиеся в мозговой ткани при длительно существующей неконтролируемой артериальной гипертензии, атеросклерозе имеют иммунологические механизмы, влияющие на проницаемость сосудистой стенки, инициацию локального воспаления и аутоиммунной агрессии в нервной ткани. Основными участниками иммунных реакций являются молекулы межклеточного взаимодействия – цитокины, которые условно по функциям могут быть разделены на провоспалительные и противовоспалительные.

Учитывая, новые направления в изучении генов-предикторов цереброваскулярной патологии, оказалось, что ряд исследователей обнаружили гены кандидаты артериальной гипертензии, дислипидемии, тромбофилии [1, 5, 7]. Однако исследования практически не коснулись генетического полиморфизма цитокинов при этой патологии [2], который, предположительно, влияет на течение патологического процесса в нервной ткани.

Цель работы – описать частоту генетического полиморфизма цитокинов IL-4 (C-589T), IL-10 (C-592A), IL-10 (G-1082A), IL-10 (C-819T), полиморфизма гена рецептора к иммуноглобулину G-FCGR2A (His-166Arg) у больных хронической ишемией головного мозга (ХИГМ), осложненной когнитивной дисфункци-

ей и у здоровых резидентов, не имеющих объективных признаков цереброваскулярной патологии.

Материалы и методы

Методом сплошной выборки в исследование были включены 195 больных хронической цереброваскулярной патологией с синдромом когнитивной дисфункции (62,5±4,95 лет), находившихся на стационарном лечении в ЛПУ г. Чита. В качестве критериев включения в группу использовались оценочные баллы со средними значениями: MMSE – 19,95±1,31; Хачински – 6,47±0,97; Гамильтон – 7,3±1,97. Контрольную группу составили 149 здоровых резидентов Забайкальского края соответствующего возраста (51±4,24 лет, $p>0,05$), не имеющих объективных признаков цереброваскулярной патологии.

Методом исследования послужила полимеразная цепная реакция (ПЦР) на ДНК лейкоцитов крови для выявления полиморфизма IL-4 (C-589T), IL-10 (C-592A), IL-10 (G-1082A), IL-10 (C-819T), FCGR2A (His-166Arg) (НПФ «Литех», Москва), с детекцией продукта амплификации в агарозном геле.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакетов программ Microsoft Excel 2010, STATISTICA 6.1 (Stat Soft Inc., США). Для сравнения групп по качественному бинарному признаку применялся критерий χ^2 (Пирсона). Степень риска развития событий оценивали по величине отношения шансов (odds ratio (OR)) с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI). Значения уровня $p<0,05$ рассматривались как статистически значимые.

Результаты и обсуждение

В результате молекулярно-генетического исследования обнаружены все искомые мутации в гомо- и гетерозиготном состоянии. Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга выявлено для IL-10 (G-1082A), FCGR2A (His-166Arg) у больных, полиморфизма IL-10 (G-1082A), IL-10 (C-819T) в группе здоровых резидентов, преимущественно за счет разницы наблюдаемой и ожидаемой либо гетеро-, либо гомозиготности по мутантному аллелю (таблица).

При сравнении частот в клинической и контрольной группах в носительстве изучаемых полиморфизмов наблюдались отчетливые различия по генотипу IL-4-589TT с преобладанием последнего у больных ХИМ ($p=0,03$) и, соответственно, по аллелю IL-4-589T у этих же исследуемых ($p=0,005$). Причем, относительная вероятность выявления генотипа IL-4-589TT у больных хронической ишемией головного мозга в сравнении с контрольной группой возростала в 1,59 раза [CI 95%: 0,86-2,94], а риск развития хронической ишемии головного мозга с синдромом когнитивной дисфункции у носителей IL-4-589TT был больше в 1,41 раза [CI 95%: 0,97-2,07]. Относительная вероятность же выявления аллеля IL-4-589T у больных в сравнении со здоровыми была выше 1,58 раза [CI 95%: 1,15-2,19], а риск развития хронической ишемии головного мозга с синдромом когнитивной дисфункции у носителей IL-4-589T составил 1,58 раза [CI 95%: 1,14-2,18].

При сравнении частот в клинической и контрольной группах в носительстве изучаемых полиморфиз-

мов наблюдались отчетливые различия по генотипу FCGR2A-166HisHis с преобладанием последнего у больных ХИМ ($p=0,001$) и, соответственно, по аллелю FCGR2A-166His у этих же исследуемых ($p=0,001$).

Таблица

Тест Харди-Вайнберга для изучаемых генетических полиморфизмов (χ^2 , $df=1$)

Полиморфизм	Генотип	Наблюдаемые частоты	HWE	χ^2	P
контрольная группа, n=149					
IL-10 (G-1082A)	G/G	0,631	0,565	8,48	0,004
	G/A	0,242	0,373		
	A/A	0,128	0,062		
IL-10 (C-819T)	C/C	0,678	0,633	5,16	0,02
	C/T	0,235	0,326		
	T/T	0,087	0,042		
клиническая группа, n=195					
IL-10 (G-1082A)	G/G	0,538	0,484	6,22	0,01
	G/A	0,315	0,424		
	A/A	0,147	0,093		
FCGR2A (His-166Arg)	His/His	0,677	0,620	9,13	0,003
	His/Arg	0,221	0,335		
	Arg/Arg	0,103	0,045		

Примечание. В таблице указаны полиморфизмы с частотным отклонением от равновесия Харди-Вайнберга. Жирным шрифтом выделены частоты генотипов с максимальным отклонением.

Исследования последних лет, делают акцент на то, что противовоспалительный интерлейкин 4 (IL-4) – не только замедляет свёртывание крови и стимулирует фибринолиз, но и способствует выживаемости нейронов и уменьшению процессов постишемического повреждения. Более того, IL-4, совместно с трансформирующим ростковым фактором бета (TGF β), супрессирует функцию Th-1 и тем самым прекращает действие цитокинов на цитотоксические лимфоциты и NK-клетки, а также способствует уменьшению выработки провоспалительных цитокинов, что в конечном итоге приводит к ликвидации тяжелых патологических состояний, например ДВС-синдрома [10, 11, 12].

Полученные ранее в литературе данные, указывали на увеличение уровня продукции цитокина IL-4 у носителей аллеля 590T [9, 15]. Однако, некоторые научные работы указывали на то, что здоровые носители C/C и C/T генотипов промоторного локуса C590T гена IL-4 имели сходный уровень спонтанного выделения IL-4 или приводили к 2,5 кратному возрастанию секреции IL-4 только клетками с генотипом C/C, тогда как у лиц с генотипом C/T индукция прироста продукции белкового продукта не происходила [6].

В данном случае остается непонятным влияние полиморфного варианта гена цитокина IL-4. Можно предположить, что интерлейкин 4 физиологически не активен и не выполняет свою функцию, что способствует цитокиновому дисбалансу в сторону провоспалительных маркеров.

FCGR2A (CD32) входит в группу рецепторов для Fc – конца иммуноглобулинов класса G. Данный рецептор локализован на моноцитах, гранулоцитах, эозинофилах, макрофагах и В-лимфоцитах. CD32 обладает невысокой аффинностью и способен связывать только агрегированные IgG. Как правило, взаимодействие иммуноглобулинов с соответствующими рецепторами приводит к перераспределению последних на поверхности клетки и поглощению комплекса клеткой. Затем

развивается ответная реакция в виде активации макрофага, сопровождаемая синтезом цитокинов и других биологически активных молекул. Ген FCGR2A существует в двух аллельных изоформах по аминокислотной замене в 131 положении, сильно отличающихся друг от друга функционально. Аллельный вариант His 131, характеризующийся наличием гистидина в 131 положении, определяет высокую чувствительность рецептора к IgG2, в то время как вариант Arg 131, характеризующийся наличием аргинина в 131 положении, обеспечивает очень низкую чувствительность взаимодействия IgG2 с рецептором. Было установлено, что гомозиготы HisHis более эффективно фагоцитируют IgG-иммунные комплексы, абсорбированные на эритроцитах IgG и IgG2-опсонизированные бактерии, чем гомозиготы ArgArg. Носители гетерозиготного генотипа обладают промежуточной фагоцитарной активностью [8, 13, 9]. Также известно, что IgG кровяных пластинок не только принимает участие в защитных реакциях, но и способствует усилению вторичной агрегации тромбоцитов.

Учитывая, повышенную частоту носительства генотипа FCGR2A-166HisHis, аллеля FCGR2A-166His, можно предположить участие данной мутации в активации гемокоагуляции в сторону ее повышения, тем самым способствуя прогрессированию ишемического повреждения нервной ткани.

Носительство других полиморфных вариантов гена IL-10 не различалось в обеих группах наблюдения, однако

их влияние на развитие и течение патологического процесса весьма вероятно. Так, по данным литературы, полиморфизм гена IL-10 в позиции –1082A, –819T, –592A, ассоциирован с низкой продукцией этих интерлейкинов, что может приводить к относительному повышению продукции таких провоспалительных цитокинов, как IL-1, IL-6, IL-17, TNF- α [3].

Выводы

У больных хронической ишемией мозга с синдромом когнитивной дисфункции выявлены все варианты изучаемых полиморфизмов генов цитокинов, большинство которых в носительстве подчинено равновесию Харди-Вайнберга. Обнаруженные нами преобладание частот генотипов IL-4-589TT, FCGR2A-166HisHis, аллелей IL-4-589T, FCGR2A-166His у больных хронической ишемией мозга указывают на возможное их участие в этиопатогенезе заболевания, в виде потенцирования хронического воспаления в сосудистом русле, которое ведет к вторичным изменениям в нервной ткани и предопределяет течение заболевания. Так риск развития хронической ишемии головного мозга у носителей аллеля IL-4-589T составил 1,6 раза [CI 95%: 1,14–2,18], а у носителей аллеля FCGR2A-166His составил 2,6 раза [CI 95%: 1,86–3,63]. Связь этих факторов с выраженностью клинических проявлений хронической ишемии головного мозга позволяет использовать их как прогностические критерии и применить для разработки новых подходов к лечению.

Литература

1. Воевода М.И., Шахтштейн Е.В., Максимов В.Н. и др. Полиморфизм гена апополипротеина Е и атеросклероз // Атеросклероз. – 2008. – Т. 4, № 1. – С. 11–26.
2. Гомазков О.А. Нейротрофические факторы мозга. Справочно-информационное издание. Cd-версия. – М. – 2004.
3. Коненков В.И., Смольникова М.В. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов // Медицинская иммунология. – 2008. – № 1. – С. 6.
4. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М: Медицина, 2001. – 328с.
5. Савинкова Е.А., Заварин В.В., Мазур Е.С. Генетический полиморфизм в патогенезе артериальной гипертензии и гипертрофии левого желудочка // Верхневолжский медицинский журнал. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 16–21.
6. Смольникова М.В., Кожевников В.С., Коненков В.И. Анализ ассоциированности аллелей промоторных регионов генов TNF α , IL2, IL4 И IL10 с параметрами состояния иммунной системы в ВИЧ-инфицированных пациентов // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, № 5–6. – С. 659–666.
7. Страмбовская Н.Н., Витковский Ю.А. Влияние носительства первичных тромбофилий на течение ишемического инсульта // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2008. – № 3. – С. 141–142.
8. Berdeli A., Celik H.A., Ozyürek R. et al. Involvement of immunoglobulin Fc γ RIIA and Fc γ RIIIB gene polymorphisms in susceptibility to rheumatic fever // Clin Biochem. – 2004. – Vol. 37, № 10. – P. 925–129.
9. Gulen F., Tanac R., Altinoz S. et al. The Fc γ RIIA polymorphism in Turkish children with asthma bronchial and allergic rhinitis // Clin Biochem. – 2007. – Vol. 40, № 5–6. – P. 392–396.
10. Hack C.E. Derangements of coagulation and fibrinolysis in infectious diseases // Contributions to microbiology. – 2003. – Vol. 10. – P. 19–37.
11. Naif H., HoShon M., Chang J. et al. Molecular mechanisms of IL4 effect on HIV expression in promonocytic cell lines and primary human monocytes // J. Leukoc. Biol. – 1994. – Vol. 56, № 3. – P. 335–339.
12. Nawroth D.P., Stern D.M. A pathway of coagulation on endothelial cells // J. Cell. Biochem. – 1985. – № 4. – P. 253–264.
13. Yee A.M., Phan H.M., Zuniga R. et al. Association between Fc γ RIIA-R131 allotype and bacteremic pneumococcal pneumonia // Clin Infect Dis. – 2000. – Vol. 30, № 1. – P. 25–28.

Координаты для связи с авторами: Князева Анна Сергеевна – аспирант кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ЧГМА, врач-невролог КГБУЗ Клинико-Диагностический Центр, тел.: 8-(3022)-75-86-68, +7-924-217-43-41, e-mail: knyazanna@list.ru; Страмбовская Наталья Николаевна – канд. мед. наук, доцент научно-исследовательский институт молекулярной медицины ЧГМА, заведующая лабораторией молекулярной генетики, доцент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ЧГМА, тел. 8-(3022)-35-34-78, факс 8-(3022)-32-30-58, e-mail: strambovska@yandex.ru.