

ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНА TNF α (-308G>A И -238G>A) У БЕЛОРУССКИХ ПАЦИЕНТОВ С ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

¹ Н.В.Савина, ¹ Н.В.Никитченко, ² Т.А.Глушкова, ² Е.В.Сечко,
² А.М.Чичко, ² А.В.Сукало, ¹ Р.И.Гончарова

¹ Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»,
г.Минск, Республика Беларусь

² УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г.Минск, Республика Беларусь

Частоты генотипов и аллелей полиморфных локусов -308G>A и -238G>A гена TNF α у белорусских детей близки распределению частот в европейских популяциях. Для группы детей, страдающих ювенильным идиопатическим артритом (80 пациентов), не показано ассоциаций между частотой встречаемости рискованных аллелей -308A и -238A и этим заболеванием.

Ключевые слова: ювенильный идиопатический артрит (ЮИА), ген фактора некроза опухолей TNF α , полиморфный локус -238G>A, полиморфный локус -308G>A.

Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) – является многофакторным заболеванием, возникающим под воздействием генетических и средовых факторов, этиология и патогенез которого во многом не выяснены [1]. В литературе приводится большое количество сведений об ассоциации различных генов с ЮИА, при этом вклад генов HLA-комплекса (Human Leucocyte Antigen) в генетическую природу этого заболевания многими авторами оценивается на уровне 13–17% [2], и, следовательно, основная часть генетических факторов риска ЮИА определяется вариациями других генов.

Увеличенная продукция провоспалительного цитокина фактора некроза опухолей α (ФНО- α) в крови и синовиальной жидкости пациентов с ЮИА, корреляция тяжести заболевания с его уровнем, а также положительные результаты лечения детей с ЮИА антицитокиновой терапией убедительно свидетельствуют о сильной вовлеченности гена TNF α в патогенез ЮИА. С другой стороны, известно, что различные типы изменчивости гена TNF α могут изменять структуру или экспрессию цитокина ФНО- α и оказывать влияние на риск возникновения и клиническое течение заболевания, а также на эффективность медикаментозного лечения [3].

Рядом авторов доказана рискованная значимость и связь полиморфных аллелей -308A и -238A с возникновением и развитием заболевания, в том числе и с некоторыми его подтипами [3–6], в других работах таких эффектов не выявлено [3, 7].

Нами проводится исследование молекулярно-генетической компоненты ЮИА на выборке белорусских пациентов.

Цель данной работы – изучение частоты распространения полиморфизмов -308G>A и -238G>A гена TNF α в детской популяции Беларуси, а также выяснение ассоциаций между изученными полиморфизмами и заболеванием.

Материалы и методы исследования. На базе кардиологического отделения УЗ «2-я ГДКБ» г.Минска сформированы три группы детей в возрасте от 1 до 16 лет: 1) группа детей с диагнозом ЮИА согласно критериям Международной лиги ревматологических ассоциаций, ILAR (80 пациентов), 2) группа детей с суставным синдромом (СС) – с поражением суставов, не ассоциированным с аутоиммунной патологией (80 пациентов), 3) контрольная группа, которую составили дети без суставного синдрома, аутоиммунных и воспалительных заболеваний (159 человек). Получено одобрение этического комитета по проведению данного исследования, от всех пациентов также получено информированное согласие.

ДНК из периферической крови детей выделена методом фенол-хлороформной экстракции. В качестве стандартного метода выявления аллельных полиморфизмов гена TNF α -308G>A и -238G>A применяли ПЦР-ПДРФ. Для статистической обработки данных использован пакет стандартных программ Excel 2000. Данные по распределению частот генотипов проверены на соответствие закону Харди-Вайнберга. Для выявления различий в частотах генотипов/аллелей пациентов

с ЮИА по сравнению с другими группами использовали точный критерий Фишера.

Результаты и обсуждение. Среди обследованных пациентов с диагнозом ЮИА преобладали девочки (68,7%), средний возраст пациентов составил $8,69 \pm 5,06$ лет. Средний возраст, половое соотношение в группе детей с СС соответствовали группе детей с ЮИА. В контрольной группе средний возраст был выше – $14,08 \pm 2,65$ лет.

Результаты генотипирования ДНК всех пациентов по полиморфизмам -308G>A и -238G>A гена *TNF α* представлены в табл. Отклонения частот генотипов изученных полиморфизмов от равновесия Харди-Вайнберга не выявлено.

Во всех группах частота встречаемости «дикого» гомозиготного генотипа -308 GG находилась в диапазоне 78,6–83,75%; частота встречаемости -308 GA составила 16,25% в группе ЮИА, 18,75% у детей с суставным синдромом и 21,4% в группе контроля. Гомозиготный мутантный генотип -308 AA на данном этапе исследований выявлен только в одном случае в группе детей с суставным синдромом. При сравнении частот генотипов -308G>A и частот встречаемости полиморфных аллелей -308G и -308A между исследованными группами статистических различий не выявлено. Заслуживает внимания низкая частота аллеля -308A в общей когорте белорусских детей (8,2–10,7%) и, соответственно, низкая частота его гетерозиготного носительства.

Полученные результаты согласуются с данными о распределении частот этих полиморфизмов в европейских популяциях: по данным National Center for Biotechnology Information (NCBI) час-

тота мутантного аллеля -308A находится в диапазоне 11–21% и, соответственно, аллеля -308G в пределах 79–89%, на долю гетерозигот -308 GA приходится 11–24% [8].

Характер распределения частот генотипов и аллелей полиморфного локуса -238G>A близок распределению -308G>A: преобладание «дикого» гомозиготного генотипа -238 GG (87,5–97,5%) в трех изученных выборках пациентов и низкая частота предполагаемого рискованного аллеля -238A (1,25–6,9%). Гомозиготный мутантный генотип -238 AA на данном этапе исследований также выявлен только в одном случае в группе детей с суставным синдромом.

Как следует из представленных в таблице данных, распределение генотипов (-238 GG и -238 GA) в группе пациентов с ЮИА статистически значимо отличается от такового в группе СС ($p < 0,05$). Для частот встречаемости полиморфных аллелей -238G и -238A в этих группах также доказаны статистически достоверные отличия ($p < 0,05$). При сравнении частот распределения генотипов/аллелей локуса -238G>A гена *TNF α* в группах ЮИА и контрольной группе статистических различий не выявлено (точный критерий Фишера равен соответственно 0,097 и 0,103 при $p > 0,05$).

В литературе имеются противоречивые сведения о роли однонуклеотидных полиморфизмов -308G>A и -238G>A в риске возникновения и клиническом течении заболевания ЮИА. Так, метаанализ Y.H.Lee и соавт. не показал ассоциаций этих двух полиморфизмов с риском возникновения ЮИА для объединенной когорты, но продемонстрировал связь частоты встречаемости -308A ал-

Таблица

Распределение генотипов и аллелей гена *TNF α* -308 G>A и -238G>A в группах обследования

Генотип/ аллель	ЮИА (n =80)		Суставной синдром (n=80)		Контроль (n=159)	
	n	частота, %	n	частота, %	n	частота, %
rs1800629 (-308G>A)						
-308 GG	67	83,75	64	80	125	78,6
-308 GA	13	16,25	15	18,75	34	21,4
-308 AA	0	0	1	1,25	0	0
-308 G	147	91,8	143	89,4	284	89,3
-308 A	13	8,2	17	10,6	34	10,7
rs361525 (-238G>A)						
-238 GG	78	97,5	70	87,5	145	91,2
-238 GA	2	2,5*	9	11,25*	14	8,8
-238 AA	0	0	1	1,25	0	0
-238 G	158	98,75	149	93,1	304	95,6
-238 A	2	1,25*	11	6,9*	14	4,4

Примечание: * – статистически значимые различия между частотами распределения генотипов и аллелей при сравнении в группах ЮИА и СС (точный критерий Фишера при сравнении генотипов равен 0.032 при $p < 0,05$; точный критерий Фишера при сравнении аллелей равен 0.019 при $p < 0,05$).

леля с риском возникновения ЮИА в мексиканской популяции [7]. В работе М.Ж.Каала и соавт. не была подтверждена ассоциация между полиморфизмом -308G>A и ЮИА в целом, но показана слабая связь рискового аллеля А с системным вариантом ЮИА и артритом, сочетающимся с энтезитом [4]. В этой же работе, объединяющей исследования восьми европейских и одного американского автора, для полиморфного аллеля -238A показана ассоциация с ЮИА в целом, причем наиболее сильная связь была продемонстрирована с олигоарткулярным ЮИА.

Таким образом, общая картина относительно роли аллельной изменчивости гена TNF α для ЮИА указывает на имеющееся несоответствие между установленным вкладом провоспалительных цитокинов, в том числе цитокина TNF α , в патогенез заболевания и неоднозначными результатами оценки полиморфизма гена в качестве генетических маркеров.

Для объяснения этого несоответствия можно привлечь известную генетическую закономерность о дифференциальной экспрессии генов в различных генофондах. В этом случае логичным объяснением такого несоответствия может быть гипотеза Р.И.Гончаровой о том, что экспрессия гена TNF α и функциональная значимость образующегося протеина в значительной степени зависят не только от состояния рецепторов гена, но прежде всего от его взаимодействия с аллелями HLA-комплекса и другими генами цитокиновой сети. Так, известно, что аллель -308A гена TNF α строго ассоциирован с гаплотипом HLA-A1-B8 и DR3, который, в свою очередь, сам связан с высокой продукцией цитокина фактора некроза опухолей и развитием аутоиммунного заболевания [3]. Известно также, что наличие у пациентов большего количества аллелей риска HLA-комплекса обуславливает более ранний дебют ЮИА по сравнению с пациентами с уменьшенным количеством рискованных аллелей [3]. Результатом такого взаимодействия гена TNF α с рискованными аллелями HLA-комплекса и генов цитокиновой сети будет очень большая гетерогенность генофондов пациентов с ЮИА и, соответственно, функциональной активности цитокина в одних и тех же этнических группах, которая и находит свое отражение в разнонаправленных результатах, полученных разными авторами.

Клинические аспекты проведенного исследования очевидны уже сейчас, поскольку для носителей аллеля -308A (дети с генотипами -308 GA/AA) установлены ассоциации с более высокой активностью заболевания и неблагоприятным прогнозом, а также с плохим ответом на терапию

ингибиторами фактора некроза опухолей и лекарств других классов, используемых для лечения ЮИА [3].

Заключение. Характер распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов гена TNF β (-308G>A и -238G>A) у белорусских пациентов, страдающих ЮИА и суставным синдромом, а также в контрольной группе детей аналогичен: 1) преобладание «диких» гомозиготных генотипов (-308 GG/-238 GG); 2) низкие частоты предполагаемых рискованных аллелей (8,2–10,7% для аллеля -308A и 1,25–6,9% для аллеля -238A). Гетерозиготное носительство рискового аллеля -308A зарегистрировано у 16,25% пациентов, страдающих ЮИА, а аллеля -238A – у 2,5% пациентов. Полученные результаты находятся в хорошем согласии с известными данными о распределении частот этих полиморфизмов в европейских популяциях. Частоты генотипов и аллелей локуса -308G>A в общей группе пациентов, страдающих ЮИА (80 детей), статистически значимо не отличались от частот генотипов и аллелей, зарегистрированных в группе детей с суставным синдромом и в группе госпитального контроля. Частоты встречаемости гетерозиготного генотипа 238 GA и рискового аллеля -238A статистически значимо отличались в группах пациентов с ЮИА и суставным синдромом, при сравнении группы пациентов с ЮИА и контрольной группой таких различий выявлено не было.

ЛИТЕРАТУРА

1. Moncrieffe, H. Genetics of JIA: New tools bring new approaches / H.Moncrieffe, S.Prahalad, S.D.Thompson // Curr. Opin. Rheumatol. – 2014. – Vol.26. – P.579–584. doi:10.1097/BOR.0000000000000094.
2. Dense genotyping of immune-related disease regions identifies 14 new susceptibility loci for juvenile idiopathic arthritis / A.Hinks [et al.] // Nature Genetics. – 2013. – Vol.45. – P.664–669. doi:10.1038/ng.2614.
3. TNF- α Polymorphisms in Juvenile Idiopathic Arthritis: Which Potential Clinical Implications? / A.Scardapane [et al.] // Int. J. Rheumatol. – 2012. – doi: 10.1155/2012/756291.
4. Meta-analysis confirms association between TNF- α -G238A variant and JIA, and between PTPN22-C1858T variant and oligoarticular, RF-polyarticular and RF-positive polyarticular JIA / M.J.Kaalla [et al.] // Pediatr. Rheumatol. Online J. – 2013. – Vol.11:40. doi: 10.1186/1546-0096-11-40.
5. Tumour necrosis factor alpha G—>A -238 and G—>A -308 polymorphisms in juvenile idiopathic arthritis / S.Ozen [et al.] // Rheumatology (Oxford). – 2002. – Vol.41. – P.223-227.
6. TNF- α promoter gene polymorphisms in Spanish children with persistent oligoarticular and systemic-onset juvenile idiopathic arthritis / C.Modesto [et al.].

- // Scand. J. Rheumatol. – 2005. – Vol.34. – P.451–454.
7. Lee, Y.H. TNF promoter -308 A/G and -238 A/G polymorphisms and juvenile idiopathic arthritis: a meta-analysis / Y.H.Lee, S.C.Bae, G.G.Song // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol.39. –P.8497–8503. doi: 10.1007/s11033-012-1704-y.
8. dbSNP Short Genetic Variation NCBI [Electronic resource] // NCBI, National Center for Biotechnology Information. – Mode of access: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1800629. – Date of access: 04.04.2015.

FREQUENCIES OF -308G>A AND -238G>A GENOTYPES AND ALLELES OF THE TNF α LOCUS IN BELARUSIAN CHILDREN WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

¹Savina N.V., ¹Nikitchenko N.V., ²Glushkova T.A., ²Sechko E.V., ²Chichko A.M., ²Sukalo A.V., ¹Goncharova R.I.

¹Genetics and Cytology Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

The frequencies of genotypes and alleles of -308G>A and -238G>A polymorphic loci of TNF α gene in Belarusian children are similar to those in European populations. For children suffering from juvenile idiopathic arthritis (80 patients), associations between the frequencies of -308A and -238A risk alleles and this disease were not found.

Keywords: juvenile idiopathic arthritis (JIA), TNF α tumor necrosis gene factor, polymorphic locus -238G>A, polymorphic locus -308G>A.

ПАНИКУЛИТЫ В РЕВМАТОЛОГИИ: ТЕЧЕНИЕ И ИСХОДЫ

Н.М.Савушкина, О.Н.Егорова, Б.С.Белов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А.Насоновой»
(ФГБНУ НИИР им. В.А.Насоновой), г.Москва, Российская Федерация

В современной действительности клинический полиморфизм панникулитов (Пн), представляющих собой группу гетерогенных воспалительных заболеваний подкожно-жировой клетчатки, приводит к большим трудностям в дифференциальной диагностике. Отсутствие публикаций о течении и исходах данных заболеваний, вызывает затруднения в выборе тактики лечения и оценке прогноза. Настоящее исследование посвящено анализу течения и исходов наиболее распространенного варианта септального панникулита без васкулита – узловой эритемы, ассоциированной с инфекцией и у беременных.

Ключевые слова: септальный панникулит, узловая эритема, инфекции, беременность, течение, исходы, новорожденные, рецидив узловой эритемы.

Введение. Под Пн понимают группу гетерогенных воспалительных заболеваний, характеризующихся поражением подкожной жировой клетчатки (ПЖК) и нередко протекающих с вовлечением в процесс опорно-двигательного аппарата и внутренних органов [1, с.784]. В соответствии с классификацией, предложенной зарубежными авторами, наиболее типичным представителем преимущественно септального Пн без васкулита является узловая эритема (УЭ) [2, с.165, 3, с.532, 4, с.422]. Единая концепция этиологии и патогенеза УЭ, как и других Пн, в настоящее время отсутствует. Определенную роль в развитии Пн могут играть инфекции (вирусные, бактериаль-

ные), травмы, гормональные и иммунные нарушения, прием лекарственных препаратов, ревматические болезни, заболевания поджелудочной железы, злокачественные новообразования и др. [5, с.1347].

Цель: оценить течение и исходы УЭ, ассоциированной с инфекцией, и у беременных.

Материалы и методы: обследовано 2 группы пациентов – 22 беременные женщины с УЭ в возрасте 28,5 \pm 3,3лет (1 группа) и 32 пациента с УЭ, ассоциированной с инфекцией (ж – 30, м – 2) в возрасте 39,6 \pm 13лет (2 группа), наблюдавшихся в ФГБНУ НИИР им. В.А.Насоновой в 2009–2015гг. Длительность УЭ составила