

## ПОЛИМОРФИЗМ G/T ГЕНА *STAT4* У БЕЛОРУССКИХ ПАЦИЕНТОВ С ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

А.А.Яцкив, Р.И.Гончарова

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

*На данном этапе для белорусских пациентов не показано статистически достоверных различий в распределении частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу G/T rs7574865 гена *STAT4* при сравнении групп с диагнозом ЮИА (n=47) и контроля (n=47). Однако ввиду малого объема изученных выборок для уточнения полученных результатов по оценке рисков значимости данного полиморфизма необходимо увеличение размера исследуемых групп.*

*Ключевые слова: ювенильный идиопатический артрит, полиморфизм, ген *STAT4*.*

**Введение.** Одной из актуальных проблем современной педиатрической ревматологии являются хронические воспалительные заболевания суставов у детей. Примером подобных патологических состояний может служить ювенильный идиопатический артрит (ЮИА). ЮИА представляет собой артрит неизвестной этиологии, начинающийся до достижения 16-летнего возраста и персистирующий более шести недель при исключении других известных состояний.

Многочисленные исследования позволяют говорить о большом разнообразии этиологических факторов, вносящих вклад в развитие ЮИА. Помимо воздействия окружающей среды, существенная роль принадлежит генетической составляющей, что подтверждается результатами использования близнецовых методов генетического анализа [1, 2].

Считается, что гены *HLA* главного комплекса гистосовместимости человека являются ключевым локусом предрасположенности к ЮИА, объясняющим приблизительно 17% семейной кластеризации заболевания [3]. Кроме того, есть данные о более чем 100 локусах вне области *HLA*, которые изучаются на предмет наличия ассоциаций с ЮИА.

Одним из таких генов-кандидатов, ответственных за формирование предрасположенности к ЮИА, является ген *STAT4*, локализованный в локусе 2q32.2–2q32.3 [4]. *STAT4* представляет собой ДНК-связывающий транскрипционный фактор, экспрессирующийся в активированных моноцитах, макрофагах и дендритных клетках в местах воспаления и регулирующий передачу цитокиновых сигналов [5]. Таким образом, нарушение активности или экспрессии *STAT4* потенциально может вызывать изменения в работе иммунной системы и приводить к возникновению ауто-

иммунных состояний или иммуносупрессии. Наибольший интерес в этом плане вызывает однонуклеотидный полиморфизм rs7574865, представленный заменой гуанина на тимин и локализованный в третьем интроне гена.

Цель настоящей работы заключалась в определении частоты встречаемости нормального и мутантного аллелей полиморфного локуса G/T rs7574865 гена *STAT4*, а также частот генотипов в группах белорусских пациентов с ЮИА и условно здоровых детей и оценке вклада данного полиморфизма в формирование предрасположенности к названной патологии.

**Материалы и методы.** Для исследования были взяты образцы периферической цельной крови двух групп детей в возрасте 1–16 лет, сформированных на базе кардиологического отделения УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г.Минска: группа с диагнозом ЮИА и контрольная группа детей без аутоиммунных и воспалительных заболеваний. Отбор биологического материала производился сотрудниками медицинского учреждения в соответствии с общепринятыми международными нормами [6].

Геномная ДНК выделялась из лейкоцитов венозной периферической цельной крови стандартным фенол-хлороформным методом. Определение полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* осуществлялось методом ПЦР-ПДРФ анализа. Основой для отработки методики определения данного полиморфизма послужила статья В. Yuksel et al. [7].

Статистическую значимость различий в распределении частот генотипов и аллелей в исследуемых группах оценивали при построении шестипольных и четырехпольных таблиц с помощью критерия  $\chi^2$  для анализа распределения аллелей или точного критерия Фишера для анализа распреде-

ления генотипов. Для обработки полученных данных применяли программное обеспечение STATISTICA 7.0 и MS Excel 2007. Различия считались статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** В ходе работы было генотипировано 94 образца ДНК детей: 47 – пациентов с диагнозом ЮИА и 47 – условно здоровых детей. В группе пациентов с ЮИА наблюдается значительное преобладание девочек, что согласуется с литературными данными [8].

Прежде всего, для исследуемых групп была проведена проверка соответствия распределения частот аллелей и генотипов равновесию Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ), после подтверждения которого (для случаев  $p = 0,65$ ; для контроля  $p = 0,93$ ) осуществляли выбор статистических методов анализа и производили соответствующие вычисления.

Распределение частот аллелей и генотипов по полиморфизму rs7574865 гена *STAT4* в группах исследования представлено в таблице.

Гомозиготы дикого типа GG в группе с ЮИА были обнаружены с частотой 68,1%, в то время как в группе условно здоровых детей – в 51,1% случаев. Частота встречаемости генотипа GT в контрольной группе в 1,5 раза выше по сравнению с группой пациентов (40,4% против 27,6%); частота генотипа TT в контроле в 2 раза выше, чем в группе ЮИА (8,5% и 4,3% соответственно). Тем не менее, статистическую достоверность различий показать не удалось ( $p = 0,255$ ). Частота мутантного аллеля T в группе контроля соответствует данным для европейских популяций и составляет 28,3%, что почти в 1,6 превышает таковую в группе пациентов с ЮИА. Это даёт основания говорить о тенденции ( $p = 0,085$ ) большей распространенности данного аллеля в группе условно здоровых детей и, соответственно, его потенциальном протективном действии.

В исследовании на британской популяции A.Hinks и соавт. [9] подтвердили ассоциацию rs7574865 с ЮИА ( $p = 0,0004$ ; OR=1,24 (1,1–1,39)), впервые установленную Prahalaд и др. [10] на

популяции белых американцев ( $p = 0,029$ ; OR=1,24 (1,02–1,51)). Подобные результаты были продемонстрированы в исследовании S.D.Thompson и соавт. [11] в результате анализа двух больших популяционных выборок европеоидов США и Германии и в независимом репликативном исследовании J.A.Ellis и др. на выборке из 318 пациентов в рамках Австралийского проекта CLARITY [12]. Аналогично, результаты, полученные в недавней работе Z.-D.Fan и др. [13], выполненной на китайской популяции, позволяют говорить о мутантном T аллеле как о рисковом.

Однако для греческой популяции ассоциацию рассматриваемого полиморфизма с ЮИА исследователям подтвердить не удалось [14]. Кроме того, учитывая результаты метаанализа X.Juang и др. [15], говорящие о протективном действии мутантного аллеля T в отношении риска развития ревматоидного артрита в популяции азиатского происхождения, а также перекрывание локусов предрасположенности к ревматоидному артриту и ЮИА [9], можно допустить, что влияние полиморфизма rs7574865 на предрасположенность к ЮИА в различных популяциях неодинаково и может носить противоположный характер.

Для однозначного установления роли рассматриваемого полиморфизма в формировании риска развития ЮИА необходимо дальнейшее исследование на больших выборках пациентов.

**Заключение.** По результатам генотипирования по полиморфному локусу G/T rs7574865 гена *STAT4* не показано статистически достоверных различий в распределении частот аллелей ( $p = 0,085$ ) и генотипов ( $p = 0,255$ ) при сравнении групп с диагнозом ЮИА ( $n = 47$ ) и контроля ( $n = 47$ ). Однако можно говорить о выявлении тенденции большей частоты мутантного аллеля в контрольной группе, что предполагает потенциальное протективное действие этого аллеля. Для выяснения точной роли изучаемого полиморфного локуса необходимо увеличение количественного состава выборок.

**Распределение частот аллелей и генотипов по полиморфизму rs7574865 гена *STAT4* в изучаемых выборках**

| Варианты генотип/аллель | Частота аллелей/генотипов |            |                        |            | P     |
|-------------------------|---------------------------|------------|------------------------|------------|-------|
|                         | Группа ЮИА (n=47)         |            | Группа контроля (n=47) |            |       |
|                         | n                         | частота, % | n                      | частота, % |       |
| GG                      | 32                        | 68,1       | 24                     | 51,1       | 0,255 |
| GT                      | 13                        | 27,6       | 19                     | 40,4       |       |
| TT                      | 2                         | 4,3        | 4                      | 8,5        |       |
| G                       | 77                        | 81,9       | 67                     | 71,3       | 0,085 |
| T                       | 17                        | 18,1       | 27                     | 28,3       |       |

ЛИТЕРАТУРА

1. Familial aggregation of juvenile idiopathic arthritis / S.Prahalad [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2004. – Vol. 50, № 12. – P.4022–4027.
2. Magnitude of the genetic component in juvenile idiopathic arthritis / A.Savolainen [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2000. – Vol.59, No.12. – P.1001.
3. Prahalad S. A comprehensive review of the genetics of juvenile idiopathic arthritis / S.Prahalad, D.N.Glass // *Pediatric Rheumatology.* – 2008. – Vol.6, No.11. – doi:10.1186/1546-0096-6-11. – 16p.
4. Heim M.H. The STAT protein family / M.H.Heim // *Signal Transducers and Activators of Transcription (STATs): Activation and Biology* / P.Sehgal, D.E.Levy, T.Hirano. – Springer Science+Business Media, B.V., 2003. – Section 1. – P.11–25.
5. Interleukin 12 signaling in T helper type 1 (Th1) cells involves tyrosine phosphorylation of signal transducer and activator of transcription Stat3 and Stat4 / N.G.Jacobson [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1995. – Vol.181, No.5. – P.1755–1762.
6. World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects / World Medical Association. – Fortaleza: 64th WMA General Assembly. – 2013. – 4p.
7. Is There An Association Between Two-STAT4 Gene Polymorphisms and Rheumatoid Arthritis in Turkish Population? / B.Yuksel [et al.] // *Arch. Rheumatol.* – 2014. – Vol.21, No.1. – P.20–27.
8. Viswanathakumar H.M. Study of clinical spectrum of juvenile idiopathic arthritis in children in a tertiary referral hospital / H.M.Viswanathakumar, G.V.Kumar // *Curr. Pediatr. Res.* – 2014. – Vol.18, No.1. – P.21–25.
9. Overlap of disease susceptibility loci for rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis / A.Hinks [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2010. – Vol.69, No.9. – P.1049–1053.
10. Variants in TNFAIP3, STAT4, and C12orf30 loci associated with multiple autoimmune diseases are also associated with juvenile idiopathic arthritis / S.Prahalad [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2009. – Vol.60, No.7. – P.2124–2130.
11. The susceptibility loci juvenile idiopathic arthritis shares with other autoimmune diseases extend to PTPN2, COG6, and ANGPT1 / S.D.Thompson // *Arthritis Rheum.* – 2010. – Vol.62, No.11. – P.3265–3276.
12. Independent replication analysis of genetic loci with previous evidence of association with juvenile idiopathic arthritis / J.A.Ellis [et al.] // *Pediatric Rheumatology.* – 2013. – Vol.11, No.12. – doi: 10.1186/1546-0096-11-12.
13. STAT4 rs7574865 G/T and PTPN22 rs2488457 G/C Polymorphisms Influence the Risk of Developing Juvenile Idiopathic Arthritis in Han Chinese Patients / Z.-D.Fan [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol.10, No.3. – doi:10.1371/journal.pone.0117389.
14. Investigation of juvenile idiopathic arthritis susceptibility loci: Results from a Greek population / D.G.Gimopoulou [et al.] // *Human Immunology.* – 2013. – Vol.74, No.9. – P.1194–1198.
15. An updated meta-analysis of the signal transducer and activator of transcription 4 (STAT4) rs7574865 G/T polymorphism and rheumatoid arthritis risk in an Asian population / X.Jiang [et al.] // *Scand. J. Rheumatol.* – 2014. – Vol.43, No.6. – P.477–480.

**STAT4 GENE G/T POLYMORPHISM IN BELARUSIAN PATIENTS WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS**

**Yatskiv A.A., Goncharova R.I.**

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

As for now, no statistically significant differences in the allele and genotype frequency distribution by STAT4 gene G/T rs7574865 polymorphic locus in Belarusian patients were observed when comparing JIA group (n=47) and controls (n=47). However, owing to the small size of the investigated groups, enlargement of these is required to specify the received results related to risk significance estimation.

**Keywords:** juvenile idiopathic arthritis, polymorphism, STAT4 gene.