

М.А. ЕРГАЛИНА¹, Т.Д. УКБАЕВА¹, Г.Н. КУЛМАМБЕТОВА²
¹Евразийский Национальный университет им. Л.Н.Гумилева,
 г. Астана, Казахстан
²Национальный центр биотехнологий, г. Астана, Казахстан
 Научный руководитель – Т.Д. Укбаева

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫХ
 ЦИТОКИНОВ IL-1B И TNF-AC РАЗВИТИЕМ БОЛЕЗНЕЙ
 ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

УДК 616.33

Предполагается, что развитие заболеваний желудочно-кишечного тракта ассоциированы с наличием определенных генотипов хеликобактера и полиморфизмами генов провоспалительных цитокинов IL-1B в позиции 511C>T и TNF-A 308G>A. Мутантный аллель гена IL-1B -511*Т и генотип TNF-A-308G>A повышают продукцию провоспалительных цитокинов IL-1B и TNFα соответственно, что приводит к уменьшению секреции желудочной кислоты, позволяя *H.pylori* вызывать повреждение, иницируя хроническое воспаление в слизистой оболочке желудка. В нашем исследовании типа «случай-контроль» было проанализировано частота встречаемости генотипов IL-1B-511CT (OR – 1,32 (0,88-1,98), P value – 0,185), IL-1B-511TT (OR – 1,56 (0,96-2,52), P value – 0,071), TNF-A-308GA (OR – 0,35 (0,22-0,55), P value – 0,035), TNF-A-308AA (OR – 0,31 (0,06-1,61), P value – 0,14). По данным статистического анализа в популяции Акмолинской области ассоциация с заболеваниями желудочно-кишечного тракта и полиморфизмами генов IL-1B-511 и TNF-A-308 не обнаружилась, возможно, из-за слабой статистической мощности выборки, что предполагает дальнейшее изучение данной проблемы с увеличением количества выборки.

Ключевые слова: патология желудочно-кишечного тракта, провоспалительный цитокин, *H.pylori*, генетический полиморфизм

С развитием молекулярной генетики стало очевидным, что предрасположенность к мультифакториальным заболеваниям, эффективность и безопасность их лечения в значительной степени определяются специфичным набором полиморфных вариантов генов. Заболевания желудочно-кишечного тракта являются распространенной среди населения Казахстана – 50–60 % (5–6 тыс. на 10 тыс. населения) [1]. Причинами поражения слизистой оболочки желудка считаются генетическая предрасположенность организма, экзогенные и эндогенные факторы, к ним относятся бактерия *H.pylori*, неправильное питание, курение, ожог химическими веществами, алкоголь, постоянные стрессы, механическое повреждение. Генетическая предрасположенность хозяина к развитию патологий желудка основывается на полиморфизме генов кодирующих уровень экспрессии цитокинов при воспалительном процессе. Предполагается, что гастрит, язва и рак желудка ассоциированы с наличием определенных генотипов *H.pylori* и полиморфизмами генов провоспалительных цитокинов – IL-1B и TNF-A. Гены, кодирующие IL-1B, локализованы на хромосоме 2q13-21. Полиморфные варианты гена IL-1B являются высокопродуктивными. Кластер гена IL-1B имеет два биаллельных полиморфизма в позициях 511C>T и -31T>C в промоторной области гена. У лиц гомо- или гетерозиготных по высокопродуктивному аллелю IL-1B, продуцируется соответственно в 4 или 2 раза больше этого цитокина, чем у лиц гомозиготных по немутантному аллелю этого гена. Таким образом, являясь сильным естественным ингибитором продукции соляной кислоты генетический полиморфизм провоспалительного цитокина в позиции IL-1B – 511*Т повышает продукцию цитокина IL-1B [2], что приводит к уменьшению секреции желудочной кислоты и позволяет *H.pylori* вызывать повреждение, иницируя хроническое воспаление в слизистой оболочке желудка [3]. При этом особенности проявлений воспаления в

слизистой оболочки желудка, связанные с носительством полиморфных аллелей генов цитокинов, остаются недостаточно изученными.

TNF-α провоспалительный цитокин высоко экспрессирующийся при наличии *H.pylori* является мощным ингибитором секреции желудочного сока. Ген картирован на хромосоме 6p21.3, имеет размер 2762 п.н. и содержит 4 экзона. Последний экзон более чем на 80% кодирует белок. Известны более 30 полиморфных вариантов гена (микросателлиты, SNP-полиморфизмы), но только около половины из них влияют на экспрессию TNF-α in vitro. Полиморфизм G/A в позиции -307 гена TNF-α был выявлен в высокой концентрации у пациентов со злокачественными опухолями. TNF регион является ключевым комплексом генетической предрасположенности к колонизации *H.pylori* у определенной подгруппы пациентов. Kunstmann et al. сообщает что TNF-α -307 дикий тип ассоциируется с язвой 12-перстной кишки у женщин независимо от *H.pylori* статуса. Полиморфизм промоторной области гена TNF-α играет не только важную роль при *H.pylori* индуцирующем гастрите, но также удваивается риск экзофагеального или некардиального рака желудка. Machado et al. сообщает, что носители TNF-α -307A* аллели имеют повышенный риск рака желудка с OR 1.9 (95% CI, 1.3-2.7). Исследования других ученых Zambon et al., Rad et al. не выявили ассоциации полиморфизма TNF-α -307A* с риском рака желудка, также не была найдена корреляция данного полиморфизма с повышенной секрецией TNF-α, поэтому для подтверждения или опровержения данных выводов необходимо продлить исследования в данной области [4, 5, 6].

Целью исследования было изучение ассоциации между развитием патологии желудка и наличием полиморфизмами генов провоспалительных цитокинов в позициях IL-1B – 511*Т и TNF-α -307A*.

Материалы и методы.

В исследовании участвовало 547 человек, из них 301 пациент Национального научного медицинского

центра (г. Астана) в возрасте от 13 до 80 лет (средний возраст $42,3 \pm 15,2$). Контрольной группой являлись 246 человек в возрасте от 18 до 74 лет (средний возраст $37,6 \pm 14,2$), в анамнезе которых диагноз патологий желудочно-кишечного тракта отсутствовал. От обследуемых людей было получено информированное согласие на участие в исследовании и заполнена карта пациента. Группа сравнения (контроль) и группа исследования набирались из одной географической области (Акмолинская область). Биопсию у пациентов брали в ходе плановой фиброгастроуденоскопии. Отработан протокол по сбору образцов клинического материала. Экстракцию ДНК из клинического материала проводили модифицированным методом высаливания. Детекцию аллельных вариантов гена провоспалительных цитокинов IL-1B и TNF-A в выделенных образцах проводили методом прямого секвенирования.

Статистический анализ.

Силу ассоциации анализируемых признаков определяли с помощью величины отношения шансов

(OR), которую высчитывали по модифицированной формуле для малых выборок.

Тесты на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга и тесты для ассоциации производились с помощью программы DeFinetti на сайте Института генетики человека (Мюнхен, Германия, <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwal.pl>).

Результаты.

Было генотипировано 547 образцов, из них 246 образцов контрольной группы. Группа исследования составила 301 образец. Группа сравнения (контроль) и группа исследования набирались из одной географической области (Акмолинская область.). Результаты исследования показывают OR 1,56 (0,96-2,52) при гомозиготном генотипе IL-1B-511TT и OR 1,32 (0,88-1,98) при гетерозиготном генотипе IL-1B-511CT у пациентов с гастритом, язвой и раком желудка. Данное отношение рисков не выявляет положительную ассоциацию генотипов -TT - CT гена IL-1B в -511- позиции с развитием патологий желудка (таблица 1).

Таблица 1 - Частоты встречаемости генотипов IL-1B-511 у пациентов с патологиями желудка и контрольной группы людей

Генотипы	Контроль (%) (n=246)	Пациенты (%) (n=301)	OR (95% CI)	P value
IL-1 β -511				
C/C	71 (28,9)	68 (22,3)	Реф. генотип	0,185
C/T	122 (49,6)	154 (51,2)	1,32 (0,88-1,98)	
T/T	53 (21,5)	79 (26,2)	1,56 (0,96-2,52)	
Аллели				
C	264 (53,7)	290 (48,2)	Реф. аллель	0,093
T	228 (46,3)	312 (51,8)	1,39 (0,95-2,04)	

Такое наблюдалось и в ранних исследованиях Samargo M.C. и соавторов, которые обнаружили ассоциацию в европейской популяции, а в азиатской популяции риск развития болезней ЖКТ был не подтвержден [7]. В нашем случае исследования данная ассоциация была не обнаружена, возможно, из-за слабой статистической мощности выборки, что предполагает дальнейшее изучение данной проблемы с увеличением количества выборки.

Генотипирование полиморфизмов в гене TNF-A в образцах контрольной группы, также образцах от пациентов с язвой и раком желудка. Проведена оценка распространенности полиморфных вариантов гена TNF-A (rs1800629) в образцах группы исследования, у пациентов с заболеваниями ЖКТ. По ранее проведенным исследованиям зарубежных

коллег в европейских странах генотип TNF-A-308G>A ассоциирован с риском развития рака желудка, в азиатских же странах данной ассоциации не обнаружено. Gogouhi F. с соавторами показали что полиморфизм гена TNF-A-308G>A ассоциирован с высокой продукцией цитокина TNF- α , который является одним из центральных медиаторов иммунного ответа и воспаления, и по многим биологическим свойствам сходен с IL-1 β [8].

Было генотипировано 446 образцов, из них 225 образцов контрольной группы. Группа исследования составила 221 образец. Группа сравнения (контроль) и группа исследования набирались из одной географической области (Акмолинская область) (таблица 2).

Таблица 2 - Частоты полиморфизмов гена TNF-A у пациентов с патологиями и контрольной группы людей

Генотипы	Контроль (%), (n=225)	Пациенты (%), (n=221)	OR (95% CI)	P value
TNF α				
G/G	141 (62,7)	183 (82,8)	Реф. генотип	0,035
G/A	79 (35,1)	36 (16,3)	0,35 (0,22-0,55)	
A/A	5 (2,2)	2 (0,9)	0,31 (0,06-1,61)	
Аллели				
G	361 (80,2)	402 (90,9)	Реф. аллель	0,0184
A	89 (19,8)	40 (9,05)	0,34 (0,22-0,54)	

Результаты исследования показывают OR 0,31 (0,06-1,61) при гомозиготном генотипе TNF-A-308AA и OR 0,35 (0,22-0,55) при гетерозиготном генотипе TNF-A-308GA у пациентов с гастритом, язвой и раком желудка. Данное отношение рисков не выявляет

положительную ассоциацию генотипов -AA - GA гена TNF-A с развитием патологий желудка

Выводы.

В популяции Акмолинской области не выявлена ассоциация развития патологий желудочно-

кишечного тракта с полиморфизмами генов IL-1B-511 и TNF-A-308GA .

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Мединформ URL: <http://www.medinform.kz>
- 2 Smith A.J. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality // Cytokine & growth factor reviews. – 2009. – Vol.20. - №1. – P.43-59.
- 3 E.M. El-Omar Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. // Gastroenterology. – 2003. – Vol. 124. - №5. – P.1193-1201.
- 4 Lakour S., Hammann A., Wotava A. et al. Anticancer agents sensitize tumor cells to TNF-related apoptosis-inducing ligand-mediated Caspase-8 activation and apoptosis // Cancer Res. – 2001. – №2. - Vol. 61. – P. 1645-1651.
- 5 Noach L.A., Bosma N.B., Jansen J., Hoek F.J., Deventer S.J., Tytgat G.N. Mucosal tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8 production in patients with *Helicobacter pylori* infection // Scand J Gastroenterol. – 1994. – Vol. 29. – P. 425-429.
- 6 Francis S.E., Camp N.J., Dewberry R.M., Gunn J., Syrris P., Carter N.D., Jeffery S., Kaski J.C., Cumberland D.C., Duff G.W., Crossman D.C. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease // Circulation. - 1999. – Vol. 99. – P. 861-866.
- 7 Camargo, M.C., Mera, R., Correa, P., Peek, R.M.Jr., Fontham, E.T., Goodman, K.G. Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2006. - №15. – P. 1674-1687.
- 8 Gorouhi F., Islami F., Bahrami H., Kamangar F. Tumor-necrosis factor-A polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis // British Journal of Cancer. – 2008. – №98. – P. 1443-1451.

М.А. ЕРГАЛИНА¹, Т.Д. УКБАЕВА¹, Г.Н. КУЛМАМБЕТОВА²

¹Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана қ-сы, Қазақстан

²Ұлттық биотехнология орталығы, Астана қ-сы, Қазақстан

Ғылыми жетекші – Т.Д. Укбаева

ҚАБЫНДЫРАТЫН ЦИТОКИНДЕРДІҢ IL-1B ЖӘНЕ TNF-A ГЕН ПОЛИМОРФИЗМІНІҢ АСҚАЗАН-ІШЕК АУРУЛАРЫНЫҢ ДАМУЫМЕН АССОЦИАЦИЯСЫ

Түйін: Асқазан-ішек ауруларының дамуы хеликобактердің белгілі бір генотиптері мен IL-1B және TNFα қабіндырушы цитокиндердің 511C>T және TNFA 308G>A позицияларындағы ген полиморфизмдерімен байланысты екені болжануда. IL-1B -511*T мутантты аллелі мен TNF-A-308G>A генотипі сәйкесінше IL-1B және TNFα қабіндырушы цитокиндердің өндірісін жоғарылата отырып, асқазан қышқылы секрециясының төмендеуіне әсер етеді, нәтижесінде *H.pylori* асқазанның сілемейлі қабығын зақымдап, қабіндыруды инициациялайды. «Case-control» типті зерттеу жұмыстарының нәтижесінде IL-1B-511CT (OR – 1,32 (0,88-1,98), P value – 0,185), IL-1B-511TT (OR – 1,56 (0,96-2,52), P value – 0,071), TNF-A-308GA (OR – 0,35 (0,22-0,55), P value – 0,035), TNF-A-308AA (OR – 0,31 (0,06-1,61), P value – 0,14) генотиптерінің кездесу жиіліктері талданды. Статистикалық талдау қорытындылары бойынша Ақмола облысының популяциясында асқазан-ішек ауруларының дамуы мен IL-1B-511 и TNF-A-308 ген полиморфизмдерінің ассоциациясы анықталмады. Бұл талдау үлгілерінің статистикалық әлсіздігінен болуы мүмкін, сондықтан талдау үлгілер санын ұлғайтуды қажет етеді.

Түйінді сөздер: Асқазан-ішек патологиясы, қабіндырушы цитокин, *H.pylori*, генетикалық полиморфизм

M.A.YERGALINA¹, T.D. UKBAYEVA¹, G.N.KULMAMBETOVA²

¹Eurasian national university named after L.N.Gumilev, Astana, Kazakhstan

²National centre for biotechnology, Astana, Kazakhstan

Academic adviser – T.D.Ukbayeva

ASSOCIATION OF GENE POLYMORPHISMS OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IL-1B AND TNF-A WITH THE DEVELOPMENT OF THE DISEASE OF GASTROINTESTINAL TRACT

Resume: Suppose, that the development of gastrointestinal diseases associated with the presence of certain *Helicobacter* genotypes and gene polymorphisms of pro-inflammatory cytokines IL-1B and TNF-A at the position 511C>T and 308G> A. The mutant allele of the gene IL-1B -511*T and genotype TNF-A-308G>A increased production of proinflammatory cytokines IL-1B and TNFα, respectively, which leads to a reduction of gastric acid secretion, allowing *H.pylori* cause damage to initiating chronic inflammation in the lining membrane of the stomach. In our study of the "case-control" frequency of genotypes of IL-1B-511ST (OR - 1,32 (0,88-1,98), P value - 0,185) were analyzed, IL-1B-511TT (OR - 1 56 (0,96-2,52), P value -0,071), TNF-A-308GA (OR - 0,35 (0,22-0,55), P value -0,035), TNF-A-308AA (OR - 0,31 (0,06-1,61), P value -0,14). According to the statistical analysis in the population of Akmola region association with gastrointestinal disease and polymorphisms of genes of IL-1B-511 and TNF-A-308 is not detected, possibly due to the weak statistical sample of the power, which involves further study of this problem with the increase sample number.

Keywords: pathology of the gastrointestinal tract, the pro-inflammatory cytokine, *H.pylori*, genetic polymorphism