

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИИ ИММУННОГО МИКРОТРОМБОВАСКУЛИТА



Маткаримова Дилфуза Сабуровна

Ташкентская медицинская академия, Республика Узбекистан, г. Ташкент

### ИММУН МИКРОТРОМБОВАСКУЛИТНИНГ ОВИР КЕЧИШИНИ РИВОЖЛАНИШИДА ЯЛЛИҒЛАНИШ ОЛДИ ЦИТОКИН ГЕНЛАРИНИНГ ПРОГНОСТИК АҲАМИЯТИ

Маткаримова Дилфуза Сабуровна

Тошкент тиббийёт академияси, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

### PROGNOSTIC VALUE OF POLYMORPHISMS OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES GENES IN THE DEVELOPMENT OF SEVERE COURSE OF IMMUNE MICROTHROMBOVASCULITIS

Matkarimova Dilfuza Saburovna

Tashkent Medical Academy, Republic of Uzbekistan, Tashkent

e-mail: [asdf123-as@yandex.ru](mailto:asdf123-as@yandex.ru)

**Резюме.** Тадқиқотнинг мақсади. Яллиғланиш олди ситокин генларининг полиморф вариантларининг ноҳуш генотиплари ташувчанлиги ва ИМТВ клиник кечишининг оғирлиги ўртасидаги боғлиқлигини ўрганиш. Материал ва усуллари: Тадқиқотлар 75 нафар ИМТВ билан оғирган бемор (16 дан 80 ёш ораллигида) ва гемостаз тизимининг патологияси бўлмаган 73 нафар шартли соғлом шахсларда ўтказилган. TNF- $\alpha$  (rs1800629), IL-1 $\beta$  (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963) генлар полиморфизми детекцияси SNP-ПЦР усули билан ўтказилган. Натижалар ва муҳокама. TNF- $\alpha$  (rs1800629) генининг G/A генотипи ва VEGFA (rs2010963) генининг C/G генотипи билан ИМТВнинг оғир кечишининг ривожланиш хавфи билан боғлиқлик аниқланмади. Шу билан бирга, ИМТВ оғир кечиши юқори бўлган ривожланиш хавфи VEGFA (rs2010963) генининг мутант G/G генотипи ташувчанлиги билан аҳамиятли боғлиқлиги аниқланди.

**Калим сўзлар:** иммун микротромбоваскулит, клиника, генотип, боғлиқлик, ривожланиш хавфи, оғир кечиши.

**Abstract:** Purpose of the study. Study of possible associations between the carriage of adverse genotypes of polymorphic variants of proinflammatory cytokine genes and the severity of the clinical course of BMI. Material and methods: The study included 75 patients with IMTV (between the ages of 16 and 80) and 73 conditionally healthy individuals without a pathology of the hemostasis system of a comparable age. The polymorphisms of the TNF- $\alpha$  (rs1800629), IL-1 $\beta$  (rs1143627), IL-6 (rs1800795), and VEGFA (rs2010963) genes were detected by SNP-PCR. Results and its discussion. Results and its discussion. The absence of the association of the G / A genotype of the TNF- $\alpha$  gene (rs1800629) and the C / G genotype of the VEGFA gene (rs2010963) with a high risk of the development of a severe course of the IMTV has been found. At the same time, a significant dependence of the mutant G / G genotype of the VEGFA gene (rs2010963) with a high risk of developing a severe course of IMTV was determined.

**Key words:** immune microthrombovasculitis, clinic, genotype, association, development risk.

Клинические проявления иммунного микротромбоваскулита (ИМТВ), характеризуются их полиморфностью, выраженность которых зависит от характера и тяжести течения заболевания [5]. Вместе с тем, известно, что в реализации тяжести патологического процесса важное значение имеют генетические полиморфизмы [1,2]. Доказательством этого являются результаты исследований ряда зарубежных авторов по оценке связи генетических полиморфизмов с развитием тяже-

лого течения ИМТВ [4,7]. В частности, зарубежными исследователями установлено, что полиморфизмы генов сосудистого фактора роста, ренин-ангиотензиновой системы (ACE-I/D, M235T и T174M) значимо ассоциируются с тяжестью течения ИМТВ ( $p=0,045$  и  $p=0,026$ ) [3,9,10]. Mahsa M. Amoli et al. (2014) и López-Mejías R. et al. определили, что полиморфизм гена IL 1  $\beta$  (rs16944) имеет важное значение в развитии тяжелых почечных проявлений при ИМТВ [6,8].

В этой связи, анализ распределения аллельных и генотипических вариантов генов провоспалительных цитокинов у больных с иммунным микротромбоваскулитом, определение роли носительства неблагоприятных генотипов полиморфизмов этих генов в формировании тяжести течения, ассоциации их с выраженностью клинических проявлений ИМТВ имеет особое значение.

**Цель исследования.** Изучение возможных ассоциаций между носительством неблагоприятных генотипов полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов и тяжестью клинического течения ИМТВ.

**Материал и методы:** Материалом для исследования послужило 75 пациентов с ИМТВ (в возрасте от 16 до 80 лет), находившихся на наблюдении в РСНПМЦГ в период с 2012 по 2018 гг. В группу контроля вошло 73 условно здоровых лиц без патологии системы гемостаза, сопоставимого возраста. Все обследованные распределены на 2 группы: 1-я основная (n=75), пациенты с ИМТВ и 2-я контрольная группа (n=73), условно здоровые лица. Основная группа

в зависимости от стадии заболевания подразделена на две подгруппы: «А»-пациенты ИМТВ в стадии разгара (n=41) и «Б»-пациенты ИМТВ в стадии ремиссии (n=34). Диагноз ИМТВ верифицирован согласно современным классификационным критериям EULAR, PRINTO и PreS (2010).

Детекция полиморфизмов генов TNF- $\alpha$  (rs1800629), IL-1 $\beta$  (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963) проводилась методом SNP-ПЦР на программируемом термоциклере фирмы «Applied Biosystems» 2720 (США), с использованием тест-систем компании «Литех» (Россия), согласно инструкции производителя. Статистический анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ «Open Epi, Version 9.3».

**Результаты и обсуждение.** Комплексное обследование больных ИМТВ (n=75) позволило определить степени тяжести заболевания. В частности, количество пациентов с легкой степенью тяжести составило 29,3%, со средней степенью тяжести -37,4% и с тяжелой степенью - 33,3% (рис. 1).

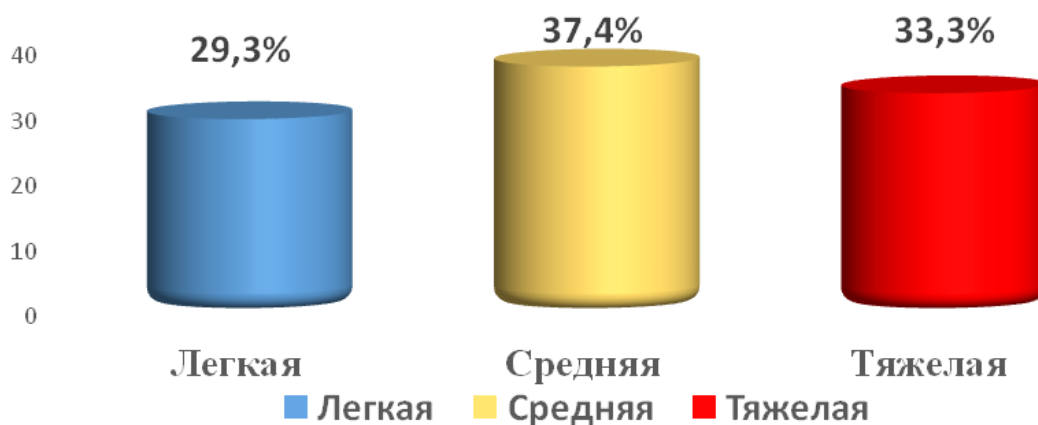


Рис 1. Распределение больных ИМТВ (n=75) по степеням тяжести.

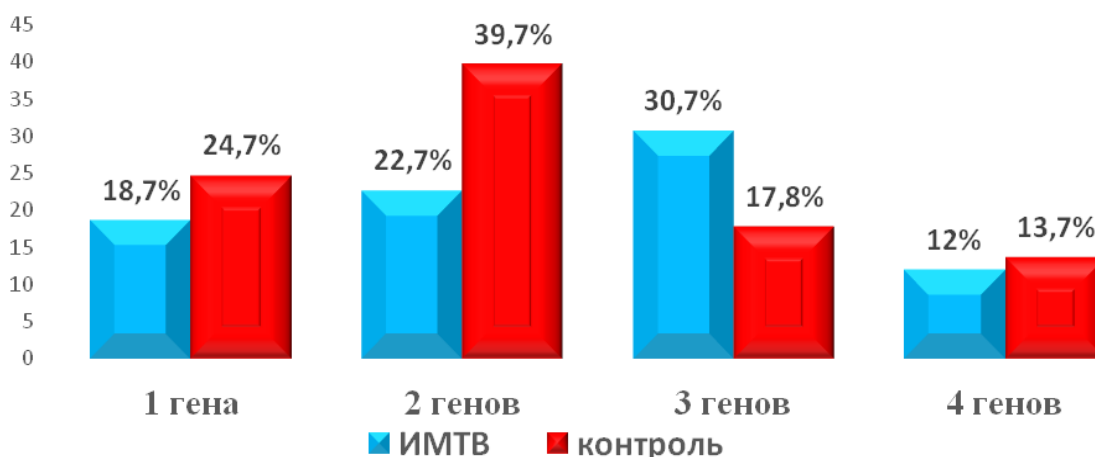


Рис. 2. Распределение сочетаний генетических полиморфных вариантов генов в группе пациентов ИМТВ и контроля ( $\chi^2 < 3.85$ ;  $P > 0.05$ )

**Таблица 1.** Различие в распределении частот генотипов полиморфизма гена TNF- $\alpha$  (rs1800629) у пациентов ИМТВ с легкой и средней степенями тяжести

Генотипы	Количество обследованных генотипов				$\chi^2$	P	RR	OR	95% CI
	Легкая		Средняя						
	Abs	%	Abs	%					
G/G	17	7.3	21	75.0	0.03	0.8	0.9	0.9	0.24- 3.28
G/A	5	22.7	7	25.9	0.03	0.8	1.0	1.1	0.31- 4.22
A/A	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Таблица 2.** Различие в распределении частот генотипов полиморфизма гена TNF- $\alpha$  (rs1800629) у пациентов ИМТВ с легкой и тяжелой степенями тяжести

Генотипы	Количество обследованных генотипов				$\chi^2$	P	RR	OR	95% CI
	Легкая		Тяжелая						
	Abs	%	Abs	%					
G/G	17	7.3	16	64.0	1.0	0.3	1.6	1.9	0.53-6.93
G/A	5	22.7	9	36.0	-	-	-	-	-
A/A	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Таблица 3.** Различие в распределении частот генотипов полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) у пациентов ИМТВ с легкой и средней степенями тяжести

Генотипы	Количество обследованных генотипов				$\chi^2$	P
	Легкая		Средняя			
	Abs	%	Abs	%		
C/C	12	54.5	15	53.6	<3.8	>0.05
C/G	10	45.5	13	46.4	<3.8	>0.05
G/G	-	-	-	-	-	-

**Таблица 4.** Различие в распределении частот генотипов полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) у пациентов ИМТВ с легкой и тяжелой степенями тяжести

Генотипы	Количество обследованных генотипов				$\chi^2$	P	RR	OR	95% CI
	Легкая		Тяжелая						
	Abs	%	Abs	%					
C/C	12	54.5	6	24.0	4.6	0.03	2.3	3.8	1.1- 13.2
C/G	10	45.5	14	56.0	0.4	0.5	0.8	0.6	0.21- 2.1
G/G	-	-	5	20.0	4.9	0.02	-	-	-

**Таблица 5.** Различие в распределении частот генотипов полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) у пациентов ИМТВ со средней и тяжелой степенями тяжести

Генотипы	Количество обследованных генотипов				$\chi^2$	P	RR	OR	95% CI
	Средняя		Тяжелая						
	Abs	%	Abs	%					
C/C	15	53.6	6	24.0	4.8	0.03	0.4	0.3	0.084-0.89
C/G	13	46.4	14	56.0	0.5	0.5	1.2	1.5	0.5- 4.34
G/G	-	-	5	20.0	6.2	0.01	-	-	-

В основной группе больных ИМТВ и в группе сравнения нами проведен анализ сочетанного носительства неблагоприятных генотипов полиморфных вариантов генов TNF- $\alpha$  (rs1800629), IL-1 $\beta$  (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963).

Сравнительный анализ в основной группе больных ИМТВ по отношению к контролю показал наличие некоторых различий в носительстве неблагоприятных генотипов изученных генов, а именно

носительство одного полиморфного гена установлено в 18,7%, двух полиморфизмов генов в 22,7%, трех в 30,7%. Сочетанное носительство неблагоприятных генотипов всех четырех изученных генов в наших наблюдениях выявлено в 12,0% случаях, в то же время отсутствие носительства гетерозиготного и / или мутантного генотипов генов наблюдалось в 6,6% случаях. Вместе с этим различие имело статистически незначимый характер (рис. 2).

С учетом выявления значимости генов TNF- $\alpha$  (rs1800629) и VEGFA (rs2010963) в риске развития ИМТВ мы изучили распределение частоты их генотипов в зависимости от степени тяжести заболевания.

По нашим данным, носительство генотипов G/G и G/A полиморфного варианта гена TNF- $\alpha$  (rs1800629) у больных ИМТВ с легкой степенью тяжести заболевания составило 77,3% и 22,7%, соответственно, со средней степенью тяжести – 75,0% и 25,0%, соответственно, тогда как при тяжелой степени тяжести их доля составила 64,0% и 36,0%.

Приведенные данные показывают наличие различий между носительством генотипов полиморфизма гена TNF- $\alpha$  (rs1800629) в зависимости от тяжести заболевания. Однако, статистический анализ показал отсутствие значимого различия в доле генотипов G/G и G/A между пациентами с легкой и средней степенью тяжести (для генотипа G/G:  $\chi^2=0.03$ ; P=0.8; OR=0.9; 95% CI: 0.24-3.28; для генотипа G/A:  $\chi^2=0.03$ ; P=0.8; OR=1.1; 95% CI: 0.35-4.22) (табл. 1).

Несмотря на то, что доля носительства неблагоприятного гетерозиготного генотипа G/A гена TNF- $\alpha$  (rs1800629) у пациентов ИМТВ с тяжелой степенью тяжести почти в 2 раза превышала его долю у пациентов с легкой степенью, все же при этом различие не имело статистической значимости ( $\chi^2=1.0$ ; P=0.3; OR=1.9; 95% CI: 0.53- 6.93) (табл. 2).

Таким образом, изучение ассоциации между носительством неблагоприятных генотипов полиморфизма гена TNF- $\alpha$  (rs1800629) и степенью тяжести ИМТВ не выявило наличие статистически значимых различий, что не позволяет определять полиморфный вариант гена TNF- $\alpha$  (rs1800629) в качестве прогностического генетического маркера тяжести течения ИМТВ у лиц узбекской национальности.

Анализ носительства генотипов полиморфного варианта гена VEGFA (rs2010963) у больных ИМТВ в зависимости от степени тяжести показал следующее: при легкой степени тяжести заболевания носительство C/C и C/G генотипов выявлялось в 54,5% и 45,5% случаях, соответственно, при средней степени тяжести их значения составили – 53,6% и 46,4%, соответственно, а при тяжелой степени тяжести - 24,0% и 56,0%. Кроме того, необходимо отметить, что лишь у пациентов с тяжелой степенью тяжести регистрировалось носительство мутантного генотипа G/G, которое составило 20,0%.

Статистический анализ наблюдаемых различий между носительством генотипов полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) в зависимости от тяжести ИМТВ позволил установить отсутствие достоверных различий в доле генотипов C/C и C/G между пациентами с легкой и средней степенью тяжести ( $\chi^2<3.8$ ; P>0.05) (табл. 3).

Достоверно различие в частоте генотипов C/C и G/G гена VEGFA (rs2010963) установлено между пациентами с легкой и тяжелой степенью тяжести ИМТВ (для генотипа C/C:  $\chi^2=4.6$ ; P=0.03; OR=3.8; 95% CI: 1.096- 13.18; для генотипа G/G:  $\chi^2=4.9$ ; P=0.02), тогда как в доле гетерозиготного генотипа C/G значимого различия не выявлено ( $\chi^2=0.4$ ; P=0.5; OR=0.6; 95% CI: 0.2069- 2.07) (табл. 4).

Частота генотипов C/C и C/G гена VEGFA (rs2010963) у пациентов ИМТВ со средней и тяжелой степенью тяжести не отличалась между собой статистической значимостью (для генотипа C/C:  $\chi^2=4.8$ ; P=0.03; OR=0.3; 95% CI: 0.084-0.8912; для генотипа C/G:  $\chi^2=0.5$ ; P=0.5; OR=1.5; 95% CI: 0.496-4.34). Достоверное различие установлено в отношении доли мутантного генотипа G/G ( $\chi^2=6.2$ ; P=0.01) (табл. 5).

Таким образом, изучение корреляции между носительством неблагоприятных генотипов полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) и степенью тяжести ИМТВ не выявило наличие статистически значимых различий в отношении гетерозиготного генотипа C/G ( $\chi^2<3.8$ ; P>0.05). Однако в отношении мутантного генотипа G/G ( $\chi^2>3.8$ ; P<0.05) установлена ассоциация с риском развития тяжелого течения ИМТВ. Следовательно генотип G/G полиморфизма гена VEGFA (rs2010963) является прогностическим маркером тяжести течения ИМТВ у лиц узбекской этнической группы.

Обобщая вышеприведенное, можно заключить, что наряду со стандартными клинико-лабораторными исследованиями весьма важным и необходимым является проведение молекулярно-генетических исследований с целью выявления генетических маркеров, повышающих риск развития ИМТВ (TNF- $\alpha$  (rs1800629) и VEGFA (rs2010963)). Кроме того, важным моментом при обследовании пациентов с ИМТВ является исследование на наличие носительства мутантного генотипа G/G полиморфного варианта гена VEGFA (rs2010963), что позволяет прогнозировать тяжелое течение заболевания и определять группы риска больных на начальном этапе диагностики. В свою очередь это способствует правильному выбору тактики ведения больных, предупреждению развития тяжелых осложнений заболеваний, и тем самым повысить качество жизни пациентов с ИМТВ.

#### **Вывод:**

1. Установлено отсутствие ассоциации генотипа G/A гена TNF- $\alpha$  (rs1800629) и генотипа C/G гена VEGFA (rs2010963) с высоким риском развития тяжелого течения иммунного микротромбоваскулита.
2. Определена значимая зависимость мутантного генотипа G/G гена VEGFA (rs2010963) с высоким риском развития тяжелого течения иммунного микротромбоваскулита.

3. При обследовании пациентов с ИМТВ важным и необходимым является исследование на наличие носительства мутантного генотипа G/G полиморфного варианта гена VEGFA (rs2010963), что позволяет определять группы риска больных тяжелого течения на доклиническом этапе.

#### Литература:

1. Берман Ю.О., Давыдкин И.Л., Кривова С.П., Хайретдинов Р.К. Влияние мутаций системы гемостаза на течение геморрагического васкулита. Гематол. и трансфузиол., 2014, т. 59, № 1. С. 33-34.
2. Кудряшова М.А. Прогностические факторы течения и исхода болезни Шенлейна-Геноха у детей. Автореф. дис., Москва, 2015, С.24.
3. Bonyadi M., Mahnaz E. N., Shabestari S., Rafeey M., Mortazavi F. Association of 5'-Untranslated Region Polymorphism of VEGF Gene with Henoch-Schönlein in North West of Iran. Molecular and Biochemical Diagnosis (MBD). Vol.1, No.2 (2014), 89-94.
4. Brogan P., Eleftheriou D. Vasculitis update: pathogenesis and biomarkers. Pediatric Nephrology. February 2018, Volume 33, Issue 2, pp 187-198.
5. Calvo-Río V., Loricera J., Ortiz-Sanjuán F. et al. Revisiting clinical differences between hypersensitivity vasculitis and Henoch-Schönlein purpura in adults from a defined population. Clin Exp Rheumatol 2014; 32 suppl 82:S34-S40.
6. López-Mejías R., Genre F., Remuzgo-Martínez S., Sevilla Pérez B., Castañeda S., Llorca J. et al. Interleukin 1 beta (IL1ss) rs16944 genetic variant as a genetic marker of severe renal manifestations and renal sequelae in Henoch-Schonlein purpura. Clin Exp Rheumatol 2016;34:S84-8.
7. López-Mejías R., Sevilla Pérez B., Genre F., Castañeda S., Ortego-Centeno N., Llorca J. et al. No evidence of association between functional polymorphisms located within IL6R and IL6ST genes and Henoch-Schonlein purpura. Tissue Antigens 2013;82: 416-9.
8. Mahsa M. Amoli, Maria C. Calviño, Carlos Garcia-Porrúa, Javier Llorca, William E. R. Ollier, Mi-

guel A. Gonzalez-Gay. Interleukin 1beta gene polymorphism association with severe renal manifestations and renal sequelae in Henoch-Schönlein purpura. The Journal of Rheumatology February 2014, 31 (2) 295-298.

9. Mao S., Huang S. Association of AGT M235T gene polymorphism with HSP/HSPN risk. Ren Fail 2015;37:16-21.

10. Mohammadian T., Bonyadi M., Nabat E., Rafeey M. Association of ACE, VEGF and CCL2 gene polymorphisms with Henoch-Schönlein purpura and an evaluation of the possible interaction effects of these loci in HSP patients. Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University [01 Jul 2017, 26(4):661-664, DOI: 10.17219/acem/62896.

#### ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИИ ИММУННОГО МИКРОТРОМБОВАСКУЛИТА

Маткаримова Д.С.

**Резюме.** Цель исследования. Изучение возможных ассоциаций между носительством неблагоприятных генотипов полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов и тяжестью клинического течения ИМТВ. Материал и методы: В исследование включено 75 пациентов с ИМТВ (в возрасте от 16 до 80 лет) и 73 условно здоровых лиц без патологии системы гемостаза сопоставимого возраста. Детекция полиморфизмов генов TNF-α (rs1800629), IL-1β (rs1143627), IL-6 (rs1800795), VEGFA (rs2010963) проводилась методом SNP-ПЦР. Результаты и их обсуждение. Установлено отсутствие ассоциации генотипа G/A гена TNF-α (rs1800629) и генотипа C/G гена VEGFA (rs2010963) с высоким риском развития тяжелого течения ИМТВ. Вместе с тем определена значимая зависимость мутантного генотипа G/G гена VEGFA (rs2010963) с высоким риском развития тяжелого течения ИМТВ.

**Ключевые слова:** иммунный микротромбоваскулит, клиника, генотип, ассоциация, риск развития, тяжелое течение.