

ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИИ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ RS1800470 ГЕНА ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА B1 (*TGFB1*) И RS231775 ГЕНА ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО Т-ЛИМФОЦИТ-СВЯЗАННОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА 4 (*CTLA4*) С РИСКОМ РАЗВИТИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

А.В.Разводовская¹, И.И.Черкашина¹, С.Ю.Никулина¹, В.А.Шестовицкий¹,
М.И.Воевода², В.Н.Максимов², А.Б.Аверьянов¹

¹Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения РФ, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

²Научно-исследовательский институт терапии Сибирского отделения РАМН, 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

РЕЗЮМЕ

Целью исследования явилась оценка вклада одонуклеотидных полиморфизмов rs1800470 гена *TGFB1* и rs231775 гена *CTLA4* в формирование предрасположенности к развитию бронхиальной астмы (БА) среди жителей г. Красноярск. Группа больных БА – 100 человек, две контрольные группы, для каждого полиморфизма, соответственно, 282 и 338 человек. Геномную ДНК выделяли из 10 мл венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Каждый одонуклеотидный полиморфизм гена тестировали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды TaqMan, Applied Biosystems, США) на приборе ABI 7900HT. При изучении распределения генотипов ОНП rs1800470 гена *TGFB1* и rs231775 гена *CTLA4* среди мужчин и женщин, больных аллергической и неаллергической БА, и лицами контрольной группы выявлены статистически значимые различия. При изучении полиморфизма rs1800470 гена *TGFB1* для группы больных неаллергической БА показано отсутствие редких гомозигот GG. Развитие неаллергической астмы статистически значимо ассоциировано с генотипом AA и AG, по сравнению как с группой контроля ($p=0,025$), так и с группой больных, страдающих аллергической формой БА ($p=0,006$). При наличии данных генотипов риск неаллергической БА возрастает по сравнению с группой контроля (ОШ = 1,631; 95%-й ДИ = 1,37-1,94) и с группой больных с аллергической БА (ОШ = 1,128; 95%-й ДИ = 1,08-3,17). При изучении полиморфизма rs231775 гена *CTLA4* выявлено повышение частоты генотипа GG в группе больных аллергической БА, в том числе у женщин. Учитывая полученные результаты, можно сделать вывод, что наличие генотипа GG (ОШ = 2,036; 95%-й ДИ = 1,16-3,58) обуславливает повышенный риск развития аллергической БА по сравнению с группой контроля.

Ключевые слова: одонуклеотидный полиморфизм, ген rs1800470 *TGFB1*, ген rs231775 *CTLA4*, бронхиальная астма.

SUMMARY

THE STUDY OF ASSOCIATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS OF RS1800470

GENE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR B1 (*TGFB1*) AND RS231775 GENE OF CYTOTOXIC T-LYMPHOCYTE-CONNECTED IMMUNOGLOBULIN 4 (*CTLA4*) WITH THE RISK OF BRONCHIAL ASTHMA DEVELOPMENT

A.V.Razvodovskaya¹, I.I.Cherkashina¹,
S.Yu.Nikulina¹, V.A.Shestovitsky¹, M.I.Voevoda²,
V.N.Maksimov², A.B.Averyanov¹

¹Krasnoyarsk State Medical University, 1 Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

²Scientific Research Institute of Internal Medicine of Siberian Branch RAMS, 175/1 Borisa Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

The purpose of the research was to study the influence of single-nucleotide polymorphisms rs1800470 of *TGFB1* gene and rs231775 of *CTLA4* gene on the susceptibility to the development of bronchial asthma among the population of Krasnoyarsk. The group of patients with bronchial asthma were 100 people; two control groups, respectively, for each polymorphism – 282 and 338 people. Genome DNA was extracted from 10 ml of venous blood with phenol-chloroform extraction technique. Single nucleotide gene polymorphism was tested with the help of polymerase chain reaction in real time in accordance with the firm producer protocol (probes TaqMan, Applied Biosystems, USA) on the apparatus ABI 7900HT. While studying the polymorphism rs1800470 of gene *TGFB1* for a group of patients with non-allergic asthma the absence of rare homozygous GG was demonstrated. Development of non-allergic asthma significantly associated with genotype AA and AG, in comparison with both the control group ($p=0.025$) and a group of patients suffering from allergic forms of asthma ($p=0.006$). If there is evidence of genotypes, non-allergic asthma risk increases compared with the control group (OR = 1.631; 95% CI = 1.37-1.94) and with a group of patients with allergic asthma (OR = 1.128; 95% CI = 1.08-3.17). When studying polymorphism rs231775 *CTLA4* gene, increased frequency of genotype GG in the group of patients with allergic asthma, including women, was revealed. Taking into consideration the results obtained, it can be concluded that the presence of the genotype GG (OR = 2.036; 95% CI = 1.16-3.58) causes an increased risk of allergic asthma in comparison with the control group.

Key words: single-nucleotide polymorphism, rs1800470 TGFB1 gene, rs231775 CTLA4 gene, bronchial asthma.

Рост заболеваемости, хроническое, часто неконтролируемое течение, недостаточная эффективность существующих методов лечения и профилактики ставят бронхиальную астму (БА) в ряд наиболее актуальных проблем современной медицины. Среди взрослого населения заболеваемость во всем мире составляет более 300 млн человек [3].

В развитии астмы наряду с внешне-средовыми факторами важную роль играет и генетическая предрасположенность. На сегодняшний день можно выделить группы генов, нарушения структуры и функционирования которых могут вносить вклад в формирование БА. К генам-кандидатам астмы относят: гены врожденного иммунного ответа и иммунорегуляции; гены, связанные с дифференцировкой и функционированием Th2; гены иммунитета слизистых оболочек; гены легочной функции и др. [2]. К настоящему времени получены данные о связи БА и полиморфизма примерно 80 генов [2]. Проверялось на ассоциацию с БА 1148 генов (HuGENavigator, version 2.0). В том числе, показана связь одного из генов и морфологической конституции у больных астмой в популяции г. Красноярск [6].

При изучении патогенеза БА представляет интерес исследование возможного участия полиморфизма тех генов-кандидатов, продукты которых принимают участие в формировании как бронхиальной гиперреактивности, так и аллергического воспаления [12]. Среди большого числа генов, которые могут принимать участие в формировании предрасположенности к развитию БА, малоизученным остается ген трансформирующего ростового фактора бета-1 (*TGFB1*). Данный ген отвечает за синтез белка трансформирующего фактора роста- β 1 ($TGF\beta$ 1). $TGF\beta$ 1 представляет собой многофункциональный пептид, который контролирует пролиферацию, дифференцировку и другие функции во многих типах клеток. $TGF\beta$ 1 был впервые идентифицирован в тромбоцитах человека как белок с молекулярной массой 25 килодальтон. Зрелые белки $TGF\beta$ состоят из 112 аминокислотных остатков и содержат от шести до девяти остатков цистеина, которые образуют как внутри-, так и межмолекулярные дисульфидные связи. Кроме того, $TGF\beta$ 1 может ингибировать секрецию и активность многих цитокинов, включая $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ и различные интерлейкины. $TGF\beta$ 1 может также увеличить экспрессию определенных цитокинов в Т-клетках и способствовать их распространению, особенно если клетки являются незрелыми. $TGF\beta$ 1 усиливает пролиферацию, синтез коллагена и фибробластов [11].

Ген *TGFB1* расположен на 19 хромосоме, содержит 7 экзонов и очень большое количество интронов [8]. Всего в гене *TGF- β 1* идентифицировано 5 значимых однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП). Зарубежными авторами найдена ассоциация rs1800470 гена *TGFB1* с атопической БА. Лица-носители Т аллеля (С-

509Т) имели повышенный риск развития астмы [13]. Ряд исследователей считает, что ген *TGFB1* относится к генам, регулирующим врожденный иммунный ответ и иммунорегуляцию при БА. *TGFB1* имеет значение при росте и дифференцировке клеток дыхательных путей во время воспалительного процесса при БА, то есть участвует в патогенезе астмы [16]. По некоторым данным, rs1800470 гена *TGFB1* способствует развитию БА, влияет на реактивность и ремоделирование дыхательных путей. Показана взаимосвязь данного гена с тяжестью астмы [10]. Существует мнение, что *TGFB1* выступает в качестве противовоспалительного цитокина, т.е. подавляет аллергическое воспаление. *TGFB1* косвенно ингибирует активацию Т-клеток, предотвращает развитие аллергического воспаления через способность ингибировать синтез IgE и за счет ингибирования пролиферации клеток. Наряду с этим, в исследовании среди польского населения не доказана роль гена *TGFB1* в развитии БА.

Полиморфизм rs231775 гена *CTLA4* (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 – поверхностный антиген цитотоксических Т-лимфоцитов) у больных БА изучен недостаточно, его роль в патогенезе заболевания еще окончательно не определена. Проведено 25 исследований, 2 мета-анализа (HuGENavigator, version 2.0).

Ген *CTLA4* расположен на хромосоме 2q33 [9] и содержит 4 экзона и 3 интрона. Синоним названия гена – CD152. Изучена роль полиморфизма 49A/G гена *CTLA4* в развитии аллергического ринита. У больных с круглогодичной формой аллергического ринита частота функционально «неблагоприятного аллеля» 49A/G гена *CTLA4* почти в 1,3 раза превышала аналогичный показатель в группе с сезонной формой, и незначительно – в контрольной группе [1]. В исследовании среди корейского населения было показано влияние полиморфизма +49 A/G гена *CTLA4* на выработку IgE и на предрасположенность к развитию БА [15]. Мета-анализ среди китайского населения также подтвердил значение полиморфизма +49A/G гена *CTLA4* для риска развития астмы [14]. В литературе имеются сообщения о связи полиморфизмов в промоторе (-318 C/T) Т аллеля с развитием тяжелой астмы, и в первом экзоне (+49 A/G) – с гиперреактивностью бронхов дыхательных путей, а также ОНП СТ60 гена *CTLA4* с ответом на лечение ингаляционными глюкокортикостероидами у детей с атопической БА [7].

Цель исследования – оценить вклад однонуклеотидных полиморфизмов rs1800470 гена *TGFB1* и rs231775 гена *CTLA4* в формирование предрасположенности к развитию БА среди жителей г. Красноярск.

Материалы и методы исследования

В исследование включены больные БА в возрасте от 16 до 70 лет. Всеми пациентами подписано информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования №36/2011 от 22.12.2011 г. был одобрен Этическим комитетом КрасГМУ. Больные обследованы в период 2011-2012 гг. на базе Городской поликлиники №6.

В исследовании принимали участие больные с подтвержденным диагнозом БА, способные выполнять спирометрическое обследование и согласные на проведение данного исследования. Из исследования были исключены: больные с неуточненным диагнозом астмы; больные БА с другими хроническими и острыми заболеваниями легких (ХОБЛ, рак легких, туберкулез, пневмония и др.); больные БА с тяжелой сопутствующей и сочетанной патологией (инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, застойная сердечная недостаточность и др.).

Всем пациентам было проведено клинико-инструментальное исследование: клинический осмотр, спирометрия с бронходилатационной пробой, аллергологическое обследование. Обследовано 100 больных БА, жителей г. Красноярск, в том числе 75 женщин и 25 мужчин (основная группа). Средний возраст пациентов составил 50 (37; 57) лет. Диагноз астмы у всех больных был установлен ранее. Степень тяжести, уровень контроля, форма заболевания определены в соответствии с рекомендациями, изложенными в GINA [3]. Среди наблюдавшихся больных диагностированы следующие формы БА: аллергическая – у 68 человек, неаллергическая – у 32 человек. Длительность заболевания в среднем составила при аллергической БА – 7 (4; 14,5) лет, неаллергической – 8 (4; 12,5) лет. Среди сопутствующих заболеваний у больных БА выделены: внелегочные аллергические заболевания – у 25 человек (23,1±4,1%), ишемическая болезнь сердца – у 6 (5,6±2,2%), гипертоническая болезнь – у 21 (19,4±3,8%), заболевания желудочно-кишечного тракта – у 3 (2,8±1,6%), заболевания суставов – у 2 (1,9±1,3%), заболевания эндокринной системы – у 3 (2,8±1,6%) человек.

В качестве контроля использовали популяционную выборку жителей г. Новосибирск в количестве 282 и 338 человек для каждого гена, соответственно. Средний возраст их составил 49 (15; 61) лет. Группы были сопоставимы по полу и возрасту ($p > 0,05$).

Молекулярно-генетическое обследование пациентов проводилось в лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний ФГБУ «НИИ терапии и профилактической медицины» СО РАМН (г. Новосибирск). Геномную ДНК выделяли из 10 мл венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе [5]. Каждый однонуклеотидный полиморфизм гена тестировали с помощью ПЦР в реальном времени. Для ее проведения использовался прибор ABI 7900HT (Applied Biosystems) и технология TaqMan. Прибор для проведения ПЦР в реальном времени состоит из амплификатора, блока анализа флуоресценции и компьютерного блока со специальным программным обеспечением, с помощью которого можно проанализировать полученный результат. TaqMan ПЦР основана на 5'-экзонуклеазной активности полимеразы. ДНК-зонд, имеющий флуоресцентный краситель на 5'-конце и гаситель флуорес-

ценции на 3'-конце, комплементарен участку амплифицируемой области. Гаситель поглощает испускаемое флуоресцентной меткой излучение, а фосфатная группа в 3'-положении блокирует полимеразу. При отжиге зонд количественно связывается с комплементарным участком ДНК. Во время стадии элонгации полимеразы синтезирует комплементарную цепь ДНК и, дойдя до участка, гибридизованного с зондом, начинает расщеплять его за счет 5'-экзонуклеазной активности. В результате флуоресцентная метка отделяется от гасителя, и ее свечение может быть детектировано. Увеличение флуоресценции будет прямо пропорционально количеству наработанного ПЦР-продукта. Количество последнего увеличивается с каждым циклом реакции вдвое. Поэтому зависимость количества продукта ПЦР от количества циклов выражается экспонентой.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы SPSS, версии 19.0. Описательная статистика результатов исследования представлена для качественных признаков в виде процентных долей и их стандартных ошибок. Расчет ошибок для 0% производился по методике А.М. Меркова [4]. Значимость различий качественных признаков в группах наблюдения оценивали при помощи непараметрического критерия χ^2 Пирсона с поправкой на непрерывность. При частоте встречаемости признака 5 и менее использовался точный критерий Фишера. Различия во всех случаях оценивали, как статистически значимые при $p < 0,05$.

Для анализа количественных признаков, распределение которых было отличным от нормального, использовали непараметрические критерии. Данные представлены в виде: Me – медиана, $[Q_1; Q_3]$ – интерквартильный размах (значения 25-го и 75-го перцентилей, соответственно).

Для оценки риска развития БА по конкретному генотипу производили оценку отношения шансов (ОШ) в таблицах сопряженности 2×2 с расчетом доверительных интервалов. ОШ считали статистически значимым, если в его доверительный интервал не попадала единица.

Результаты исследования и их обсуждение

По полиморфизму rs1800470 гена *TGFBI* были генотипированы 93 больных с диагнозом БА и 282 человека из контрольной группы (табл. 1).

При сравнении основной и контрольной групп (табл. 1) по частоте встречаемости генотипов rs1800470 гена *TGFBI* статистически значимых различий не получено ($p = 0,967$). Изучение распределения генотипов полиморфизма rs1800470 гена *TGFBI* среди мужчин и женщин больных аллергической и неаллергической БА и лицами контрольной группы статистически значимых различий также не выявило.

При изучении полиморфизма rs1800470 гена *TGFBI* для группы больных неаллергической БА показано отсутствие редких гомозигот GG (табл. 2). Развитие неаллергической астмы статистически значимо ассоциировано с генотипом AA и AG, по сравнению

как с группой контроля ($p=0,025$), так и с группой больных, страдающих аллергической формой БА ($p=0,006$). При наличии данных генотипов риск неаллергической

астмы возрастает по сравнению с группой контроля (ОШ=1,631; 95%-й ДИ=1,37-1,94) и с группой больных аллергической БА (ОШ=1,128; 95%-й ДИ=1,08-3,17).

Таблица 1

Распределение частот встречаемости генотипов по ОНП rs1800470 гена *TGFB1* среди больных БА и лиц контрольной группы

Генотипы	Основная группа (n=93)		Контрольная группа (n=282)	
	абс.	%±m	абс.	%±m
AA	38	40,9±5,1	111	39,4±2,9
AG	42	45,2±5,2	131	46,5±3,0
GG	13	14,0±3,6	40	14,2±2,1
p	0,967			

Примечание: p – критерий значимости при сравнении частоты встречаемости генотипов среди больных БА и лиц контрольной группы.

Таблица 2

Распределение частот встречаемости генотипов по ОНП rs1800470 гена *TGFB1* среди больных БА и лиц контрольной группы

Генотипы	Аллергическая БА (n=62)		Неаллергическая БА (n=31)		Контрольная группа (n=282)	
	1		2		3	
	абс.	%±m	абс.	%±m	абс.	%±m
AA	21	33,9±6,0	17	54,8±8,9	111	39,4±2,9
AG	28	45,2±6,3	14	45,2±8,9	131	46,5±3,0
GG	13	21,0±5,2	0	0+11,1	40	14,2±2,1
p	$p_{1-2}=0,013$; $p_{1-3}=0,380$; $p_{2-3}=0,049$					
Генотип AA+AG	49	79,0±5,2	31	100+11,1	242	85,8±2,1
Генотипы GG	13	21,0±5,2	0	0+11,1	40	14,2±2,1
p	$p_{1-2}=0,006$; $p_{1-3}=0,180$; $p_{2-3}=0,025$					
ОШ; 95%-й ДИ	ОШ ₍₁₋₂₎ : 1,631 [1,37; 1,94]; ОШ ₍₁₋₃₎ : 1,605 [0,79; 3,22]; ОШ ₍₂₋₃₎ : 1,128 [1,08; 1,17]					

Примечание: p – критерий значимости при сравнении частоты встречаемости генотипов среди больных аллергической, неаллергической БА и лиц контрольной группы; * – статистически значимые различия с контролем.

Таблица 3

Распределение частот встречаемости генотипов по ОНП rs231775 гена *CTLA4* среди больных БА и лиц контрольной группы

Генотипы	Основная группа (n=97)		Контрольная группа (n=338)	
	абс.	%±m	абс.	%±m
AA	23	23,0±4,3	93	27,5±2,4
AG	43	44,3±5,0	171	50,6±2,7
GG	31	32,0±4,7	74	21,9±2,2
p	0,124			

Примечание: p – критерий значимости при сравнении частоты встречаемости генотипов среди больных БА и лиц контрольной группы.

По полиморфизму rs231775 гена *CTLA4* были прогенотипированы 97 больных БА и 338 лиц контрольной группы (табл. 3). При исследовании частот полиморфизма rs231775 гена *CTLA4* не выявлено статистически

значимых различий между общей совокупностью больных БА и группой контроля ($p=0,124$).

Нами изучен полиморфизм rs231775 гена *CTLA4* отдельно среди больных БА и лиц контрольной группы

(табл. 4).

При сравнительном анализе установлено, что в группе больных аллергической БА частота встречаемости генотипа GG была почти в 1,7 раз выше по сравнению с контрольной группой и составила у больных аллергической астмой 36,4%, в контроле – 21,9% ($p=0,032$). Частота встречаемости генотипов GG и AA+AG полиморфизма rs231775 гена *CTLA4* в группе больных БА составила 36,4 и 63,6%, соответственно, а в группе контроля – 21,9 и 78,1%, соответственно. Таким образом, риск развития аллергической БА среди жителей г. Красноярска оказался связан с носительством генотипа GG (ОШ=2,036; 95%-й ДИ=1,16-3,58; $p_{1-3}=0,012$) полиморфизма rs231775 гена *CTLA4*. Статистически значимые различия в распределении частот генотипов между группами больных неаллергической

БА и лицами контрольной группы по полиморфному локусу rs231775 гена *CTLA4* не выявлены (табл. 4).

При оценке распределения частот генотипов выявлено, что генотипы AA+AG и GG полиморфизма rs231775 гена *CTLA4* составили в группе женщин с аллергической БА, соответственно, 61,2 и 38,8%, а у женщин контрольной группы – 75,1 и 24,9%, соответственно (табл. 5). Согласно полученным данным, наличием генотипа GG обусловлен повышенный риск развития аллергической БА у женщин (ОШ=0,523; 95%-й ДИ=1,0-3,6; $p_{1-3}=0,047$). Статистически значимые различия в распределении частот генотипов среди мужчин, больных аллергической и неаллергической БА, и мужчин контрольной группы по полиморфному локусу rs231775 гена *CTLA4* не установлены.

Таблица 4

Распределение частот встречаемости генотипов по ОНП rs231775 гена *CTLA4* среди больных БА и лиц контрольной группы

Генотипы	Аллергическая БА (n=66)		Неаллергическая БА (n=31)		Контрольная группа (n=338)	
	1		2		3	
	абс.	%±m	абс.	%±m	абс.	%±m
AA	12	18,2±4,7	11	35,5±8,6	93	27,5±2,4
AG	30	45,5±6,1	13	41,9±8,9	171	50,6±2,7
GG	24	36,4±5,9*	7	22,6±7,5	74	21,9±2,2
p	$p_{1-2}=0,137$; $p_{1-3}=0,032^*$; $p_{2-3}=0,585$					
Генотип AA+AG	42	63,6±5,9	24	77,4±7,5	264	78,1±2,2
Генотипы GG	24	36,4±5,9*	7	22,6±7,5	74	21,9±2,2
p	$p_{1-2}=0,175$; $p_{1-3}=0,012^*$; $p_{2-3}=0,930$					
ОШ; 95%-й ДИ	ОШ ₍₁₋₂₎ : 1,960 [0,73; 5,20]; ОШ ₍₁₋₃₎ : 2,036 [1,16; 3,58]; ОШ ₍₂₋₃₎ : 1,040 [0,43; 2,51]					

Примечание: p – критерий значимости при сравнении частоты встречаемости генотипов среди больных аллергической, неаллергической БА и лиц контрольной группы; * – статистически значимые различия с контролем.

Таблица 5

Распределение частот встречаемости генотипов по ОНП rs231775 гена *CTLA4* среди женщин, больных аллергической и неаллергической БА и женщин контрольной группы

Генотипы	Женщины с аллергической БА (n=49)		Женщины с неаллергической БА (n=23)		Женщины контрольной группы (n=233)	
	1		2		3	
	абс.	%±m	абс.	%±m	абс.	%±m
AA	10	20,4±5,8	9	39,1±10,2	61	26,2±2,9
AG	20	40,8±7,0	10	43,5±10,3	114	48,9±3,3
GG	19	38,8±7,0*	4	17,4±7,4	58	24,9±2,8
p	$p_{1-2}=0,114$; $p_{1-3}=0,032^*$; $p_{2-3}=0,387$					
Генотип AA+AG	30	61,2±7,0	19	82,6±7,9	175	75,1±2,8
Генотипы GG	19	38,8±7,0	4	17,4±7,9	58	24,9±2,8
p	$p_{1-2}=0,070$; $p_{1-3}=0,047$; $p_{2-3}=0,423$					
ОШ; 95%-й ДИ	ОШ ₍₁₋₂₎ : 3,0 [0,88; 10,2]; ОШ ₍₁₋₃₎ : 0,523 [1,0; 3,6]; ОШ ₍₂₋₃₎ : 1,574 [0,20; 1,94]					

Примечание: p – критерий значимости при сравнении частоты встречаемости генотипов среди женщин с аллергической, неаллергической БА и женщин контрольной группы; * – статистически значимые различия с контролем.

По литературным данным имеется ассоциация rs1800470 гена *TGFB1* и rs231775 гена *CTLA4* с повышенным риском развития БА, с тяжестью астмы, с развитием аллергического ринита. Результаты нашего исследования не полностью совпадают с приведенными выше данными. При изучении полиморфизма rs1800470 гена *TGFB1* для группы больных неаллергической БА показано отсутствие редких гомозигот GG. Развитие неаллергической астмы статистически значимо ассоциировано с генотипом AA и AG, по сравнению, как с группой контроля ($p=0,025$), так и с группой больных, страдающих аллергической формой БА ($p=0,006$). При наличии данных генотипов риск неаллергической БА возрастает по сравнению с группой контроля (ОШ=1,631; 95%-й ДИ=1,37-1,94) и с группой больных с аллергической БА (ОШ=1,128; 95%-й ДИ=1,08-3,17). При изучении полиморфизма rs231775 гена *CTLA4* выявлено повышение частоты генотипа GG в группе больных аллергической БА, в том числе у женщин. Учитывая полученные результаты, можно сделать вывод о том, что наличие генотипа GG (ОШ=2,036; 95%-й ДИ=1,16-3,58; $p_{1-3}=0,012$) обуславливает повышенный риск развития аллергической БА. Среди мужчин по данному гену статистически значимых различий не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анализ ассоциации полиморфизма 49A/G гена *CTLA4* с развитием аллергического ринита / В.Ш.Алиева и [др.] // Цитология и генетика. 2010. Т.44, №3. С.16–20.
2. Генетика бронхиальной астмы / М.Б.Фрейдin [и др.] // Генетика бронхолегочных заболеваний / под ред. В.П.Пузырева, Л.М.Огородовой. М.: Атмосфера, 2010. С.78–104.
3. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2011 г.) / под ред. А.С.Белевского. М.: Рос. респир. общество, 2012. 108 с.
4. Мерков А.М., Поляков Л.Е. Санитарная статистика (пособие для врачей). Л.: Медицина, 1974. 384 с.
5. Смит К., Калко С., Кантор Ч. Пульс-электрофорез и методы работы с большими молекулами ДНК // Анализ генома. Методы / под ред. К.Дейвиса: пер. с англ. М.: Мир. 1990. С.58–94.
6. Особенности полиморфизма гена хемокинового рецептора CCR5 и морфологической конституции у больных бронхиальной астмой и их родственников / И.И.Черкашина и [др.] // Сиб. мед. обозрение. 2013. №2. С.19–23.
7. Berce V., Potocnik U. Functional polymorphism in *CTLA4* gene influences the response to therapy with inhaled corticosteroids in Slovenian children with atopic asthma // *Biomarkers*. 2010. Vol.15, №2. P.158–166.
8. Intron-exon structure of the human transforming growth factor- β precursor gene / R.Derynck [et al.] // *Nucleic Acids Res.* 1987. Vol.15, №7. P.3188–3189.
9. The impact of rs231775 (+49AG) *CTLA4* gene polymorphism on transplanted kidney function / L.Domański [et al.] // *Ann. Transplant.* 2012. Vol.17, №3. P.29–35.
10. Epistatic interactions between *Tgfb1* and genetic loci, *Tgfbm2* and *Tgfbm3*, determine susceptibility to an asthmatic stimulus / J.Freimuth [et al.] // *PNAS*. 2012. Vol.109, №44. P.18042–18047.
11. Ishmael F.T. The Inflammatory Response in the Pathogenesis of Asthma // *J. Am. Osteopath. Assoc.* 2011. Vol.111, №11 (Suppl.7). P.11–17.
12. Association of asthma severity and bronchial hyperresponsiveness with a polymorphism in the cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 gene / S.Y.Lee [et al.] // *Chest*. 2002. Vol.122, №1. P.171–176.
13. Genetic polymorphisms in transforming growth factor beta-1 (*TGFB1*) and childhood asthma and atopy / H.Li [et al.] // *Hum. Genet.* 2007. Vol.121, №5. P.529–538.
14. Nie W., Chen J., Xiu O. Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Antigen 4 Polymorphisms and Asthma Risk: A Meta-Analysis // *PLoS One*. 2012. Vol.7, №7. P.e42062.
15. Association Between Serum IgE Levels and the *CTLA4*+49A/G and *FCER1B*-654C/T Polymorphisms in Korean Children With Asthma / K.Y.Oh [et al.] // *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2010. Vol.2, №2. P.127–133.
16. Variants in *TGFB1*, dust mite exposure, and disease severity in children with asthma / S.Sharma [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009. Vol.179, №5. P.356–362.

REFERENCES

1. Alieva V.Sh., Karimov H.Ya., Nazarov A.A., Arifov S.S., Boboev K.T. *Tsitologiya i genetika* 2010; 44(3):16–20.
2. Freydin M.B., Ogorodova L.M., Tsoy A.N., Berdnikova N.G. *Genetika bronkhial'noy astmy. V knige: Puzyrev V.P., Ogorodova L.M. (red.). Genetika bronkholegochnykh zabolevaniy* [Genetics of bronchial asthma. In: Puzyrev V.P., Ogorodova L.M., editors. Genetics of bronchopulmonary diseases]. Moscow: Atmosfera; 2010:78–104.
3. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2011). Available at: www.ginasthma.com.
4. Merkov A.M., Polyakov L.E. *Sanitarnaya statistika* [Medical statistics]. Leningrad: Meditsina; 1974.
5. Smith K., Kalko C., Cantor Ch. *Pul's-elektroforez i metody raboty s bol'shimi molekulami DNK. V knige: Davis K. (red.). Analiz genoma. Metody* [Pulse-electrophoresis and methods of work with large DNA molecules. In: Davis K., editor. Genome analysis. Methods]. Moscow: Mir; 1990:58–94 (in rus.).
6. Cherkashina I.I., Nikulina S.J., Maksimov V.N., Voivoda M.I., Shestovitsky V.A., Chupakhina V.A., Razvodovskaya A.V. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie* 2013; 2:19–23.
7. Berce V., Potocnik U. Functional polymorphism in *CTLA4* gene influences the response to therapy with inhaled corticosteroids in Slovenian children with atopic asthma. *Biomarkers* 2010; 15(2):158–166.
8. Derynck R., Rhee L., Chen E.Y., Van Tilburg A. Intron-exon structure of the human transforming growth factor- β precursor gene. *Nucleic Acids Res.* 1987; 15(7):3188–3189.
9. Domański L., Bobrek-Lesiakowska K., Kłoda K.,

Pawlik A., Safranow K., Wisniewska M., Romanowski M., Ciechanowski K. The impact of rs231775 (+49AG) CTLA4 gene polymorphism on transplanted kidney function. *Ann. Transplant.* 2012; 17(3):29–35.

10. Freimuth J., Clermonta F. F., Huang X., DeSapio A., Tokuyasu T. A., Sheppard D., Akhurst R.J. Epistatic interactions between Tgfb1 and genetic loci, Tgfbm2 and Tgfbm3, determine susceptibility to an asthmatic stimulus. *PNAS* 2012; 109(44):18042–18047.

11. Ishmael F.T. The Inflammatory Response in the Pathogenesis of Asthma. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 2011; 111(11 Suppl.7):s11–s17.

12. Lee S.Y., Lee Y.H., Shin C., Shim J.J., Kang K.H., Yoo S.H., In K.H. Association of asthma severity and bronchial hyperresponsiveness with a polymorphism in the cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 gene. *Chest* 2002; 122(1):171–176.

13. Li H., Romieu I., Wu H., Sienra-Monge J.J., Ramirez-Aguilar M., del Rio-Navarro B.E., del Lara-

Sanchez I.C., Kistner E.O., Gjessing H.K., London S.J. Genetic polymorphisms in transforming growth factor beta-1 (TGFB1) and childhood asthma and atopy. *Hum. Genet.* 2007; 121(5):529–538.

14. Nie W., Chen J., Xiu O. Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Antigen 4 Polymorphisms and Asthma Risk: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2012; 7(7):e42062.

15. Oh K.Y., Kang M.J., Choi W.A., Kwon J.W., Kim B.J., Yu J., Hong S.J. Association Between Serum IgE Levels and the CTLA4+49A/G and FCER1B-654C/T Polymorphisms in Korean Children With Asthma. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2010; 2(2):127–133.

16. Sharma S., Raby B.A., Hunninghake G.M., Soto-Quirós M., Avila L., Murphy A.J., Lasky-Su J., Klanderman B.J., Sylvia J.S., Weiss S.T., Celedón J.C. Variants in TGFB1, dust mite exposure, and disease severity in children with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2009; 179(5):356–362.

Поступила 29.10.2014

Контактная информация

Анастасия Владимировна Разводовская,
аспирант кафедры внутренних болезней №1,
Красноярский государственный медицинский университет,
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1.

E-mail: asenochek@bk.ru

Correspondence should be addressed to

Anastasiya V. Razvodovskaya,
MD, Postgraduate student of Department of Internal Medicine №1,
Krasnoyarsk State Medical University,
1 Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation.

E-mail: asenochek@bk.ru