

Р.И. Берсимбай

РОЛЬ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ИЗУЧЕНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

(Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Астана)

Стремительные темпы развития современной генетики и выдающиеся достижения последних десятилетий, дали исключительно важную информацию не только для понимания фундаментальных основ жизни, но и быстро нашли практическое применение в фармакологии и медицине, сельском хозяйстве и экологии. На сегодняшний день технологии рекомбинантной ДНК и геномики широко используются в медицине и практически нет таких областей медицины, которые не были бы затронуты геномными исследованиями. Это привело не только к существенному возрастанию наших фундаментальных знаний о молекулярных основах болезней человека, но и способствовало развитию молекулярной медицины, где методы геномных технологий широко используются для профилактики, диагностики и лечения болезней [1].

Геномика предполагает изучение всего генома, включая картирование, секвенирование, аннотирование (обнаружение генов) и функциональный анализ. Первым существенным достижением в области технологий рекомбинантных ДНК стал метод молекулярного клонирования, создание транскрипционной карты и доступность всех генов. Геномные технологии позволили проводить: анализ экспрессии генов, анализ белковой экспрессии, анализ белковой структуры и их взаимодействий, анализ характера экспрессии и активности генов (использование методов мутагенеза и РНК-интерференции), анализ последовательностей генов или целых геномов [2-4]. В организме большое количество генов должны работать вместе, чтобы координировать активность всех биологических процессов, протекающих в человеческом или любом другом организме. С этой точки зрения целью функциональной геномики является установление функции генов в широком масштабе с использованием новых производительных технологий [5]. Известно, что многие полигенные мультифакторные болезни человека обусловлены повреждениями генов, что гены определяют реакцию нашего организма на лекарства, на инфекцию, вызванную патогенными микроорганизмами, а также то, что гены влияют на нашу предрасположенность к болезням, которые во многом зависят от внешних условий.

Бронхиальная астма (БА) и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) являются заболеваниями мультифакториальной полигенной природы, риск формирования которых обусловлен взаимодействием большого количества генов с этиологически значимыми средовыми факторами. Общие генетические факторы, характерные для бронхиальной гиперреактивности могут участвовать в процессе развития как БА, так и ХОБЛ. Сегодня бронхиальной астмой страдает более 300 млн. жителей планеты. Распространенность её колеблется примерно от 1 % до 18 % населения в разных странах. Ежегодно во всем мире от астмы умирает примерно 250 000 человек и эти данные, как правило, не коррелируют с распространенностью [6].

Причиной заболеваемости и смертности от ХОБЛ в мире являются социальные и экономические факторы [7]. Иницирование воспалительного процесса в дыхательных путях при ХОБЛ совершается табачным дымом, различными поллютантами и газами. Известно, что около 90% пациентов с ХОБЛ – курильщики, а табачный дым, как известно, является важным фактором, инициирующим оксидативный стресс в легких. Распространенность, заболеваемость и смертность от ХОБЛ варьируют в зависимости от страны, в пределах групп стран, в прямой связи с распространением курения табака [8]. В целом популяционная распространенность ХОБЛ в мире составляет около 6%.

Одним из важных направлений в геномных исследованиях в молекулярной медицине является выявление вариаций в последовательностях генов, ответственных за формирование индивидуальных реакций на влияние окружающей среды [9,10]. В патогенезе БА имеют место как иммунологические, так и неиммунологические механизмы. Они контролируются независимыми друг от друга генами, которые индуцируют развитие БА с иммунологическими и неиммунологическими факторами развития заболевания, объединенные общим патогенетическим звеном – выбросом медиаторов аллергии, оказывающих повреждающее действие на бронхи. Общеизвестно, что атопия рассматривается как иммунопатология, лежащая в основе формирования БА. В реализации атопических реакций особо важную роль играют интерлейкины: IL-4, IL-5, IL-9 и IL-13, продуцируемые преимущественно Т-хелперами 2 типа (Th-2): IL-4, IL-5, IL-9 и IL-13. Формирование воспаления, лежащего в основе аллергических реакций, связывают с преобладанием Th-2 типа иммунного ответа (гуморального) над Th-1 (клеточным) с соответствующей продукцией цитокинов. Используя «позиционный» и «кандидатный» подходы картирования генов распространенных

заболеваний установлено, что гены атопии (предрасположенность к гиперпродукции IgE) и аллергических заболеваний (главным образом, бронхиальной астмы) расположены в основном в десяти участках генома человека. Показано сцепление «астмы» с пятью генными локусами, четыре из которых соответствуют гомологичным хромосомным областям, где локализованы гены кандидаты заболевания у человека: 5q31, 6p21.12q22-24, 17q12-22 [9].

Одним из большого количества медиаторов, участвующих в воспалительных процессах при БА и ХОБЛ, является провоспалительный цитокин TNF α . Ген TNF α локализован в пределах главного комплекса гистосовместимости III класса на коротком плече 6 хромосомы (6p21.3). Описано 12 полиморфизмов в промоторном регионе гена TNF α , обусловленных однонуклеотидными заменами. Известно, что сочетание определенных аллелей в генах TNF α приводит к повышению продукции TNF α и является фактором риска БА и ХОБЛ. Ферменты биотрансформации ксенобиотиков играют важную роль в патогенезе бронхолегочных заболеваний. Они участвуют в антиоксидантных реакциях и детоксикации внешнесредовых поллютантов, стимулирующих развитие воспалительного процесса в дыхательных путях. В развитии заболеваний органов дыхания наибольшее значение и вовлеченность имеют полиморфизмы генов глутатион-S-трансфераз - GSTM1, GSTT1 и GSTP1. Глутатионовая антиоксидантная система эффективно защищает клетки от оксидативного стресса. Глутатион-S-трансферазы активно участвуя в детоксикации ксенобиотиков путем их конъюгации с глутатионом играют ключевую роль в обеспечении устойчивости клеток к перекисному окислению липидов, свободным радикалам, алкилированию белков и предотвращении поломок ДНК. Ген GSTM1 локализован на хромосоме 1 (1p13.3), ген GSTT1 - на 22 хромосоме (22q11.2) и ген GSTP1 - на 11 хромосоме (11q13).). Полиморфизмы генов GSTM1 и GSTT1 обусловлены наличием частичной или полной делеции, приводящей к нарушению синтеза соответствующего фермента. Полиморфизм гена GSTP1 обусловлен сочетанием двух диаллельных полиморфизмов гена: Ile105Val (5-й экзон) и Ala114Val (6-й экзон). Замена Ile105Val в аминокислотной последовательности GSTP1 приводит к изменению активности фермента. Таким образом, ХОБЛ и БА ассоциированы с хроническим воспалением, в формирование которого вовлечены цитокины, ферменты и множество других факторов (рецепторы цитокинов, хемокины, ростовые факторы, адгезионные молекулы). Учитывая общность ткани-мишени, а также вовлекаемых в патогенез этих заболеваний систем, исследования связи различных генотипов этих генов с патогенетически важными для БА и ХОБЛ качественными и количественными признаками, характеризующими состояние факторов иммунитета, позволит выявить их роль в развитии предрасположенности к этим заболеваниям.

Нами проведены исследования по изучению ассоциации различных генотипов изучаемых генов с патогенетически важными для БА и ХОБЛ качественными и количественными признаками, характеризующими состояние факторов иммунитета и развитие предрасположенности к этим заболеваниям [11-13]. При анализе цитокинового профиля больных БА и ХОБЛ установлено повышение IL2, TNF α , IL-10 в сыворотке крови по сравнению с контролем. У больных бронхиальной астмой по соотношению цитокинов ИЛ-4/ ИНФ- γ , по сравнению с больными ХОБЛ определено преобладание функциональной активности Th2 лимфоцитов, что можно рассматривать как свидетельство относительного дефицита клеточно-опосредованного иммунного ответа. В сыворотке крови больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких было выявлено повышение уровня общего IgE без значимых межгрупповых различий. При оценке полиморфизма гена IL4 (-589T) у больных БА, ХОБЛ и здоровых людей установлена взаимосвязь IL-4-589T аллеля с астмой ($\chi^2=6,12$ при d.f.=1, $p<0,05$) и с ХОБЛ ($\chi^2=10,88$ при d.f.=1, $p=0,001$). При оценке полиморфизма G-308A гена TNF- α у больных БА, ХОБЛ и контрольной группы выявлена статистически значимая ассоциация между аллелем -308A и БА ($\chi^2=4,25$ при d.f.=1, $p=0,04$). При анализе распределения генотипов GSTM1 и GSTT1 в выборке больных БА и контрольной группе установлено, что в группе больных БА нулевой генотип гена GSTM1 был у 32 человек (58,2%), нулевой генотип гена GSTT1 – у 23 человек (41,8%). При сравнении выборок больных БА с контрольной группой достоверных различий в частотах аллелей генов GSTM1 и GSTT1 выявлено не было ($\chi^2=3,65$ при d.f.=1, $p=0,06$ и $\chi^2=0,7$ при d.f.=1, $p=0,4$ соответственно). При изучении полиморфизма гена GSTP1 у больных БА и здоровых индивидов были выявлены статистически достоверные различия между генотипами Ile/Ile, Ile/Val и Val/Val. Анализ полиморфизма гена GSTP1 показал ассоциацию генотипа Val/Val с развитием БА ($\chi^2=21,94$ при df=1, $p<0,05$). Полученные результаты свидетельствуют в пользу большей подверженности лиц-носителей генотипов GSTM1 «-» и GSTT1 «-» риску заболеть ХОБЛ. Величина OR при этом составила 13,15 и 2,86, соответственно. Анализ полиморфизма гена GSTP1 показал ассоциацию генотипа Val/Val с развитием ХОБЛ ($\chi^2=18,12$ при df=1, $p<0,05$). В сыворотке крови больных ХОБЛ установлено повышение общего IgE и интерлейкинов: IL-2, IL-4, TNF- α , IL-10. Одной

из причин повышения уровня иммуноглобулина Е и IL-4 у больных ХОБЛ может быть наличие частой встречаемости полиморфного варианта гена IL4. В процессе реализации II фазы биотрансформации при участии глутатион-S-трансфераз синтезируются лейкотриены C4 и D4, в реакции ацетилирования образуется фактор активации тромбоцитов (PAF). Как известно, LTC4 и LTD4 в комбинации с PAF играют ключевую роль в поздней фазе аллергического воспаления. Таким образом, генетический полиморфизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков в связи с дисбалансом токсификации/детоксификации, увеличением продукции реактивных метаболитов может также приводить к повышению IL-4 и IgE. По данным проведенного исследования к БА подвержены лица, имеющие генотип Val/Val гена GSTP1 и генотип -308A гена TNF- α . При анализе цитокинового профиля больных БА установлено повышение IL-2, IL-4, TNF- α , IL-10 в сыворотке крови по сравнению с контролем. По соотношению цитокинов ИЛ-4/ ИНФ- γ , при сравнении с больными ХОБЛ определено преобладание функциональной активности Th2 лимфоцитов, что можно рассматривать как свидетельство относительного дефицита клеточно-опосредованного иммунного ответа. Выявление общих и специфичных для БА и ХОБЛ генетических и иммунологических маркеров является важным вкладом в понимание механизмов каждого из этих двух заболеваний. Определенные особенности иммунитета, ассоциированные молекулярно-генетическими предпосылками, свидетельствуют о наследственной детерминации патологических фенотипов. В заключение можно отметить, что в последние годы большое внимание уделяется идентификации генов, мутации которых вносят существенный вклад в предрасположенность к развитию мультифакторных полигенных бронхолегочных заболеваний. Информация, полученная в результате геномных исследований и анализа вариабельности ДНК человека позволит идентифицировать генетические варианты, определяющие предрасположенность к мультифакторным заболеваниям и ответ на лекарства, что открывает путь к персонализированной медицине, учитывающей генетические особенности пациентов.

1. Altshuler D., Daly M., Lander E.S. Genetic mapping in human disease // Science.-2008.-V.322.-P.881-888.
2. Lander E.S. et al. Tinitial sequencing and analysis of human genome // Nature.-2001.-V.409.-P.860-921.
3. Venter J.C. et al. The sequence of human genome // Science.-2001.-V.291.-P.1304-1351.
4. Antonarakis S.E., Chakravarti A., Cohen J.C., Hardy J. Mendelian disorders and multifactorial traits: the big divide or one for all // Nature Reviews Genetics.-2010.-V.11.-P.380-384.
5. McCarthy M.I., Abecasis G.R., Cardon L.R., Goldstein D., Little J., Ioannidis J.P.A., Hirschorn J.N. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges // Nature Reviews Genetics -2008.-V.9.-N.5.-P.356-375
6. Global Initiative for Asthma (GINA) Report 2009. www.ginasthma.com.
7. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Report 2008. www.gold.com.
8. Sandford A.J., Silverman E.K. Chronic obstructive pulmonary disease. 1: Susceptibility factors for COPD the genotype – environment interaction // Thorax.- 2002. -V. 57.- N.8.- P. 736-741.
9. Repari E., Sayers I., Wain L.V. et al. Genome-wide association study identifies five loci associated with lung function// Nature Genetics.-2010.-V.42.-N.1.-P.36-45.
10. Берсимбаев Р.И. Медицинская геномика: некоторые достижения и проблемы. // *Вестник ЕНУ* (серия естественных наук).-2009.- № 2.-С.128-134.
11. Берсимбай Р.И., Ешжанов Т.Е., Байгенжин А.К. Роль апоптоза иммунных клеток при атопической бронхиальной астме // Доклады НАН РК.-2009.- №5.-С.38-48.
12. Акпарова А., Ешжанов Т.Е., Байгенжин А.К., Берсимбаев Р.И., Роль белков-регуляторов апоптоза иммунокомпетентных клеток в развитии бронхиальной астме // Доклады НАН РК.- 2010.- №5.-С.76-82.
13. Yechshzhanov T.E., Akparova A.Y., Bersimbay R.I. Association of xenobiotic detoxification enzymes gene polymorphism in predisposition to bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease // Journal of Life Sciences.-2011.-V.5.-P.454-459.