

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ОДНОНУКЛЕОТИДНИМ ПОЛІМОРФІЗМОМ *RS7574865* ГЕНУ *stat4* ТА РОЗВИТКОМ ЧЕРВОНОГО ВОВЧАКУ

Н.М. Іванова, Я.Ф. Кутасевич, В.В. Савенкова, О.М. Реміз
ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України» (Харків)

Вступ

Автоімунні захворювання сполучної тканини стають дедалі більш актуальною проблемою сучасної медицини [5]. Системний червоний вовчак (СЧВ) – тип порушень імунної системи, відомий як аутоімунне захворювання. При аутоімунних захворюваннях в організмі синтезуються імуноглобуліни до власних білків, тому імунна система починає сприймати «свої» клітини як чужорідні та атакує їх. Це призводить до запалення і пошкодження різних тканин організму. Вовчак – хронічне аутоімунне захворювання, яке проявляється в декількох формах і може викликати запалення суглобів, м'язів та інших частин організму [6].

Жінки частіше, ніж чоловіки, хворіють на СЧВ, і це співвідношення за даними різних наукових центрів коливається від 1:9 до 1:11. До того ж, відомі сімейні випадки захворювання СЧВ [12]. Встановлено, що в українській популяції майже кожна третя жінка, що народжує, має генетично детерміновану патологію сполучної тканини середнього і тяжкого ступеня важкості [9].

Хронічний червоний вовчак не є виключно спадковим захворюванням, оскільки успадковується не сама хвороба безпосередньо, а лише схильність до її розвитку [8, 10]. Факт, що вовчак може протікати в сім'ях, показує, що розвиток захворювання має генетичне підґрунтя. Про роль генетичних факторів свідчить і те, що конкордантність за СЧВ у монозиготних близнюків більша, ніж у дизиготних, а також – поширеність СЧВ (5-12%) серед кровних родичів хворих [15].

Порушення у структурі гену *STAT4* можуть призводити до розвитку аутоімунних процесів. Багатьма дослідженнями показано роль різноманітних однонуклеотидних поліморфізмів гену *STAT4* у розвитку таких патологій як хронічний червоний вовчак (ХЧВ), системний склероз, ревматоїдний артрит, алергічні реакції, астма

тощо [4, 3, 14, 2]. Найбільш виражені асоціації із даними патологіями було показано для поліморфізму *rs7574865*, який полягає в однонуклеотидній заміні гуаніну (G) на тимін (T) третьому інтрону гену. В нормі в інтроні знаходиться гуанін, але при мутації (транзиції) він замінюється на тимін [11, 13]. Щодо хронічного червоного вовчака з переважним ураженням шкіри, ці процеси вивчені недостатньо.

Ген *STAT4* (signal transducer and activator of transcription 4) знаходиться у хромосомі 2q людини та кодує білок, що відноситься до групи транскрипційних факторів STAT [16]. Білки STAT фосфорилуються за допомогою рецептор-асоційованих кіназ під впливом факторів росту та цитокінів, формують гомо- або гетеродимери та переносяться до ядра клітини. У ядрі білки STAT функціонують як активатори транскрипції. Вони мають велике значення у диференціюванні Т-хелперів, регуляції Th1/Th2 балансу. Білки *STAT4* переносять цитокінові сигнали від IL-13, IL-23, інтерферону-Г до Т-хелперів та моноцитів, що є сигналом для їхнього диференціювання та продукції інтерферону γ . Проте детальний механізм цього процесу досі залишається невідомим [17, 1].

Враховуючи вищевикладене ген *STAT4* можна розцінювати як один з важливих факторів у підтримці нормального імунного статусу організму, тому доцільно вивчити зв'язок однонуклеотидного поліморфізму із ХЧВ.

Матеріали та методи дослідження

У ході проведених досліджень нами були досліджені пацієнти хворі на ХЧВ, що знаходилися в умовах стаціонару та поліклініки ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України».

Нами був проаналізований поліморфізм *rs7574865* гену *STAT4*. Цей поліморфізм було досліджено у наступних груп хворих:

Дослідна група – 13 хворих на ХЧВ віком від 22 до 73 років (6 жінок, 7 чоловіків, середній вік хворих – $47,3 \pm 6,9$ року).

Контрольною групою слугували 23 практично здорових особи віком від 20 до 72 років (9 чоловік і 14 жінок), середній вік – $42,6 \pm 7,2$ року.

Статистичний аналіз проводили із використанням критерію Фішера F для оцінки різниці між частками з нерівновеликих вибірок, критерію χ^2 [17].

Виділення ДНК проводилося фенольним методом з лейкоцитів периферичної крові за стандартною методикою [18]. Дослідження генотипів за геном *STAT4* у хворих виконувалося методом сайт-

специфічної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Суть методу полягає у ПЛР на мутантні (TT – мутантна гомозигота, GT – мутантна гетерозигота) та нормальний (GG) генотипи за допомогою двох пар праймерів. Для нормального генотипу використовувалися праймери: Fwrs757 (GAA AAG TTG GTG ACC AAA ATG CG) та Rrs757 (GAC ACT TTG AGA GTT GCT TCG T). Для мутантного генотипу використовувалися праймери: FMrs757 (GAA AAG TTG GTG ACC AAA ATG GT) та Rrs757 (GAC ACT TTG AGA GTT GCT TCG T). Після проведення ПЛР проводилося визначення генотипів за допомогою електрофорезу в 1,5% агарозному гелі. Розмір утворених фрагментів ДНК гену STAT4 – 366 п.н. для обох (мутантних та нормального) фрагментів ДНК.

Отримані результати та їх обговорення

Були проведені дослідження rs7574865 поліморфізму гену STAT4 у хворих на ХЧВ, результати якого наведено у таблиці. У результаті досліджень можна спостерігати тенденцію превалювання мутантного алелю T у хворих обох статей.

Також було проаналізовано частоту генотипів rs7574865 STAT4 у хворих на ХЧВ та у контрольній групі (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл алелей та генотипів rs7574865 STAT4 у хворих на хронічний червоний вовчак

Група	Стать	n	Генотипи rs7574865 STAT4						Частоти алелей	
			GG		GT		TT		G	T
			f	%	f	%	f	%		
Хворі на ХЧВ	Чоловіча	7	3	42,86	4	57,14	0	0,00	0,71	0,29
	Жіноча	6	6	100,00	0	0,00	0	0,00	1,00	0,00
	Усього	13	9	69,23	4	30,77	0	0,00	0,85	0,15
Контроль	Чоловіча	9	9	100,00	0	0,00	0	0,00	1,00	0,00
	Жіноча	14	12	85,71	2	14,29	0	0,00	0,93	0,07
	Усього	23	21	91,30	2	8,70	0	0,00	0,96	0,04

Примітка: n – кількість обстежених, f – частоти.

При вивченні чоловіків групи контролю було показано достовірно превалювання нормального генотипу (GG) – 100,00±12%. У чоловіків, хворих на хронічний червоний вовчак, нормальний генотип GG спостерігався лише у 42,86±5,7% (p<0,01). Генотип GT (мутантна гетерозигота), який був повністю відсутній у контролі (0%), у хворих чоловіків спостерігався у 57,11±6,9% (p<0,01). У жінок різниці між хворими та контрольною групою виявлено не було.

При порівнюванні відсотка хворих на хронічний червоний вовчак з нормальним генотипом (GG) та мутантним генотипом (мутантна гетерозигота GT), виявили статистично достовірну різницю (рівень значимості 0,001) між частотою захворювання на хронічний червоний вовчак та поліморфізмом rs7574865 гену STAT4. Наявність даної мутації збільшувала ризик захворювання на хронічний червоний вовчак.

Висновки

1. Таким чином було показано взаємозв'язок між одонуклеотидним поліморфізмом rs7574865 гену STAT4 та розвитком хронічного червоного вовчака у чоловіків. Наявність одонуклеотидної заміни гуаніну (нормальний генотип GG) на тимін (GT мутантна гетерозигота) у третьому інтроні гену є фактором ризику для розвитку хронічного червоного вовчака, тому що у нормі в інтроні знаходиться гуанін, але при мутації (транзиції) він замінюється на тимін, що порушує нормальну транскрипцію з гену.

2. Розробка сучасних доступних для широкого використання генетичних методів дослідження дозволить визначити групи ризику, прогнозувати перебіг і рекомендувати відповідну тактику ведення хворих і методи первинної профілактики.

Література

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
2. Дядык А.И. Патогенез системной красной волчанки: настоящее и будущее / А.И. Дядык, А.Э. Багрий, И.В. Ракитская // Украинський ревматологічний журнал. – 2003. – № 1 (11). – С. 3–9.
3. Клинико-морфологическая диагностика и принципы лечения кожных болезней: рук-во для врачей / М.А. Пальцев, Н.Н. Потеекаев, И.А. Казанцева, С.С. Кряжева. – М.: Медицина, 2006. – 512 с.
4. Коваленко В.М. Медико-соціальні аспекти хвороб системи кровообігу (аналітично-статистичний посібник) / В.М. Коваленко, В.М. Корнацький. – Київ: МОЗУ, 2009. – С. 108–121.
5. Коваленко В.Н. Ревматология как одна из важнейших проблем медицины / В.Н. Коваленко, А.Г. Каминский // Укр. ревматол. журн. – 2000. – Т. 1, № 1. – С. 3–8.
6. Мавров И.И. Основы диагностики и лечения в дерматологии и венерологии: пособие для врачей, интернов и студентов / И.И. Мавров, Л.А. Болотная, И.М. Сербина. – Харьков: Факт, 2007. – 792 с.

7. Маниатис Т. Методы генной инженерии. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук; пер. с англ. - М.: Мир, 1984. - 480 с.

8. Мордовцев В.Н. Заболевания кожи с наследственным предрасположением / В.Н. Мордовцев, П.М. Алиева, А.С. Сергеев. - Махачкала : изд-во типографии ДНЦ РАН, 2002. - 260 с.

9. Неєлова О.В. Прогнозування та профілактика перинатальних ускладнень у жінок зі сполучнотканинними дисплазіями: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.01 «Акушерство та гінекологія» / О.В. Неєлова. - Харків, 2008. - 21 с.

10. Ardoin S.P. Developments of the scientific understanding of lupus / S.P. Ardoin, D.S. Pisetsky // *Athr. Res. Ther.* - 2008. - Vol. 10. - P. 218-226.

11. Association of genetic variations in the STAT4 and IRF7/KIAA1542 regions with systemic lupus erythematosus in a Northern Han Chinese population / P. Li, C. Cao, H. Luan [et al.] // *Hum. Immunol.* - 2011. - Vol. 72, № 3. - P. 249-255.

12. Current status of lupus genetics / A.L. Sestak, S.K. Nath, A.H. Sawalha, J.B. Harley // *Arthr. Res. Ther.* - 2008. - Vol. 9. - P. 210-219.

13. Hinks A. Overlap of disease susceptibility loci for rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis / A. Hinks, S. Eyre, X. Ke // *Ann. Rheum. Dis.* - 2010. - Vol. 69, № 6. - P. 1049-1053.

14. Palacios R. IgG antibody reactivity to *Borrelia burgdorferi sensu stricto* antigens in patients with morphea in Colombia / R. Palacios, A. Torres, R. Trujillo // *Int. J. Dermatol.* - 2003. - Vol. 42, № 11. - P. 882-886.

15. Rahman A. Mechanisms of the disease. Systemic lupus erythematosus / A. Rahman, D.A. Isenberg // *N. Engl. J. Med.* - 2008. - Vol. 358. - P. 929-939.

16. STAT4: genetics, mechanisms, and implications for autoimmunity review for current allergy and asthma reports / B.D. Korman, D.L. Kastner, P.K. Gregersen, E.F. Remmers // *Curr. Allergy Asthma Rep.* - 2008. - Vol. 8, № 5. - P. 398-403.

17. The STAT4 gene influences the genetic predisposition to systemic sclerosis phenotype / B. Rueda, J. Broen, C. Simeon [et al.] // *Human Molecular Genetics.* - 2009. - Vol. 18, № 11. - P. 2071-2077.

Резюме

Іванова Н.М., Кутасевич Я.Ф., Савенкова В.В., Реміз О.М. Взаємозв'язок між однонуклеотидним поліморфізмом RS7574865 гену *stat4* та розвитком червоного вовчака.

У результаті досліджень було виявлено тенденцію до превалювання мутантного алелю Т у хворих на хронічний червоний вовчак. У групі хворих чоловіків було знайдено превалювання генотипу GT (мутантна гетерозигота) у 57,11 ± 6,9%. У жінок різниці між хворими та контрольною групою виявлено не було. Було знайдено взаємозв'язок між однонуклеотидним поліморфізмом rs7574865 гену STAT4 та розвитком червоного вовчака у хворих. Наявність од-

нонуклеотидної заміни гуаніну на тимін у третьому інтроні є фактором ризику для розвитку хронічного червоного вовчака.

Ключові слова: хронічний червоний вовчак, ген STAT4, поліморфізм rs7574865.

Резюме

Іванова Н.Н., Кутасевич Я.Ф., Савенкова В.В., Реміз А.Н. Взаимосвязь между однонуклеотидным полиморфизмом RS7574865 гена *stat4* и развитием красной волчанки.

В результате исследований наблюдалась тенденция превалирования мутантного алеля Т у больных на хроническую красную волчанку. В группе больных мужчин было найдено превалирование генотипа GT (мутантная гетерозигота) в 57,11 ± 6,9%. У женщин различия между больными и контрольной группой выявлено не было. Была найдена взаимосвязь между однонуклеотидным полиморфизмом rs7574865 гена STAT4 и развитием красной волчанки у больных. Наличие однонуклеотидной замены гуанина на тимин в третьем интроне свидетельствовала о факторе риска для развития хронической красной волчанки.

Ключевые слова: хроническая красная волчанка, ген STAT4, полиморфизм rs7574865.

Summary

Ivanova N.N., Kutasevich Ya.F., Savenkova V.V., Remiz O.M. Relationship between single nucleotide polymorphisms RS7574865 of STAT4 gene and development of lupus erythematosus.

The studies tended prevalence of mutant Hallel T in patients with chronic lupus erythematosus. In the group of men with chronic lupus erythematosus have been found the prevalence of genotype GT (the mutant heterozygotes) in 57,11 ± 6,9%. In women the differences between patients and controls have been identified. Correlation was found between single nucleotide polymorphisms rs7574865 *stat4* gene and development of lupus erythematosus in patients. Availability of single nucleotide replacement of guanine to thymine in the third intron evidence of the risk factor for development of lupus erythematosus.

Key words: lupus erythematosus, *stat4* gene, polymorphisms rs7574865.

Рецензент: д.мед.н., проф. Е.М. Солошенко