

© Бутов Д.О., Шевченко О.С., Степаненко Г.Л., 2015
 УДК 616.24-002.5-076:57.083.3:575.174.015.3
 DOI

Д.О. Бутов, О.С. Шевченко, Г.Л. Степаненко

АСОЦІАЦІЯ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ ГОСТРОФАЗОВИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Харківський національний медичний університет

Обстежено 150 хворих на вперше діагностований туберкульоз легень (ВДТБ) та 30 відносно здорових (ВЗ). Було визначено рівень інтерлейкіна-2 (IL-2) та С-реактивний білок (CRP) у сироватці венозної крові імуноферментним способом. Крім того, було досліджено поліморфізм Т330G ділянок генів IL-2 та С3872Т – CRP у геномі людини методом полімеразної ланцюгової реакції.

До проведення хіміотерапії у хворих на ВДТБ достовірно підвищувався рівень IL-2 та CRP при зіставленні з ВЗ. Після проведеної двомісячної стандартної терапії спостерігалось достовірне зниження IL-2 та CRP. Значні зміни IL-2 та CRP достовірно асоційовані з мутаційною гомозиготою поліморфізму Т330G гену IL-2 та С3872Т – CRP у хворих на ВДТБ.

Мутаційний гомозиготний поліморфізм Т330G гену IL-2 та С3872Т – CRP, що визначає рівень продукції досліджуваних показників, є істотним чинником схильності до розвитку ВДТБ.

Ключові слова: туберкульоз легень, імунітет, поліморфізм генів, гострофазові показники, інтерлейкін-2, С-реактивний білок.

Туберкульоз – це інфекційне захворювання, спричинене мікобактеріями туберкульозу (МБТ). На сьогодні туберкульоз є глобальною, зростаючою проблемою охорони здоров'я у світі. За даними ВООЗ, приблизно одна третина населення світу інфікована МБТ, і тільки у 10 % людей, інфікованих збудником, розвиваються клінічні прояви захворювання [1]. Ці дані показують, що, на додаток до самої МБТ, розвиток туберкульозу після інфікування може також включати певні фактори організму людини, такі як генетика та імунітет макроорганізму [2].

Гострофазові показники є ключовими медіаторами імунної відповіді після трансплантації [3, 4]. Останнім часом особливу увагу при туберкульозному запаленні приділяють інтерлейкіну-2 (IL-2) та С-реактивному білку (CRP) [3, 5]. IL-2, який виробляється Т-клітинами в ході

імунної відповіді, має вирішальне значення для їх росту, проліферації, диференціювання і смерті. Він також бере участь у Т-клітинних функціях, таких як цитотоксичність та імунні регуляції [5]. CRP – класичний гострофазовий білок плазми крові, який розглядається як найбільш чутливий лабораторний маркер інфекції, запалення і тканинного ушкодження. CRP стимулює фагоцитоз, бере участь у взаємодії Т- і В-лімфоцитів, активує систему комплементу за класичним типом [6, 7].

Таким чином, метою нашого дослідження було вивчення асоціації поліморфізмів генів гострофазових показників у хворих на вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ) легень.

Матеріали і методи

Під нашим спостереженням було 150 хворих на вперше діагностований інфільтративний туберкульоз легень (I група) європейського походження, які проживають на території Харкова та Харківської області, віком від 20 до 70 років. У контрольну групу були включені 30 відносно здорових донорів (II група).

Рівень IL-2 та CRP у сироватці венозної крові вимірювали імуноферментним способом з використанням набору для імуноферментного дослідження фірми «Вектор-Бест» (Росія). Дослідження ділянок генів IL-2 поліморфізму Т330G та CRP поліморфізму С3872Т у геномі людини проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з флюоресцентною схемою детекції продуктів у режимі реального часу з використанням набору реагентів «SNP-експрес» (НВФ «Литех», Росія), згідно інструкції виробника. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою статистичних пакетів «Microsoft Excel» та «Statistica 7.0» [8].

Результати досліджень та їх обговорення

Відомо, що зміни у промоторній ділянці гену ведуть за собою зміни його активності. У зв'язку з чим відомо, що поліморфізми Т330G та С3872Т, які розташовані у ділянці промотора гену IL-2 та CRP, відповідно, теоретично призводять до заміни однієї амінокислоти на

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

другу в даних позиціях поліморфних генів, відносно точки початку ініціації транскрипції, що пов'язано з рівнем експресії гену, а відповідно з рівнем продукції білка. При аналізі залежності рівня секреції IL-2 та CRP від алельного варіанту поліморфізму T330G гену

IL-2 та C3872T гену CRP було виявлено, що у хворих на туберкульоз спостерігалось достовірне підвищення концентрації IL-2 та CRP у сироватці крові при порівнянні даної когорти хворих з відносно здоровими донорами ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1

Гострофазові показники сироватки крові хворих на туберкульоз легень і відносно здорових донорів

Група	n	Інтерлейкін-2, пг/л		С-реактивний білок, мг/л	
		до лікування	через 2 міс.	до лікування	через 2 міс.
I	150	35,34±0,71*	27,06±0,93*	5,43±0,07*	4,94±0,07*
II	30	21,60±0,80		3,91±0,20	

Примітки: * – розбіжність достовірною ($p < 0,001$) при зіставленні з відносно здоровими донорами; • – розбіжність достовірною ($p < 0,001$) при зіставленні до лікування і через два місяці у групі.

Після проведеної двомісячної стандартної терапії концентрація у крові IL-2 та CRP достовірно знизилася у хворих на туберкульоз легень при зіставленні з вмістом до лікування. При порівнянні даних показників після проведеної двомісячної терапії з відносно здоровими ми виявили, що рівні IL-2 та CRP були достовірно вищими, ніж у II групі.

Ці зміни продукції IL-2 та CRP можуть бути генетично детерміновані. Було виявлено, що у хворих на ВДТБ достовірно частіше реєструється гомозиготний GG і гетерозиготний TG генотип поліморфізму T330G гену IL-2 ($\chi^2=21,43$, $p < 0,01$) та гомозиготний TT і гетерозиготний

СТ генотип поліморфізму C3872T гену CRP ($\chi^2=21,27$, $p < 0,01$), ніж гомозиготний TT та CC, відповідно. Крім того, при зрівнянні гетерозиготного генотипу та мутаційної гомозиготи поліморфізму T330G гену IL-2 та C3872T гену CRP, у хворих на ВДТБ достовірно переважала мутаційна гомозигота над гетерозиготним генотипом ($t=5,29$ (IL-2) та $t=8,01$ (CRP), $p < 0,001$). Найбільш рідким у хворих на туберкульоз виявився гомозиготний генотип TT гену IL-2 та CC гену CRP. У практично здорових донорів частішим був гомозиготний генотип TT гену IL-2 та CC гену CRP ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблиця 2

Розподіл генотипів гострофазових показників у хворих на туберкульоз легень і практично здорових донорів

Генотип		Ген IL-2 поліморфізму T330G			Ген CRP поліморфізму C3872T		
		TG	GG	TT	CT	TT	CC
I група (n=150)	n	39	82	29	31	93	26
	p%± Sp%	26,00± 3,58	54,57± 4,06*☒	19,33± 3,22	20,67± 3,31	62,00± 3,96*☒	17,33± 3,09
II група (n=30)	n	5	7	18	5	8	17
	p%± Sp%	16,67± 6,80☐	23,33± 7,72*	60,00± 8,94	16,67± 6,80☐	26,67± 8,07*	56,67± 9,05

Примітки: ☒ – розбіжність достовірною ($p < 0,001$) при зіставленні мутаційної гомозиготи та гетерозиготного генотипу у I групі; * – розбіжність достовірною ($p < 0,05$) при зіставленні мутаційної та нормальної гомозиготи у групі; ☐ – розбіжність достовірною ($p < 0,05$) при зіставленні нормальної гомозиготи та гетерозиготного генотипу у групі.

При розрахунку показника відносного ризику виникнення туберкульозу легень з 95 % вірогідного інтервалу підтвердилось, що люди, які мають гомозиготний GG або гетерозиготний TG генотипи поліморфізму T330G гену

IL-2 (RR=1,47, [1,17;1,85, $p < 0,05$]) та гомозиготний TT або гетерозиготний CT генотипи поліморфізму C3872T гену CRP (RR=1,49, [1,16;1,91], $p < 0,05$), мають ризик захворіти на туберкульоз легень в 1,47 (IL-2) та 1,49 (CRP)

разу частіше, ніж люди, які мають гомозиготний генотип ТТ гену IL-2 та СС гену CRP (табл. 2).

Таким чином, відповідні генотипи гену IL-2 та гену CRP у цьому випадку можуть слугувати доказом генетичної схильності, що підтверджується при розрахунку прямої кореляції поліморфних генів та біологічно активних показників у сироватці крові хворих на туберкульоз легень, що призводять до патологічних змін показника IL-2 та CRP у сироватці крові хворих на туберкульоз при госпіталізації до стаціонару та через два місяці проведеного хіміотерапевтичного лікування.

Висновки

1. У стадії запалення у хворих на туберкульоз легень спостерігалось збільшення гострофазових показників у сироватці крові порівняно з відносно здоровими донорами.

2. Стандартна двомісячна хіміотерапія у хворих на туберкульоз легень забезпечує зниження досліджуваних гострофазових показників та може мати імуномодуляційну дію антизапального характеру.

3. IL-2 та CRP є імунними маркерами результатів лікування і можуть допомогти виявити краще стратегію лікування хворих на туберкульоз легень.

4. Значні зміни IL-2 та CRP у сироватці крові асоційовані з гомозиготними GG та гетерозиготними TG генотипами гену IL-2, гомозиготними TT та гетерозиготними СТ генотипами гену CRP у хворих на ВДТБ.

5. Імуногенетичними факторами, що мають протективний ефект у хворих на ВДТБ, є генотип TT поліморфізму T330G гену IL-2 та генотип СС поліморфізму C3872T гену CRP.

6. Гомозиготний генотип GG поліморфізму T330G гену IL-2 та генотип TT поліморфізму C3872T гену CRP переважали у хворих на ВДТБ.

Література

1. Bloom B.R. The evolving relation between humans and *Mycobacterium tuberculosis* / B.R. Bloom, P.M. Small // *N. Engl. J. Med.* – 1998. – N 10. – P. 677-680.
2. Association of interferon gamma and interleukin 10 genes with tuberculosis in Hong Kong Chinese / [H.W. Tso, W.K. Ip, W.P. Chong et al.] // *Genes. Immun.* – 2005. – Vol. 6, N 4. – P. 358-363.
3. Бутов Д.О. Динаміка імунологічних гострофазових показників крові у хворих на рецидив туберкульозу легень у процесі лікування / Д.О. Бутов // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.* – 2013. – № 3. – С. 28-32.

4. Differential early posttransplant cytokine responses in living and cadaver donor renal allografts / [M. Sadeghi, V. Daniel, R. Weimer et al.] // *Transplantation.* – 2003. – Vol. 75, N 8. – P. 1351-1355.

5. Intracellular IFN- γ and IL-2 expression monitoring as surrogate markers of the risk of acute rejection and personal drug response in de novo liver transplant recipients / [O. Millán, L. Rafael-Valdivia, E. Torrademé et al.] // *Cytokine.* – 2013. – Vol. 61, N 2. – P. 556-564.

6. C-reactive protein-mediated suppression of nephrotoxic nephritis: role of macrophages, complement, and Fc γ receptors / [W. Rodriguez, C. Mold, M. Kataranovski et al.] // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178, N 1. – P. 530-538.

7. Crystal structure of Fc γ receptor I and its implication in high affinity γ -immunoglobulin binding / [J. Lu, J.L. Ellsworth, N. Hamacher et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 286, N 47. – P. 40608-40613.

8. Лапач С.Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS OF GENES ACUTE PHASE PARAMETERS IN PATIENTS WITH NEWLY DIAGNOSED PULMONARY TUBERCULOSIS

D.O. Butov, O.S. Shevchenko, H.L. Stepanenko

SUMMARY. We examined 150 patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis (NDPT) and 30 healthy donors (HD). It was determined the level of interleukin-2 (IL-2) and C-reactive protein (CRP) in the serum of venous blood ELISA method. In addition, it was investigated polymorphism T330G gene IL-2 and C3872T – CRP in human *hennomi* by polymerase chain reaction.

Before the chemotherapy in patients with NDPT, there was a significant increase in IL-2 and CRP when compared with the HD. After the two-month standard therapy was observed a significant decrease in IL-2 and CRP. High changes IL-2 and CRP was significantly associated with a mutation homozygotes polymorphism T330G gene IL-2 and C3872T – CRP in patients with NDPT.

Mutation homozygous polymorphism T330G gene IL-2 and C3872T – CRP, which determines the level of production of the studied parameters, is a significant factor in susceptibility to NDPT.

Key words: pulmonary tuberculosis, immunity, gene polymorphism, acute phase parameters, interleukin-2, C-reactive protein.

Отримано 2.07.2015 р.