

© СМОЛЬНИКОВА М. В., ТЕРЕЩЕНКО С. Ю., КОНОПЛЕВА О. С., СМИРНОВА С. В.

УДК 575.174.015.3 : 616.248-053.2

DOI: 10.20333/2500136-2019-1-54-62

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ IL17A/F В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

М. В. Смольникова¹, С. Ю. Терещенко¹, О. С. Коноплева^{1,2}, С. В. Смирнова¹

¹Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярск 660022, Российская Федерация

²Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

Цель исследования. Изучить вовлеченность полиморфизмов генов-кандидатов IL17A (rs2275913) и IL17F (rs763780, rs2397084) в патогенез atopической бронхиальной астмы с различным уровнем контроля заболевания у детей европеоидного происхождения Восточной Сибири.

Материал и методы. Объектами исследования были дети европеоидного происхождения, больные тяжелой/среднетяжелой atopической бронхиальной астмой (АБА) с различным уровнем контроля над течением заболевания (n=211). Диагноз, степень тяжести, уровень контроля над течением заболевания устанавливались в соответствии с рекомендациями GINA. Выделены 2 группы больных АБА: с контролируемым (n=101) и неконтролируемым течением (n=110). Контрольная группа – практически здоровые индивиды (n=135). Амплификация участков генов цитокинов IL17A/F проводилась методом ПЦР и ПДРФ-анализа с последующей визуализацией результатов в УФ свете после электрофоретического разделения в 2 % агарозном геле.

Результаты. В результате проведенных исследований впервые получены данные о распределении генотипов и аллелей полиморфизмов IL17A/F у больных atopической бронхиальной астмой и в популяционной выборке европеоидного происхождения, проживающих в г. Красноярске. Редкими аллельными вариантами являются A* IL17A (rs2275913) и аллель G* IL17F (rs763780 и rs2397084), что согласуется с мировыми данными. Показаны статистически значимые отличия в распределении генотипов AG и GG IL17F (rs763780), а также генотипа GG IL17F (rs2397084) между больными астмой детьми и популяционной выборкой.

Заключение. Установлены генетические маркеры риска развития atopической бронхиальной астмы: генотипы AG и GG IL17F (rs763780), а также генотип GG* (rs2397084) являются предрасполагающими к развитию АБА и к ее неконтролируемому течению у детей. Полученные результаты исследования дополнили данные о вкладе полиморфизмов генов цитокинов семейства IL-17 в развитие atopической бронхиальной астмы и контроля течения заболевания у детей на примере европеоидной популяции г. Красноярска.

Ключевые слова: бронхиальная астма, патогенез, контроль заболевания, цитокины, IL-17, полиморфизм генов.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Смольникова МВ, Терещенко СЮ, Коноплева ОС, Смирнова СВ. Генетический полиморфизм IL17A/F в патогенезе бронхиальной астмы у детей. *Сибирское медицинское обозрение*. 2019;(1):54-62. DOI: 10.20333/2500136-2019-1-54-62

IL17A GENETIC / F POLYMORPHISM IN BRONCHIAL ASTHMA PATHOGENESIS IN CHILDREN

M. V. Smolnikova¹, S. Yu. Tereshchenko¹, O. S. Konopleva^{1,2}, S. V. Smirnova¹

¹Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

The aim of the research is to study the involvement of polymorphisms of IL17A (rs2275913) and IL17F candidate genes (rs763780, rs2397084) in pathogenesis of atopical bronchial asthma with different levels of disease control in children of Caucasian origin of Eastern Siberia.

Materials and methods. The objects of the study were children of Caucasian origin, patients with severe / moderate atopical bronchial asthma (ABA) with different levels of control over the course of the disease (n = 211). The diagnosis, severity, level of control over the course of the disease were established in accordance with the recommendations of GINA. Two groups of patients with ABA were defined: with controlled (n = 101) and uncontrolled flow (n = 110). The check group consisted of practically healthy individuals (n = 135). Amplification of the IL17A / F cytokine gene regions was carried out by PCR and RFLP analysis, followed by visualization of the results in UV light after electrophoretic separation in a 2 % agarose gel.

Results. As a result of the research, data on IL17A / F polytypes and alleles of polymorphisms distribution in patients with atopical bronchial asthma and in population sample of Caucasian origin living in Krasnoyarsk were obtained for the first time. Rare allelic variants are A* IL17A (rs2275913) and allele G* IL17F (rs763780 and rs2397084), which is consistent with global data. Statistically significant differences in the distribution of AG and GG IL17F genotypes (rs763780), as well as GG IL17F ones (rs2397084) between children with asthma and the population sample, are shown.

Conclusion. Genetic risk markers for the development of atopical bronchial asthma were established: AG and GG IL17F genotypes (rs763780) and the GG* one (rs2397084) are predisposing to ABA development and to its uncontrolled course in children. The results of the study supplemented the data on the contribution of polymorphisms of cytokine genes of the IL-17 family to the development of atopical bronchial asthma and the control of the course of the disease in children using the example of the Caucasoid population of Krasnoyarsk.

Key words: bronchial asthma, pathogenesis, disease control, cytokines, IL-17, gene polymorphism.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Smolnikova MV, Tereshchenko SYu, Konopleva OS, Smirnova SV. IL17A genetic / F polymorphism in bronchial asthma pathogenesis in children. *Siberian Medical Review*. 2019;(1):54-62. DOI: 10.20333/2500136-20195-1-54-62

Введение

Бронхиальная астма (БА) – наиболее распространенное и тяжелое заболевание бронхолегочной системы, связанное с хроническим воспалением, гиперсекрецией слизи, гиперреактивностью и ремоделированием дыхательных путей. Атопическая бронхиальная астма (АБА) является многофакторным заболеванием, и ее развитие зависит как от множества факторов окружающей среды, так и генетической компоненты. Генетические факторы риска развития АБА могут влиять на фенотип заболевания и степень контроля его течения. Неблагоприятный генетический фон реализуется при взаимодействии с факторами окружающей среды и проявляется в формировании патологического фенотипа. Предполагается, что степень контроля заболевания является генно-опосредованным процессом и во многом зависит от наличия того или иного аллельного варианта в генах медиаторов, участвующих в патогенезе АБА. Знания о генетических маркерах позволит прогнозировать течение АБА. Хорошо известна роль специфических Т-клеток и их цитокинов в патогенезе астмы [1-3]. Цитокины играют существенную роль в контроле всех стадий развития и поддержания аллергического воспаления, поэтому анализ регуляции их активности имеет большое значение для понимания молекулярных основ патогенеза АБА. Накопленные данные показывают, что Th2-клетки и их цитокины, такие как IL-4, IL-5 и IL-13 играют критическую роль в формировании и активации аллергического воспаления при астме. Недавние исследования расширили парадигму Th1/Th2 и привлекли внимание к Th17 клеткам, поскольку они отвечают за ряд патологических процессов [4, 5]. Th17-лимфоциты представляют третье поколение CD4+-клеток, что привело к разрешению некоторых несоответствий в парадигме Th1/Th2. IL-17-продуцирующие Т-клетки были сначала выделены из ревматоидной синовиальной ткани человека и показано, что они индуцируются микробными липопептидами [6]. Было показано, что увеличение экспрессии IL-17A, связано со многими хроническими воспалительными заболеваниями, в том числе с БА [7]. Эти результаты в конечном итоге привели к гипотезе о том, что продукция IL-17A фактически обозначает иную группу

CD4+ Th-клеток, которая в основном функционирует в воспалительных и аутоиммунных реакциях, вызывая высвобождение провоспалительных и нейтрофильных мобилизующих цитокинов [2, 5, 8]. Показано, что повышенная концентрация IL-17 в дыхательных путях больных БА коррелирует с увеличением инфильтрации нейтрофилами, образованием хемокина IL-8 и степенью гиперреактивности дыхательных путей [2]. Таким образом, полное понимание эффекторных функций Th17-клеток во время воспаления в бронхолегочной системе может быть ключом к окончательному контролю патогенеза БА [9].

Th17-клетки представляют собой семейство, отличное от клеток Th1, Th2 и Treg, характеризующихся продуцированием цитокинов семейства IL-17. Семейство IL-17 включает IL-17A (также называемый IL-17), IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (известный как IL-25) и IL-17F, в соответствии с порядком, в котором они были обнаружены [10]. Эти молекулы имеют сходную молекулярную массу 20-30 кДа и имеют перекрывающиеся, но не идентичные биологические активности. IL-17A и IL-17F являются членами семейства цитокинов IL-17, экспрессируемых Th17-клетками и ответственных за их патогенную активность. Эти два цитокина имеют самую высокую гомологию последовательности белка среди семейства IL-17 (приблизительно 50 %), а также общий рецептор (IL-17 рецептор A/IL-17 рецептор C комплекс), их гены расположены на хромосоме 6p12, а белки имеют сходные функции [10, 11]. IL-17F обнаружен в дыхательных путях астматиков, и уровень его экспрессии коррелирует с тяжестью заболевания. IL-17F способен индуцировать некоторые цитокины, хемокины и молекулы адгезии в бронхиальных эпителиальных клетках, эндотелиальных клетках, фибробластах и эозинофилах [12].

У больных БА уровень мРНК IL-17 и /или белки были повышены в индуцированной мокроте, бронхоальвеолярном лаваже (BAL) и сыворотке, а уровень IL-17 коррелировал со степенью тяжести заболевания, предполагая роль этого цитокина в ремоделировании дыхательных путей [13, 14]. Показано, что уровень IL-17 в сыворотке увеличивается в подгруппе больных тяжелой формой БА по сравнению со средней степенью тяжести, а значения выше 20 пг/

мл являются независимым фактором риска тяжелой формы заболевания [7]. Поддерживая эти наблюдения, функциональный анализ показал, что IL-17A и IL-17F способны стимулировать бронхиальные фибробласты, эпителиальные клетки и клетки гладкой мускулатуры и вызывать экспрессию различных цитокинов и хемокинов, включая IL-8, IL-6, IL-11 и CXCL1, которые важны для гранулопоза и нейтрофилов [15]. Способность IL-17A и IL-17F индуцировать миграцию нейтрофилов предполагает, что они участвуют в патогенезе тяжелой формы БА, основной характеристикой которой является нейтрофильное воспаление в дыхательных путях [14, 15]. Связь между IL-17A и IL-17F и воспалением дыхательных путей также была подтверждена экспериментально на моделях астмы у мышей [16]. Показана роль этих двух цитокинов в развитии эозинофильного воспаления. Фактически, мыши, дефицитные в рецепторах IL-17 или IL-17, имеют пониженную способность миграции эозинофилов в дыхательные пути из-за низкой экспрессии Th2 цитокинов, таких как IL-4 и IL-5, необходимых для привлечения эозинофилов [15,16]. Таким образом, перечисленные функции IL-17 предполагают, что этот мощный провоспалительный цитокин может осуществлять разнонаправленное действие в дыхательных путях.

Генетические исследования полиморфных генов могут служить способом, помогающим продемонстрировать связи между определенными белками и БА, характеризующиеся взаимодействием нескольких генов в разных хромосомах [3, 14, 17, 18]. Гены, кодирующие семейство IL-17, расположены на 6q12 хромосоме, при множественном сканировании генома показано, что это геномная область, связанная с определенными фенотипами БА [19]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что гены IL-17A и IL-17F могут быть генами кандидатами БА. В ряде исследований ранее изучали эти гены в разных популяциях и этнических группах, но из-за их высокой полиморфной вариации эти исследования не повторяли результаты друг друга [14, 20, 21]. Известны некоторые полиморфизмы в промоторном и кодирующих участках генов IL17, ассоциированные с уровнем концентрации IL-17 в сыворотке крови [22]. Таким образом, гены IL17A и IL17F и их рецепторы имеют функциональные полиморфизмы, которые могут влиять на уровень их экспрессии и, следовательно, на

предрасположенность к мультифакториальным заболеваниям.

В нашем исследовании мы предположили, что гены цитокинов IL-17A и IL-17F могут быть вовлечены в патогенез АБА с разной степенью контроля заболевания. Представляет интерес изучение полиморфизма -197G/A на основе его локализации в промоторной области гена IL-17A, а также выявленной связи между этим SNP с астмой у населения Китая [21]. Однонуклеотидные замены в промоторном регионе гена могут модифицировать связывание фактора транскрипции и, тем самым, влиять на скорость транскрипции и уровень продукции белка. Два других полиморфизма, изученных в гене IL-17F, находятся в кодирующей области в положениях 7383 A/G и 7488 A/G. Оба SNP локализованы в экзоне 3, вызывают замещение аденина на гуанин в последовательности ДНК и изменение аминокислоты в белковой последовательности. Первый SNP в позиции 7383A/G изменяет глутаминовую кислоту (GAG) на глицин (GGG) в аминокислоте 126 (Glu126Gly), а второй SNP в положении 7484A/G изменяет гистидин (CAT) на аргинин (CGT) в аминокислоте 161 (His161Arg, H161R), ранее была показана их связь с астмой и с нарушением IL-17F-сигнализацией *in vitro* [23].

Хотя симптомы БА у большинства больных легкой формой заболевания хорошо контролируются с помощью современных методов лечения, примерно 10% больных тяжелой астмой имеют плохой контроль, несмотря на высокую дозу базисной терапии. Изучение генетического полиморфизма семейства IL17, в контексте их участия в патогенезе АБА с позиции контроля над заболеванием, представляется перспективным, так как эти цитокины являются одними из ключевых регуляторов иммунного ответа при воспалении.

Цель исследования: изучить вовлеченность полиморфизмов генов-кандидатов IL17A (rs2275913) и IL17F (rs763780, rs2397084) в патогенез атопической бронхиальной астмы с различным уровнем контроля заболевания у детей европеоидного происхождения Восточной Сибири.

Материал и методы

В работе использовали образцы ДНК детей больных АБА и практически здоровых жителей г. Красноярск (n=346). Все обследованные или их родители дали письменное информированное согласие

на участие в исследовании. Протокол обследования больных и практически здоровых людей (контрольная группа) соответствовал этическим стандартам и был разрешен комитетом по биомедицинской этике НИИ МПС (Протокол № 12 от 10.12.2013 г.).

Были сформированы группы детей больных: среднетяжелой АБА с контролируемым течением заболевания (КАБА, n=101) и тяжелой/среднетяжелой АБА с неконтролируемым течением заболевания (НАБА, n=110). Диагноз, степень тяжести, уровень контроля над течением заболевания установлен в соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA. Контрольная группа сформирована из практически здоровых детей без признаков атопии (n=33, средний возраст $13,6 \pm 2,5$ лет), а также популяционной выборки без АБА и аллергии в анамнезе (n=102). Перед объединением популяционной выборки был проведен сравнительный анализ частоты аллелей в контрольных группах разного возраста, статистически значимых отличий не выявлено.

Общие критерии включения в исследование: диагноз АБА, среднетяжелое/тяжелое течение, отсутствие ОРВИ и других острых заболеваний на момент обследования, европеоидное происхождение (3 поколения). Использован тест по контролю над астмой (АСТтм). Критерии включения в контрольную группу: практически здоровые индивиды, отрицательный аллергологический анамнез, уровень общего IgE < 100 МЕ/мл, европеоидное происхождение (3 поколения).

Выделение ДНК проведено с использованием набора D1AtomDNAprep («Изоген», Россия). Молекулярно-генетическое определение аллельных вариантов генов IL17A (rs2275913), IL17F (rs763780, rs2397084) осуществляли методом рестрикционного анализа продуктов амплификации (ПДРФ – анализ) специфических участков генома. Амплификацию фрагмента ДНК генов IL17A (rs2275913) и IL17F (rs763780, rs2397084) проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) со специфическими олигонуклеотидными праймерами [14]. Температура отжига для IL17A составляла 53С, для IL17F – 60С. Гидролиз полученного фрагмента ДНК осуществляли с помощью специфической эндонуклеазы (рестриктазы): для IL17A (rs2275913) рестриктаза MroX I, для IL17F (rs763780) – Fat I, для IL17F (rs2397084) – BstMA I («Сибэнзим», Новосибирск). Рестрикционная смесь включала 15 мкл амплификата, 1,5 мкл 10хбуфера для

рестрикции, поставляемого фирмой-производителем, и 2-5 единиц активности фермента (в зависимости от эффективности его работы). Далее проводилось электрофоретическое разделение продуктов рестрикции и визуализация генотипов в ультрафиолетовом свете.

Количественные данные удовлетворяли нормальному закону распределения по критерию Шапиро-Уилкса и представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – ошибка среднего. Частота встречаемости качественных признаков выражена в абсолютных значениях и процентах. Статистически значимыми считались различия на уровне значимости $p < 0,05$. Частоты генотипов по полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга, сравнение частот аллелей и генотипов между группами проводили с помощью on-line калькулятора, теста хи-квадрат (http://gen-exp.ru/calculator_or.php). В качестве меры степени ассоциации генетических маркеров с фенотипами использовали величину отношения шансов (ОШ) с расчетом 95 % доверительного интервала (ДИ).

Результаты и обсуждение

Генетический полиморфизм цитокиновой сети влияет на уровень концентрации цитокинов в сыворотке крови, что в свою очередь оказывает эффект на формирование контролируемого или неконтролируемого течения АБА. В отношении бронхиальной астмы исследовано более 1300 генов, в том числе цитокинов и их рецепторов – данные на июль 2018 года, согласно системе Phenopedia (<https://phgkb.cdc.gov/PHGKB/startPagePhenoPedia.action>). Ассоциации между определенным аллельным вариантом генов и уровнем продукции описаны для ряда цитокинов. Некоторые из исследований имеют противоречивые данные о роли генетических факторов в патогенезе астмы. Цитокины IL-17A и IL-17F являются членами семейства IL-17, экспрессирующихся на Th17-клетках и ответственных за их патогенную активность. В результате проекта 1000Genomes (<http://www.1000genomes.org>) получены данные по целому ряду SNPs в генах IL-17 семейства, в том числе в промоторных, экзонах и интронных областях. Тем не менее, полиморфизмов, являющихся функциональными (влияющими на функции или структуру белка), немного и их вклад в патологию БА неоднозначен.

В проведенном исследовании изучена частота генотипов и аллельных вариантов генов IL17A

Таблица

Частоты генотипов и аллелей полиморфизмов генов IL17A/F у больных atopической бронхиальной астмой с различным уровнем контроля заболевания, % (n)

Table

Frequencies of genotypes and IL17A / F genes polymorphisms alleles in patients with atopical bronchial asthma with different levels of disease control, % (n)

Генотип	Группы				OR (95% CI)	p
	АБА (1), (n=211)	КАБА (2), (n=101)	НАБА (3), (n=110)	Контроль (4), (n=135)		
IL17A (rs2275913)						
GG	39,8 (84)	40,6 (41)	39,1 (43)	41,5 (56)	1,4 = 1,19 (0,86-1,63) 2,4 = 1,14 (0,78-1,66) 3,4 = 1,23 (0,85-1,78)	p1,4 = 0,29 p2,4 = 0,5 p3,4 = 0,27
GA	41,2 (87)	41,6 (42)	40,9 (45)	45,9 (62)		
AA	19,0 (40)	17,8 (18)	20,0 (22)	12,6 (17)		
A*	39,6	38,6	40,5	35,6		
IL17F (rs763780)						
AA	85,8 (181)	83,2 (84)	88,2 (97)	93,3 (126)	1,4 = 2,46 (1,16-5,23) 2,4 = 2,84 (1,25-6,45) 3,4 = 2,12 (0,91-4,95)	p1,4 = 0,02 p2,4 = 0,01 p3,4 = 0,08
AG	12,8 (27)	15,8 (16)	10,0 (11)	6,7 (9)		
GG	1,4 (3)	1,0 (1)	1,8 (2)	0 (0)		
G*	7,8	8,9	6,8	3,3		
IL17F (rs2397084)*						
AA	60,2 (127)	67,3 (68)	53,6 (59)	74,1 (100)	1,4 = 5,65 (1,67-19,10) 2,4 = 2,29 (0,53-9,82) 3,4 = 9,19 (2,64-31,96)	p1,4 = 0,001 p2,4 = 0,37 p3,4 = 0,000005
AG	28,4 (60)	27,7 (28)	29,1 (32)	23,7 (32)		
GG	11,4 (24)	5,0 (5)	17,3 (19)	2,2 (3)		
G*	25,6	18,8	31,8	14,1		

Примечание: Тест Харди-Вайнберга $p < 0,05$.
Note: Hardy-Weinberg test $p < 0,05$.

(rs2275913) и IL17F (rs763780, rs2397084) в выделенных клинических группах больных и в популяционной выборке г. Красноярск.

Полученные в ходе исследования частоты аллельных вариантов изученных генов в популяционной выборке и у больных соответствуют их распределению в европеоидных популяциях (согласно ресурсу www.ensembl.org). Вариантными аллелями являются аллель A* IL17A (rs2275913) и аллель G* IL17F (rs763780 и rs2397084).

При сравнении частоты распределения полиморфизма IL17A (rs2275913) не получено статистически значимых отличий между больными и популяционной выборкой (таблица). Полиморфизм rs2275913 в гене IL17A расположен в промоторном регионе, в положении G-197A. Хотя до настоящего времени его

функциональная роль неизвестна, описанные данные свидетельствуют о том, что он повышает активность промотора, что приводит к более высокой секреции цитокина IL-17A в индуцированной мокроте и бронхоальвеолярной лаважной жидкости [14, 20]. Полиморфизм IL17A (rs2275913) довольно активно изучается в отношении ассоциаций развития воспалительных многофакторных заболеваний. Так, показана ассоциация указанного полиморфизма с астмой в корейской популяции – дети, гомозиготные по мутантному аллелю A* имеют повышенный риск заболевания [24]. Тогда как среди финских детей с генотипами GA и AA астма возникала реже к 11-13 годам [25]. У китайцев генотип GA rs2275913 ассоциирован с астмой у детей и может способствовать повышенному риску ее возникновения [26]. Те же авторы провели

мета-анализ по результатам 12 исследований и сообщили, что полиморфизм IL17A (rs2275913) повышает риск развития астмы.

При сравнении частоты распределения полиморфизма IL17F (rs763780) нами показано статистически значимое отличие частот генотипов между больными АБА и популяционной выборкой. Генотипы с вариантным аллелем G* чаще встречаются у больных по отношению к контролю (OR 2,46 (1,16-5,23)), что может говорить о том, что генотипы AG и GG IL17F (rs763780) являются факторами риска развития АБА. Частота генотипа AG у больных контролируемой формой АБА статистически значимо выше, чем в популяционной выборке (15,8 % против 6,7 %, p=0,01). Можно предположить, что этот генотип является генетическим маркером контролируемого течения АБА. Наши данные соотносятся с результатами Qian с соавт., в китайской популяции аллельный вариант G* rs763780 ассоциирован с астмой [27]. Тогда как, в другой азиатской популяции – японской, полиморфизм rs763780 не ассоциирован с астмой. Это расхождение может быть связано с тем, что частота редкого аллеля G (rs763780) была выше у здоровых из популяционной выборки японцев (11,4%) по сравнению с европейскими американцами (4,5 %), что может быть вызвано генетической гетерогенностью и различиями в факторах окружающей среды [28]. Межпопуляционные различия очевидны, в связи с чем, для каждой популяции существуют определенные генетические маркеры. Поскольку астма является многофакторной по своей природе, ни один ген не связан с ней независимо. Поэтому тщательный поиск генов восприимчивости необходим в тех популяциях, где астма очень распространена, в том числе среди русских европеоидов Восточной Сибири.

В отношении полиморфизма IL17F (rs2397084) мы получили статистически значимо высокую частоту вариантного аллеля G* среди больных АБА. У больных с неконтролируемым течением заболевания гомозиготный генотип GG значительно чаще встречается в сравнении с популяционной выборкой (17,3 % против 2,2 %). Поскольку распределение генотипов IL17F (rs2397084) не соответствовало равновесию Харди-Вайнберга, для расчета отношения шансов была использована общая модель наследования, а не мультипликативная, как в случае с двумя другими исследованными полиморфизмами IL17A/F.

Оценивалась роль гомозиготного генотипа по вариантному аллелю. Несмотря на то, что в связи с этим в следующих поколениях распределение частот аллелей и генотипов может измениться, в результате данного исследования можно говорить о генотипе GG* rs2397084 как предрасполагающем к развитию АБА и ее неконтролируемому течению у детей. Эти результаты согласуются с данными литературы, которые свидетельствуют о патобиологической роли IL-17 именно в отношении тяжелой формы и неконтролируемого течения БА [2].

Уровень IL-17F, наряду с IL-17A значительно выше в плазме у пациентов с астмой, чем в контрольной группе [14, 20]. IL-17F индуцирует несколько типов клеток (включая бронхиальные эпителиальные клетки) для экспрессии цитокинов, хемокинов, факторов роста и молекул адгезии, включая IL-8, GM-CSF, TGF- β , и другие. Эти молекулы играют решающую роль в рекрутировании и активации лейкоцитов и ремоделировании дыхательных путей при астме [20, 28]. Гены IL17A/F и их рецепторы имеют функциональные полиморфизмы, которые могут изменять уровень их экспрессии, следовательно, влиять на предрасположенность к многофакторным заболеваниям. В связи с этим, во многих исследованиях изучалась потенциальная роль полиморфизмов генов IL17 и уровней IL-17 в отношении риска развития таких аутоиммунных и аллергологических заболеваний, как ревматоидный артрит, псориатический артрит, бронхиальная астма [2, 14, 22, 29]. Проведение исследований функциональной роли изученных SNPs даст возможность дальнейшего понимания их роли и механизма действия при развитии бронхиальной астмы и степени контроля над заболеванием.

Заключение

Бронхиальная астма представляет собой сложное гетерогенное заболевание с рядом молекулярных иммунопатологических механизмов, лежащих в основе воспаления дыхательных путей и гиперреактивности бронхов. Первоначальная классификация Th-клеток и вовлеченность в патогенез АБА Th2-лимфоцитов в последнее время была расширена за счет включения дополнительных эффекторных семейств, к которым относятся Th17-, Th9- и Treg-клетки. Данные последних лет указывают на участие этих подтипов Th-клеток в иницировании и усилении воспаления

дыхательных путей при бронхиальной астме. Более четкое понимание роли вовлеченных в иммунопатогенез бронхиальной астмы различных субпопуляций Th-лимфоцитов и продуцируемых ими цитокинов позволит разработать целенаправленную цитокино-терапию и улучшить контроль заболевания.

В данном исследовании мы впервые показали распределение частоты генотипов полиморфизмов IL17A (rs2275913) и IL17F (rs763780, rs2397084) при АБА у европеоидов г. Красноярск. Полиморфизм rs2275913 локализован в промоторном регионе гена IL17A, и оказывает влияние на уровень экспрессии, тогда как полиморфизмы rs763780 и rs2397084 расположены в 3 экзоне гена IL17F и обуславливают замену аминокислот. Частоты аллельных вариантов изученных полиморфизмов соответствуют распределениям в других европеоидных популяциях мира. В результате исследования установлено, что у больных АБА частота распределения генотипов полиморфизмов IL17A (rs2275913) соответствует европейским популяциям и значимо не отличается от популяционной выборки. Кроме этого, показано, что генотипы AG и GG IL17F (rs763780) чаще встречаются у больных АБА, являясь генетическими маркерами риска развития АБА. Генотип GG* rs2397084 является предрасполагающим к развитию АБА и к ее неконтролируемому течению у детей.

Ранее нами была установлена ассоциация полиморфизмов генов IL2, IL4 и TNFA с контролируемым и неконтролируемым течением АБА [30]. Эти данные для европеоидной популяции Восточной Сибири получены впервые и представляют интерес с точки зрения пополнения данных о вкладе полиморфизмов генов цитокинов в развитие АБА и контроля течения заболевания у детей.

Таким образом, полученные данные подтверждают, что Th17-лимфоциты, полиморфизм их генов и их метаболиты, наряду с Th2-лимфоцитами, играют важную роль в патогенезе атопической бронхиальной астмы, а некоторые однонуклеотидные замены являются генетическими маркерами развития заболевания и степени его контролирования.

Литература/ References

1. Hamzaoui A, Maalmi H, Berraïes A, Abid H, Ammar J, Hamzaoui K. Transcriptional characteristics of CD4 T

cells in young asthmatic children: RORC and FOXP3 axis. *Journal of Inflammation Research*. 2011; (4):139-46. DOI: 10.2147/JIR.S25314

2. Wang YH, Wills-Karp M. The potential role of interleukin-17 in severe asthma. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2011; 11(5):388-94. DOI: 10.1007/s11882-011-0210-y

3. Bijanzadeh M, Mahesh PA, Ramachandra NB. An understanding of the genetic basis of asthma. *The Indian Journal of Medical Research*. 2011; (134):149-61.

4. Souwer Y, Szegedi K, Kapsenberg ML, de Jong EC. IL-17 and IL-22 in atopic allergic disease. *Current Opinion in Immunology*. 2010; (22):821-826. DOI: 10.1016/j.coi.2010.10.013.

5. Nakajima H, Hirose K. Role of IL-23 and Th17 cells in airway inflammation in asthma. *Immune Network*. 2010; (10):1-4. DOI: 10.4110/in.2010.10.1.1

6. Infante-Duarte C, Horton HF, Byrne MC, Kamradt T. Microbial lipopeptides induce the production of IL-17 in Th cells. *The Journal of Immunology*. 2000;165(11):6107-15.

7. Agache I, Ciobanu C, Agache C, Anghel M. Increased serum IL-17 is an independent risk factor for severe asthma. *Respiratory Medicine*. 2010; 104(8):1131-7. DOI: 10.1016/j.rmed.2010.02.018

8. Bettelli E, Korn T, Oukka M, Kuchroo VK. Induction and effector functions of T(H)17 cells. *Nature*. 2008; 19;453(7198):1051-7. DOI: 10.1038/nature07036

9. Durrant DM, Metzger DW. Emerging roles of T helper subsets in the pathogenesis of asthma. *Immunological Investigations*. 2010; 39(4-5):526-49. DOI: 10.3109/08820131003615498

10. Kawaguchi M, Adachi M, Oda N, Kokubu F, Huang SK. IL-17 cytokine family. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2004; 114(6):1265-73; quiz 1274

11. Awasthi A, Kuchroo VK. Th17 cells: from precursors to players in inflammation and infection. *International Immunology*. 2009; 21(5):489-98. DOI: 10.1093/intimm/dxp021

12. Kawaguchi M, Kokubu F, Fujita J, Huang SK, Hizawa N. Role of interleukin-17F in asthma. *Inflammation and Allergy - Drug Targets*. 2009; 8(5):383-9.

13. Bullens DM, Truyen E, Coteur L, Dilissen E, Hellings PW, Dupont LJ, Ceuppens JL. IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? *Respiratory Research*. 2006; 3(7):135.

14. Maalmi H, Beraies A, Charad R, Ammar J, Hamzaoui K, Hamzaoui A. IL-17A and IL-17F genes variants and susceptibility to childhood asthma in Tunisia. *The Journal of Asthma*. 2014;51(4):348-54. DOI: 10.3109/02770903.2013.876647
15. Iwakura Y, Nakae S, Saijo S, Ishigame H. The roles of IL-17A in inflammatory immune responses and host defense against pathogens. *Immunological Reviews*. 2008; (226):57-79. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00699.x.
16. Nakae S, Komiyama Y, Nambu A, Sudo K, Iwase M, Homma I, Sekikawa K, Asano M, Iwakura Y. Antigen-specific T cell sensitization is impaired in IL-17-deficient mice, causing suppression of allergic cellular and humoral responses. *Immunity*. 2002; 17(3):375-87.
17. Смольникова МВ, Смирнова СВ, Тютина ОС. Полиморфизм генов цитокинов при atopической бронхиальной астме. *Сибирское медицинское обозрение*. 2013; 2(80):3-9. [Smolnikova MV, Smirnova SV, Tutina OS. Polymorphism of cytokine genes in atopic bronchial asthma. *Siberian Medical Review*. 2013; (2): 3-9. (In Russian)].
18. Saik OV, Demenkov PS, Ivanisenko TV, Bragina EY, Freidin MB, Goncharova IA, Dosenko VE, Zolotareva OI, Hofstaedt R, Lavrik IN, Rogaev EI, Ivanisenko VA. Novel candidate genes important for asthma and hypertension comorbidity revealed from associative gene networks. *BMC Medical Genomics*. 2018; 13;11(1):15. DOI: 10.1186/s12920-018-0331-4
19. Haagerup A, Bjerke T, Schiøtz PO, Binderup HG, Dahl R, Kruse TA. Asthma and atopy - a total genome scan for susceptibility genes. *Allergy*. 2002; 57(8):680-6.
20. Bazzi MD, Sultan MA, Al Tassan N, Alanazi M, Al-Amri A, Al-Hajjaj MS, Al-Muhsen S, Alba-Concepcion K, Warsy A. Interleukin 17A and F and asthma in Saudi Arabia: gene polymorphisms and protein levels. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. 2011; 21(7):551-5.
21. Chen J, Deng Y, Zhao J, Luo Z, Peng W, Yang J, Ren L, Wang L, Fu Z, Yang X, Liu E. The polymorphism of IL-17 G-152A was associated with childhood asthma and bacterial colonization of the hypopharynx in bronchiolitis. *Journal of Clinical Immunology*. 2010; 30(4):539-45. DOI: 10.1007/s10875-010-9391-8
22. Paradowska-Gorycka A, Wojtecka-Lukasik E, Trefler J, Wojciechowska B, Lacki JK, Maslinski S. Association between IL-17F gene polymorphisms and susceptibility to and severity of rheumatoid arthritis (RA). *Scandinavian Journal of Immunology*. 2010;72(2):134-41. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2010.02411.x
23. Kawaguchi M, Takahashi D, Hizawa N, Suzuki S, Matsukura S, Kokubu F, Maeda Y, Fukui Y, Konno S, Huang SK, Nishimura M, Adachi M. IL-17F sequence variant (His161Arg) is associated with protection against asthma and antagonizes wild-type IL-17F activity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006;117(4):795-801.
24. Chen J, Deng Y, Zhao J, Luo Z, Peng W, Yang J, Ren L, Wang L, Fu Z, Yang X, Liu E. The polymorphism of IL-17 G-152A was associated with childhood asthma and bacterial colonization of the hypopharynx in bronchiolitis. *Journal of Clinical Immunology*. 2010; 30(4):539-45. DOI: 10.1007/s10875-010-9391-8
25. Holster A, Teräsjärvi J, Lauhkonen E, Törmänen S, Helminen M, Koponen P, Korppi M, Peltola V, He Q, Nuolivirta K. IL-17A gene polymorphism rs2275913 is associated with the development of asthma after bronchiolitis in infancy. *Allergology International*. 2018; 67(1):109-113. DOI: 10.1016/j.alit.2017.05.010
26. Du J, Han JC, Zhang YJ, Qi GB, Li HB, Zhang YJ, Cai S. Single-Nucleotide Polymorphisms of IL-17 Gene Are Associated with Asthma Susceptibility in an Asian Population. *Medical Science Monitor*. 2016;8(22):780-7.
27. Qian F, Zhang Q, Zhou L, Ma G, Jin G, Huang Q, Yin K. Association between polymorphisms in IL17F and male asthma in a Chinese population. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*. 2012;22(4):257-63.
28. Kawaguchi M, Takahashi D, Hizawa N, Suzuki S, Matsukura S, Kokubu F, Maeda Y, Fukui Y, Konno S, Huang SK, Nishimura M, Adachi M. IL-17F sequence variant (His161Arg) is associated with protection against asthma and antagonizes wild-type IL-17F activity. *Journal of Clinical Immunology*. 2006;117(4):795-801.
29. Смольникова МВ, Смирнова СВ. Генетические факторы в иммунопатогенезе псориаза и псориазического артрита. *Медицинская иммунология*. 2014; 3(16):211-220. [Smolnikova MV, Smirnova SV. Genetic factors in the immunopathogenesis of psoriasis and psoriatic arthritis. *Medical Immunology*. 2014; 3(16):211-220. (In Russian)]
30. Смольникова МВ, Фрейдin МВ, Смирнова СВ. Гены цитокинов как генетические маркеры atopической бронхиальной астмы с контролируемым и неконтролируемым течением. *Медицинская иммунология*.

2017; 5(19):597-604. [Smolnikova MV, Freidin MB, Smirnova SV. Genes of cytokines as genetic markers of atopic bronchial asthma with controlled and uncontrolled course. *Medical Immunology*. 2017; 5(19):597-604. (In Russian)] DOI:<http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2017-5-605-614>

Сведения об авторах

Смольникова Марина Викторовна, к.б.н., Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; тел.: +7 (391)2280681, e-mail: smarinv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9984-2029>

Терещенко Сергей Юрьевич, д.м.н., профессор, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; тел.: +7 (391) 2280681, e-mail: legise@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1605-7859>

Коноплева Ольга Сергеевна, к.м.н., Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д.1; тел.: +7 (391) 2280681, +7 (391) 2280683, e-mail: olya_tyutina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7203-7131>

Смирнова Светлана Витальевна, д.м.н., профессор, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г; тел.: +7 (391) 2280681, +7 (391) 2280683, e-mail: svetvita@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1197-1481>

Author information

Marina V. Smolnikova, Cand.Biol.Sci., Scientific Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3G, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7 (391)2280681, e-mail: smarinv@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9984-2029>

Sergey Y. Tereshchenko, Dr.Med.Sci., Professor, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3G, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7 (391) 2280681, e-mail: legise@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1605-7859>

Olga S. Konopleva, Cand.Med.Sci., Scientific Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3G, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022; Phone:+7 (391) 2280681; e-mail: olya_tyutina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7203-7131>

Svetlana V. Smirnova, Dr.Med.Sci., Professor, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North; Address: 3G, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone:+7 (391) 2280681, +7 (391) 2280683; e-mail: svetvita@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1197-1481>

Поступила 19.07.2018 г.

Принята к печати 06.12.2018 г.

Received 19 July 2018

Accepted for publication 06 December 2018