

В.Ш. АЛИЕВА<sup>1</sup>, Х.Я. КАРИМОВ<sup>2</sup>,  
А.А. НАЗАРОВ<sup>1</sup>, С.С. АРИФОВ<sup>2</sup>, К.Т. БОБОЕВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Республиканский научно-специализированный аллергологический  
центр МЗ Республики Узбекистан, Ташкент

<sup>2</sup> НИИ гематологии и переливания крови МЗ Республики Узбекистан,  
Ташкент

E-mail: abdukadir\_babaev@mail.ru

## АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА 49A/G ГЕНА *CTLA4* С РАЗВИТИЕМ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА



*Проведен анализ частоты встречаемости полиморфизма 49A/G гена *CTLA4* среди 44 больных с аллергическим ринитом и 70 условно здоровых доноров узбекской популяции. Частота «неблагоприятного аллеля» упомянутого полиморфизма в общих обследованных группах и группах контроля практически не отличалась, составляя 73,3 и 72,9 % соответственно. Сравнительный анализ распределения полиморфизма 49A/G *CTLA4* между группами пациентов с аллергическим ринитом (в зависимости от течения болезни, пола больного) и контрольной группой также не выявил статистически значимых различий. Однако 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.*

© В.Ш. АЛИЕВА, Х.Я. КАРИМОВ, А.А. НАЗАРОВ,  
С.С. АРИФОВ, К.Т. БОБОЕВ, 2010

**Введение.** Согласно современной концепции, аллергический ринит (АР) относится к заболеваниям мультифакториальной природы, риск развития которого обусловлен взаимодействием определенных генов с этиологически значимыми средовыми факторами. В основе формирования заболевания лежит атопическое IgE-опосредованное аллергическое воспаление, главными участниками, которого являются Т-лимфоциты и другие клетки иммунной системы организма.

Как известно, ген *CTLA4* участвует в регуляции активации Т-лимфоцитов, таким образом, играя важную роль в формировании аутоиммунных процессов, обусловленных действием этих клеток [1]. Ген *CTLA4* расположен в хромосомной области 2q33 и состоит из четырех экзонов. Замена нуклеотида А на G, происходящая в положении 49 упомянутого гена, связывается с развитием целого ряда аутоиммунных заболеваний [2], инсулинзависимого сахарного диабета [3], системной красной волчанки [4], ревматоидного артрита [5], рассеянного склероза [6], атопического дерматита [7] и т.д. [8–10].

Поскольку в основе патогенеза затяжной формы АР тоже лежит воспаление, хроническое течение которого поддерживается измененным спектром клеток иммунной системы, целью настоящего исследования явилось изучение возможных ассоциаций полиморфного маркера 49A/G гена *CTLA4* с манифестацией АР.

**Материалы и методы.** Материалом для молекулярно-генетического исследования служила периферическая кровь 44 больных с АР (основная группа) и 70 условно здоровых доноров (контрольная группа). С учетом клинической формы заболевания основная группа была разделена на две подгруппы: первая — сезонная (19 больных), вторая — круглогодичная (25 больных). Среди обследованных количество больных лиц мужского пола составило 15, женского — 29. Выделение ДНК проводили по стандартной методике [11] с некоторыми модификациями. Идентификацию аллелей полиморфизма 49A/G осуществляли с использованием полимеразной цепной реакции на программируемом термоциклере фирмы «Applied Biosystems» (США), дальнейшего расщепления фрагментов ДНК рестриктазой при условиях, рекомендованных фирмой-изготовителем. Продукты амплификации фрагментов

ДНК и полноту рестрикции разделяли в 2–3%-ном агарозном геле и оценивали после окраски этидиум бромидом в проходящем УФ свете.

Частоту вариантов аллелей и генотипов ( $f$ ) вычисляли по формуле

$$f = n/2N \text{ и } f = n/N,$$

где  $n$  – встречаемость варианта (аллеля или генотипа),  $N$  – объем выборки.

Относительный риск (OR) развития заболевания рассчитывали по стандартной формуле

$$OR = a/b \cdot d/c,$$

где  $a$  и  $b$  – количество больных, имеющих и не имеющих мутантный генотип соответственно;  $c$  и  $d$  – количество человек в контрольной группе, имеющих и не имеющих мутантный генотип соответственно.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Сравнительный анализ частоты распределения полиморфного маркера 49A/G гена-кандидата *CTLA4* между общей группой больных и подгруппами по половому признаку с группой контроля представлен в табл. 1. Установлено, что частота встречаемости полиморфизма 49A/G *CTLA4* у больных основной группы составила 73,3, из них 45,5 % имели гетерозиготный (A/G), 27,8 % – гомозиготный (G/G) вариант генотипа. В группе условно здоровых доноров частота встречаемости указанного полиморфизма составила 72,9 % (47,2 % – A/G и 25,7 % – G/G). При этом вероятность риска развития АР среди носителей данного генетического маркера оказалась статистически незначимой ( $\chi^2 = 0,0002$ , OR = 0,99, P > 0,05). Анализ распределе-

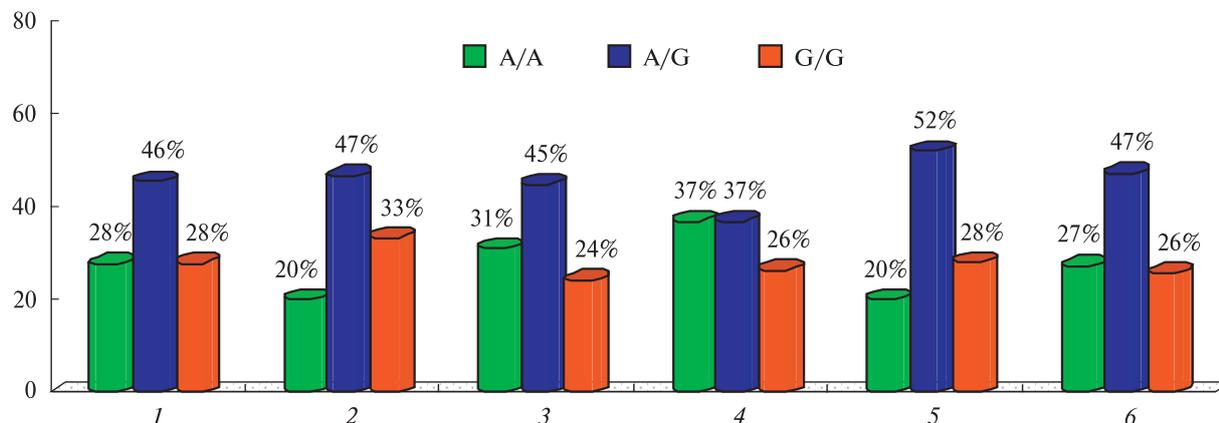
ния отдельных аллелей и генотипов полиморфизма 49A/G гена *CTLA4* выявил как незначительное снижение, так и незначительное воз-растание доли аллелей и генотипа у больных основной группы и обеих подгрупп по сравнению с контрольной группой. Так, при исследовании распределения аллелей (A и G) полиморфного маркера 49A/G гена *CTLA4* у больных основной группы больных и в контрольной группе не были выявлены статистически значимые различия в частоте встречаемости нормального аллеля А (50,0 и 50,7 % соответственно). Мутантный аллель G в этих группах встречался с частотой 50,0 и 49,3 % соответственно. Анализ распределения генотипов показал, что наиболее распространенным генотипом среди обследованных групп оказался гетерозиготный аллель A/G (45,5 % в группе больных и 47,5 % в контрольной группе). Гомозиготные генотипы A/A и G/G встречались почти с одинаковой частотой – их доля в выборке больных с АР и в группе здоровых доноров составила 27,7 и 27,3 %, а также 27,8 и 25,7 % соответственно.

При исследовании распределения аллелей и генотипов упомянутого полиморфного маркера в зависимости от пола среди больных АР обнаружено значительное преобладание частоты неблагоприятного аллеля G в исследованной группе мужчин по сравнению с группой женщин (56,7 и 46,6 % соответственно), а также по сравнению с общей исследованной контрольной группой (49,3 %). Показатель частоты встречаемости здорового аллеля А исследуемого локуса среди мужчин также значительно ниже (43,3 %), чем у пациентов женского пола (53,4 %) и в контрольной группе (50,7 %),

Таблица 1

Частота аллелей и распределение генотипов 49A/G гена *CTLA4* среди больных с АР и в контрольной группе

Обследованные группы	Всего обследованных	Частота распределения аллелей, %		Частота распределения генотипов 49A/G гена <i>CTLA4</i>					
		A	G	A/A		A/G		G/G	
				<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Общая группа	44	50,0	50,0	12	27,7	20	45,5	12	27,8
Из них									
подгруппа мужчин	15	43,3	56,7	3	20,0	7	46,7	5	33,3
подгруппа женщин	29	53,4	46,6	9	31,0	13	44,8	7	24,1
Контроль	70	50,7	49,3	19	27,1	33	47,2	18	25,7



Сравнительный анализ частоты встречаемости полиморфизма 49A/G гена *CTLA4* среди больных с АР и в контрольной группе: 1 – общая группа ( $n = 44$ ); 2 – мужчины ( $n = 15$ ); 3 – женщины ( $n = 29$ ); 4 – сезонная форма ( $n = 19$ ); 5 – круглогодичная ( $n = 25$ ); 6 – контроль ( $n = 70$ )

однако эти отличия были статистически незначимыми ( $P > 0,05$ ).

Распределения генотипов 49A/G *CTLA4* маркера среди обследованных подгрупп выглядела таким образом: показатель гомозиготности аллеля А/А среди мужчин намного ниже (20,0 %), чем у женщин (31,0 %), и незначительно ниже по сравнению с общими обследованными группами (27,7 %) и контрольной группой (27,1 %). Частота встречаемости неблагоприятного гомозиготного генотипа G/G среди обследованных групп мужчин оказалась значительно выше (33,3 %), чем у женщин (24,1 %) и в контрольной группе (25,7 %), однако эти различия также оказались статистически незначимыми ( $P > 0,05$ ). Показатели гетерозиготности генотипа А/Г гена *CTLA4* среди больных с АР (45,5 %) и в контрольной группе

(47,2 %), а также между обследованными мужчинами (46,7 %) и женщинами (44,8 %), как и в остальных случаях, не выявили достоверных различий ( $P > 0,05$ ) (рисунок).

При сравнительном анализе частот аллельного варианта 49A/G гена *CTLA4* между подгруппами по характеру течения заболевания АР (сезонная и круглогодичная формы) и контролем выявлены статистически значимые отличия. Частота встречаемости аллелей А и G в исследованных группах составила 55,3 и 44,7 % в подгруппе с сезонной формой, 46,0 и 54,0 % – в подгруппе больных с круглогодичной формой АР (табл. 2). При этом частота встречаемости мутантного аллеля G в обеих обследованных подгруппах больных сильно не отличалась при сравнении с контрольной группой (49,3 %,  $P > 0,05$ ).

Таблица 2

Частота аллелей и распределение генотипов 49A/G гена *CTLA4* среди различных форм АР

Форма АР	Всего обследованных	Частота распределения аллелей, %		Частота распределения генотипов 49A/G гена <i>CTLA4</i>					
		А	G	A/A		A/G		G/G	
				n	%	n	%	n	%
Общая группа	44	50,0	50,0	12	27,7	20	45,5	12	27,8
Из них									
сезонная форма	19	55,3	44,7	7	36,8	7	36,8	5	26,3
круглогодичная форма	25	46,0	54,0	5	20,0	13	52,0	7	28,0
Контроль	70	50,7	49,3	19	27,1	33	47,2	18	25,7

Анализ распределения исследуемого аллельного полиморфизма в нашей популяции показал, что среди больных с круглогодичной формой АР доля лиц с суммарными гетеро- и гомозиготными мутантными генотипами почти в 1,3 раза превышала долю больных с сезонной формой (80,0 % по сравнению с 63,1 %,  $\chi^2 = 1,54$ ), и незначительно – контрольную группу (80,0 % по сравнению с 72,9 %,  $\chi^2 = 0,5$ , OR = 1,49). Преобладание числа носителей мутантного генотипа в этой исследованной подгруппе больных может свидетельствовать о существовании патогенетической связи между упомянутым генетическим полиморфизмом и круглогодичной формой АР. Однако для окончательной оценки прогностического значения данного генетического маркера в развитии круглогодичной формы АР и его клинического течения, по-видимому, требуется большее количество исследуемых пациентов и более длительное наблюдение.

Суммируя полученные результаты, можно заключить, что, несмотря на хорошо документированную роль генетического детерминанта 49A/G CTLA4 в патогенезе воспалительных процессов и в развитии целого ряда аутоиммунных заболеваний, полученные нами данные не позволяют говорить о том, что исследуемый полиморфизм является значимым генетическим фактором риска формирования аллергического ринита (особенно сезонной формы). Для того чтобы окончательно оценить значение генетического фактора в развитии такого мультифакториального заболевания, как АР, в дальнейшем было бы интересно расширить круг исследуемых генов-кандидатов. Результаты исследований будут являться еще одним шагом в развитии предиктивной медицины ближайшего будущего.

**Выводы.** Частота «функционально неблагоприятного» генотипа 49A/G CTLA4 между группами больных в зависимости от пола и течения (сезонной формы) с контролем были незначительными и носили статистически недостоверный характер, что свидетельствует о возможном отсутствии ассоциации между развитием АР в этих группах и исследуемым полиморфизмом. Частота встречаемости полиморфизма 49A/G CTLA4 у больных с круглогодичной формой АР почти в 1,3 раза превышала аналогичный пока-

затель при сезонной форме (80,0 % по сравнению с 63,1 %) и незначительно в контрольной группе (80,0 % по сравнению с 72,91 %). Однако для окончательной оценки прогностического значения упомянутого полиморфизма в развитии круглогодичной формы АР и его клинического течения необходимо большее количество исследуемых пациентов и более длительное наблюдение этих больных.

*V.Sh. Alieva, H.Ya. Karimov,*

*A.A. Nazarov, S.S. Arifov, K.T. Boboev*

THE ANALYSIS OF POLYMORPHISM  
49A/G GENE CTLA4 ASSOCIATION  
WITH DEVELOPMENT OF ALLERGIC RHINITIS

Polymorphism of 49A/G gene CTLA4 in 44 patients with allergic rhinitis and 70 conditioned healthy donors of Uzbek population has been analyzed. The «unfavourable allele» rate in general studied groups and control groups did not practically differ and was 73,3 and 72,9 % correspondingly. The analysis of distribution of polymorphism 49A/G gene CTLA4 among the patients of the groups with allergic rhinitis depended on currency (seasonal form) and gender, while in the control groups statistical significant differences were not revealed. However, in patients with annually forms of allergic rhinitis the rate of functional «unfavourable allele» 49A/G gene CTLA4 increased in 1,3 times in comparison with the group with seasonal form and slightly in the control group.

*В.Ш. Алиева, Х.Я. Каримов,*

*А.А. Назаров, С.С. Арифов, К.Т. Бобоєв*

АНАЛІЗ АСОЦІАЦІЇ ПОЛІМОРФІЗМУ 49A/G  
ГЕНА CTLA4 З РОЗВИТКОМ  
АЛЕРГІЧНОГО РИНИТУ

Проведено аналіз частоти зустрічальності поліморфізму 49A/G гена CTLA4 серед 44 хворих на алергічний риніт і 70 умовно здорових донорів узбецької популяції. Частота «несприятливого алеля» згаданого поліморфізму в загальних обстежених групах та групах контролю майже не відрізнялись – 73,3 і 72,9 % відповідно. Порівняльний аналіз розподілу поліморфізму 49A/G CTLA4 між групами пацієнтів з алергічним ринітом (в залежності від перебігу хвороби, статі хворого) і контрольною групою також не виявив статистично достовірної різниці. Однак у хворих з цілорічною формою алергічного риніту частота функціонально «несприятливого алеля» 49A/G гена CTLA4 майже у 1,3 разу перевищувала аналогічний показник у групі з сезонною формою і незначно – у контрольній групі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Homann D., Wolfgang D., Wolfe T. et al.* Lack of intrinsic CTLA-4 expression has minimal effect on regula-

- tion of antiviral T-cell immunity // *J. Virology*. – 2006. – № 1. – P. 270–280.
2. *Gough S.C., Walker L.S., Sansom D.M.* CTLA4 gene polymorphism and autoimmunity // *Immunol. Rev.* – 2005. – **204**. – P. 102–115.
  3. *Van der Auwera B.J., Vandewalle C.L., Schuit F.C. et al.* CTLA-4 gene polymorphism confers susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) independently from age and from other genetic or immune disease markers // *Clin. Exp. Immunol.* – 1997. – **110**. – P. 98–103.
  4. *Aguilar F., Torres B., Sanchez-Roman J. et al.* CTLA4 polymorphism in Spanish patients with systemic lupus erythematosus // *Hum. Immunol.* – 2003. – **64**. – P. 936–940.
  5. *Vaidya B., Pearce S.H., Charlton S. et al.* An association between the CTLA4 exon 1 polymorphism and early rheumatoid arthritis with autoimmune endocrinopathies // *Rheumatology (Oxf)*. – 2002. – **41**. – P. 180.
  6. *Malferrari G., Stella A., Monferini E. et al.* CTLA4 and multiple sclerosis in the Italian population // *Exp. Mol. Pathol.* – 2005. – **78**. – P. 55–57.
  7. *Jones G., Wu S., Jang N. et al.* Polymorphisms within the CTLA4 gene are associated with infant atopic dermatitis // *Brit. J. Dermatol.* – 2006. – **154**. – P. 467–471.
  8. *Blomhoff A., Lie B., Myhre A. et al.* Polymorphisms in the cytotoxic T lymphocyte antigen-4 gene region confer susceptibility to Addison's disease // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – **89**. – P. 3474–3476.
  9. *Chistiakov D.A., Savost'yanov K.V., Turakulov R.I. et al.* Genetic analysis and functional evaluation of the C/T (-318) and A/G (-1661) polymorphisms of the CTLA-4 gene in patients affected with Graves' disease // *Clin. Immunol.* – 2006. – **118**. – P. 233–242.
  10. *Mora B., Bonamico M., Indovina P. et al.* CTLA-4 +49 A/G dimorphism in Italian patients with celiac disease // *Hum. Immunol.* – 2003. – **64**. – P. 297–301.
  11. *Sambrook J., Fritsch E.P., Maniatis T.* Molecular cloning: a laboratory manual. – New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. – 1885 p.

Поступила 03.03.09