УДК: 616.155.194.7-091.8+575.1]-07

АССОЦИАЦИЯ ЦИТОКИНОВОГО ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА IL17A (G-197A) С ФОРМИРОВАНИЕМ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ

Ахмедова Зухра Бахтияровна
Маткаримова Дилфуза Сабуровна
Бобоев Кодиржон Тухтабоевич
Республиканский Специализированный Научно-Практический Медицинский Центр Гематологии (Ташкент, Узбекистан)
Ташкентская Медицинская Академия (Ташкент, Узбекистан)

РЕЗЮМЕ. Цель. *Изучить особенности распределения и ассоциации гена интерлейкина IL17A (G-197A) с формированием и тяжестью апластической анемии.*

Методы. *Молекулярно-генетический анализ гена интерлейкина IL17A (G-197A) у 86 больных с АА и 98 – здоровых с помощью стандартной ПЦР.*

Вывод. *Полиморфный цитокиновый ген интерлейкина IL17A (G-197A) является генетическим предиктором статистически достоверно повышающим риск формирования АА, а также нетяжелой, тяжелой и сверхтяжелой форм заболевания.*

Ключевые слова: *IL17A (G-197A), риск формирования, носительство, тяжесть течения, апластическая анемия.*

APLASTIK ANEMIYA SHAKLLANISHI BILAN INTERLEYKIN IL 17A (G197A) SITOKIN GENINING ASSOTSIATSIYASI

XULOSA. Maqsad. *Aplastik anemiya shakllanishi va og'irligida IL17A (G-197A) interleykin genining tarqalish xususiyatlari va assotsiatsiyasini o'rganish.*

Usullari. *Standart PSR yordamida AA bilan 86 ta bemorda va 98 ta sog'lom odamlarda IL17A (G-197A) interleykin genining molekulyar genetik tahlili.*

Xulosa. *Polimorfik sitokin geni IL17A (G-197A) AA shakllanish xavfini, shuningdek kasallikning og'ir bo'lmagan, og'ir va o'ta og'ir shakllarini statistik jihatdan sezilarli darajada oshishini genetik bashorat qiluvchisi hisoblanadi.*

Kalit so'zlar: *IL17A (G-197A), shakllanish xavfi, tashuvchanlik, kechishining og'irligi, aplastik anemiya.*

Введение. Апластическая анемия человека (АА) — редкое аутоиммунное заболевание, характеризующееся тяжелой панцитопенией и недостаточностью костного мозга (ККМ) [1,2]. Снижение количества и функции гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников способствует развитию анемии, нейтропении и тромбоцитопении [3,4]. У больных АА массивная деструкция гемопоэтических стволовых и прогениторных клеток активированными Т-лимфоцитами, содержащими клетки Th1, Th17, является причиной развития панцитопении, гипоплазии костного мозга и облитерации деструкции кроветворного микроокружения [5,8] . Ранее сообщалось об аномальном количестве и функции регуляторных Т-клеток (Treg) в периферической крови пациентов с АА, которые стали основной причиной этого состояния [6,9,10].

Цель. Изучить особенности распределения и ассоциацию гена интерлейкина IL17A (G-197A) с формированием и тяжестью апластической анемии.

Научная новизна. Полиморфные локусы гена интерлейкина IL17A (G-197A) статистически достоверно ассоциируются с формированием апластической анемии.

Материал и методы. Исследование проведено среди 184 взрослых лиц в возрасте от 18 до 80 дет. Среди обследованных основную группу больных составили пациенты с АА (n=86), установленным на основе международных рекомендаций по диагностике АА (2021) [....] с учетом клинико-лабораторных результатов обследования. Эта группа в зависимости от тяжести заболевания дополнительно подразделена на три группы: 2-я (n=16) больные с нетяжелой АА, 3-я (n=46) – с тяжелой АА и 4-я (n=24) – со сверхтяжелой АА. Группу контроля составило 98 здоровых доноров, соответствовавшие по полу и возрасту основной группе больных АА.

Все больные АА отбирались методом случайного отбора при обращении в РСНПЦГ с 2019 по 2022 гг.

Во всех группах проведен молекулярно-генетический анализ с выделением ДНК из периферической крови и детекцией генетического полиморфизма гена интерлейкина IL17A (G-197A) с использованием реактивов «Литех, ООО НПФ» (Россия). Процесс амплификации воспро-

изводился на термоциклере «GeneAmp PCR-system 2720» (Applied Biosystems, США). Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью пакета программ OpenEpi – 2009 (Version 2.3).

Результаты. Для определения соответствия распределения наблюдаемых (Но) и ожидаемых (Не) частот генотипов гена интерлейкина IL17A (G-197A) по равновесию Харди-Вайнберга (РХВ) проведен статистический анализ, в результате которого определено отсутствие отклонений по данному равновесию (χ^2<3.84; P>0.005).

Анализируя частоту распределения цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) в группах здоровых (n=98) и больных с апластической анемией (n=86) определен ряд интересных фактов.

К примеру, если в группе здоровых частоты основного (G) и минорного (A) аллелей соответствовали значениям 86.2% и 13.8%, то среди основной группы больных с АА наблюдалось выраженное различие в частотах этих показателей, характеризовавшееся снижением основного аллеля G до 68.0% и закономерные увеличение частоты минорного аллеля А до 32.0%.

Помимо этой картины, мы наблюдали частоты основного генотипа G/G G/A и A/A равные 75.5%, 21.4% и 3.1% среди здоровых, одновременное снижение случаев носительства генотипа G/G до 43.0% с увеличением частот генотипов G/A и A/A до 50.0% и 7.0% соответственно среди основной группы больных АА (Таблица 1).

Таблица 2.

Особенности носительства полиморфных локусов цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) среди больных АА и у здоровых

Группа	Аллели				Генотипы					
	G		A		G/G		G/A		A/A	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1-я – общая группа, n=86	117	68.0	55	32.0	37	43.0	43	50.0	6	7.0
2- я - нетяжёлая форма АА, n=16	23	71.9	9	28.1	8	50.0	7	43.8	1	6.2
3-я – тяжёлая форма АА, n=46	62	67.4	30	32.6	19	41.3	24	52.2	3	6.5
4-я – сверхтяжёлая форма АА, n=24	32	66.7	16	33.3	10	41.7	12	50.0	2	8.3
5-я – контрольная группа здоровых, n=98	169	86.2	27	13.8	74	75.5	21	21.4	3	3.1

Наблюдая за динамикой распределения частот аллелей и генотипов цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) в зависимости от тяжести течения АА во всех трех группах больных с не тяжелым (n=16), тяжелым (n=46) и сверхтяжелым (n=24) течением заболевания установлено снижение встречаемости основного аллеля G до 71.9%, 67.4% и 66.7% соответственно с параллельным увеличением доли минорного аллеля А до 28.1%, 32.6% и 33.3% соответственно.

В этих же группах аналогичная динамика зарегистрирована и для частот основного G/G (50.0%, 41.3% и 41.7%), гетерозиготного G/A (43.8%, 52.2% и 50.0%) и ослабленного A/A (6.2%, 6.5 % и 8.3%) генотипов.

Таким образом, анализируя динамику распределения аллелей и генотипов цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) во всех группах больных АА по сравнению со здоровыми мы наблюдали снижение активности основных аллеля G и генотипа G/G, и, одновременное повышение активности гетерозиготного G/A и гомозиготного ослабленного генотипа A/A. Возможно, повышенная активность ослабленных вариантов аллеля и генотипов, показывают нам их участие в повышении риска формирования и тяжести течения АА.

Чтобы проверить достоверность таких предположений были проведены дополнительные статистические исследования с вычислением значимости коэффициента риска развития заболевания и тяжести его течения в отношении установленных различий между аллелями, а также генотипами по цитокиновому гену интерлейкина IL17A (G-197A) во всех группах больных по сравнению со здоровыми.

Так, результаты статистического анализа проведенного в основной группе больных с АА по сравнению со здоровыми демонстрируют наличие статистически достоверного увеличения частоты ослабленного неблагоприятного аллеля А в 2.9 раза (32.0% против 13.8%; χ^2=17.5; P=0.01; OR=2.9; 95%CI: 1.78-4.88). Более того, частоты гетерозиготного G/A (50.0% против 21.4%; χ^2=16.5; P=0.01; OR=3.7; 95%CI: 1.96-6.87) и ослабленного гомозиготного A/A (7.0% против 3.1%; χ^2=1.5; P=0.3; OR=2.4; 95%CI: 0.6-9.44) генотипов по сравнению со здоровыми увеличивались. Однако статистически значимый характер различий выявлялся лишь в отношении гетерозиготы, доля которого оказалась среди больнқх АА значимо выше в 3.7 раза (χ^2=16.5; P=0.01).

Таким образом, выявленный статистически значимый характер различий в носительстве ослабленного аллеля А (χ^2=17.5; P=0.01) и гетеро-

зиготы G/A (χ^2=16.5; P=0.01) цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) в основной группе больных АА по отношению ко здоровой группе свидетельствуют об их участие генезе повышения риска формирования АА.

Анализируя результаты статистического анализа распределения полиморфного цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) проведенного в группе больных с нетяжелой формой АА по сравнению со здоровыми нами установлено повышение долей ослабленного неблагоприятного аллеля А в 2.4 раза (28.1% против 13.8%; χ^2=4.3; P=0.05; OR=2.4; 95%CI: 1.05-5.73), гетерозиготного генотипа G/A в 2.9 раза (43.8% против 21.4%; χ^2=3.7; P=0.1; OR=2.9; 95%CI: 0.98-8.3) и ослабленного гомозиготного генотипа A/A в 2.1 раза (6.3% против 3.1%; χ^2=0.4; P=0.6; OR=2.1; 95%CI: 0.22-20.61). Между тем, статистической достоверностью различалось лишь частота ослабленного аллеля А (χ^2=4.3; P=0.05), тогда как в отношении гетерозигота наблюдалась явная тенденция к ее увеличению (χ^2=3.7; P=0.1), а различия в частоте ослабленной гомозиготы A/A не имели статистически значимый характер (χ^2=0.4; P=0.6).

Таким образом, результаты сравнительного статистического анализа в распределении цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) между группами больных с нетяжелой формой АА и здоровых доказывают ассоциацию между носительством ослабленного аллеля А (χ^2=4.3; P=2.4) и гетерозиготы G/A (χ^2=3.7; P=2.9) с повышенным риском развития нетяжелой формы АА.

Оценивая различия между аллелями и генотипами цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A в группе больных с тяжелой формой АА по сравнению со здоровыми как и в вышеприведенных группах больных АА обнаружено повышение носительства ослабленными аллелем А в 3.0 раза (32.6% против 13.8%; χ^2=14.0; P=0.01; OR=3.0; 95%CI: 1.69-5.41), гетерозиготой G/A в 4.0 раза (52.2% против 21.4%; χ^2=13.8; P=0.01; OR=4.0; 95%CI: 1.92-8.32) и гомозиготой A/A в 2.2 раза (6.5% против 3.1%; χ^2=0.9; P=0.4; OR=2.2; 95%CI: 0.44-10.98).

При всем этом, статистически значимы различия регистрировались в отношении частот ослабленного аллеля А (χ^2=14.0; P=0.01) и гетерозиготы G/A (χ^2=13.8; P=0.01), а в отношении ослабленной гомозиготы A/A несмотря на повышение ее частоты в 2.2 раза (χ^2=0.4; P=0.6) различия между исследованными группами не отличались своей достоверностью.

Таким образом, результаты сравнительного статистического анализа в распределении цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) между группами больных с тяжелой формой АА и здоровых доказывают ассоциацию между носительством ослабленного аллеля А (χ^2=14.0; P=0.01) и гетерозиготы G/A (χ^2=13.8; P=0.01) с повышенным риском развития тяжелой формы АА.

Изучая степень различий между аллелями и генотипами цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A в группе больных со сверхтяжелой формой АА по сравнению со здоровыми как и в вышеприведенных группах больных АА обнаружено статистически достоверное повышение носительства ослабленным аллелем А в 3.1 раза (33.3% против 13.8%; χ^2=10.2; P=0.01; OR=3.1; 95%CI: 1.55-6.31) и гетерозиготой G/A в 3.7 раза (50.0% против 21.4%; χ^2=8.0; P=0.01; OR=3.7; 95%CI: 1.49-9.03). Однако, повышение среди больных частоты гомозиготы A/A в 2.9 раза (8.3% против 3.1%; χ^2=1.4; P=0.39 OR=2.2; 95%CI: 0.49-6.98) не имело значимый характер.

Таким образом, результаты сравнительного статистического анализа в распределении цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) между группами больных со сверхтяжелой формой АА и здоровых доказывают ассоциацию между носительством ослабленного аллеля А (χ^2=10.2; P=0.01) и гетерозиготы G/A (χ^2=8.0; P=0.01) с повышенным риском развития сверхтяжелой формы АА.

В цело, обобщая результаты исследования по изучению распределения полиморфного цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) в группах больных с АА и здоровых определено, что носительство ослабленным аллелем А и гетерозиготой G/A ассоциируется с повышенным риском формирования как заболевания, так и нетяжелой, тяжелой и сверхтяжелой форм АА.

В этой связи, полиморфный цитокиновый гена интерлейкина IL17A (G-197A) является генетическим предиктором статистически достоверно повышающий риска формирования АА, а также нетяжелой, тяжелой и сверхтяжелой форм заболевания.

Заключение

В целом, обобщая результаты исследования по изучению распределения полиморфного цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) в группах больных с АА и здоровых определено, что носительство ослабленным аллелем А и гетерозиготой G/A ассоциируется с повышенным риском формирования как заболевания, так и нетяжелой, тяжелой и сверхтяжелой форм АА.

Вывод: Полиморфный цитокиновый гена интерлейкина IL17A (G-197A) является генетическим предиктором статистически достоверно повышающий риска формирования АА, а также нетяжелой, тяжелой и сверхтяжелой форм заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dai Z. M. et al. Role of IL-17A rs2275913 and IL-17F rs763780 polymorphisms in risk of can-

cer development: an updated meta-analysis // Scientific report. – 2016. – T. 6. – №. 1. – C. 20439.

2. Gaman A., Gaman G., Bold A. Acquired aplastic anemia: correlation between etiology, pathophysiology, bone marrow histology and prognosis factors //Rom J Morphol Embryol. – 2009. – T. 50. – №. 4. – C. 669-674.

3. Giudice V., Selleri C. Aplastic anemia: pathophysiology //Seminars in Hematology. – WB Saunders, 2022. – T. 59. – №. 1. – C. 13-20.

4. Kadia T. M. et al. Phase I clinical trial of CK0801 (cord blood regulatory T cells) in patients with bone marrow failure syndrome (BMF) including aplastic anemia, myelodysplasia and myelofibrosis //Blood. – 2019. – T. 134. – C. 1221.

5. Li H. et al. In patients with chronic aplastic anemia, bone marrow–derived MSCs regulate the Treg/Th17 balance by influencing the Notch/RBP-J/FOXP3/RORγt pathway //Scientific reports. – 2017. – T. 7. – №. 1. – C. 42488.

6. Ni R. et al. A mouse model of irradiation and spleen-thymus lymphocyte infusion induced aplastic anemia //Hematology. – 2022. – T. 27. – №. 1. – C. 932-945.

7. Wang L., Liu H. Pathogenesis of aplastic anemia //Hematology. – 2019. – T. 24. – №. 1. – C. 559-566.

8. Yan L, Fu R, Liu H, Wang H, Liu C, Wang T, Qi W, Guan J, Li L, Shao Z. Abnormal quantity and function of regulatory T cells in peripheral blood of patients with severe aplastic anemia.

9. Zhang J. et al. Basal level of Th17 immune response is not enhanced in aplastic amemia //Cytokine. – 2015. – T. 74. – №. 2. – C. 331-334.

10. Zhao J. et al. Human gingiva tissue-derived MSC ameliorates immune-mediated bone marrow failure of aplastic anemia via suppression of Th1 and Th17 cells and enhancement of CD4+ Foxp3+ regulatory T cells differentiation //American journal of translational research. – 2019. – T. 11. – №. 12. – C. 7627.

ASSOCIATION OF THE CYTOKINE GENE INTERLEUKIN IL 17A (G197A) WITH THE FORMATION OF APLASTIC ANEMIA

SUMMARY. Objective: *To study the distribution features and association of the interleukin IL 17A (G197A) gene with the formation and severity of aplastic anemia.*

Methods: *Molecular genetic analysis of the IL17A interleukin gene (G-197A) in 86 AA patients and 98 healthy patients using standard PCR.*

Conclusions: *Polymorphic cytokine gene of interleukin IL 17A (G197A) is a genetic predictor that statistically significantly increases the risk of AA formation, as well as non-severe, severe and super-severe forms of the disease.*

Key words: *IL 17A (G197A), risk of formation, carrier, severity of course, aplastic anemia.*