УДК: 616.155.294–092:612.017.1]:575 –036

СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА TGFβ (C509T И Arg25Pro) ПРИ ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИИ

Маткаримова Дилфуза Сабуровна – профессор
Ташкентская Медицинская Академия (Ташкент, Узбекистан)
Джураева Дилбар Эркиновна – ассистент
Термезский Филиал Ташкентской Медицинской Академии (Ташкент, Узбекистан)

РЕЗЮМЕ. Цель. *Изучить структурно–функциональные особенности генов семейства TGFβ (C509T и Arg25Pro) при иммунной тромбоцитопении.*

Материал и методы. *В исследование включено 91 пациентов с ИТП (в возрасте от 18 до 80 лет) и 88 условно здоровых лиц без патологии системы гемостаза сопоставимого возраста. Среди обследованных проведена детекция полиморфизмов генов TGFβ (C509T и Arg25Pro) методом SNP–ПЦР.*

Выводы: *1. Риск развития тяжелой тромбоцитопении при ИТП статистически достоверно повышается среди носителей ослабленным аллелем T в 2.0 (χ^2=4.1; P=0.05) по маркеру TGFβ (C509T).*

2. Среди носителей мутантного генотипа T/T по гену TGFβ (C509T) наблюдается тенденция к повышению риска тяжелой тромбоцитопении при ИТП в 2.4 раза (χ^2=1.8; P=0.2).

3. Неблагоприятные полиморфные локусы гена TGFβ (Arg25Pro) самостоятельно не ассоциируются с риском ИТП и с тяжелым её течением.

Ключевые слова: *иммунная тромбоцитопения, генотип, ассоциация, риск развития, тяжелое течение.*

IMMUN TROMBOTSITOPENIYADA TGFβ (C509T VA Arg25Pro) OILASI GENLARINING TUZILISHI VA FUNKSIONAL XUSUSIYATLARI

Matkarimova Dilfuza Saburovna – professor
Toshkent Tibbiyot Akademiyasi (Toshkent, O'zbekiston)
Djurayeva Dilbar Erkinovna – assistent
Toshkent Tibbiyot Akademiyasining Termiz Filiali (Toshkent, O'zbekiston)

XULOSA. Tadqiqotning maqsadi. *Immun trombotsitopeniyada TGFb oilasi genlarining (C509T va Arg25Pro) strukturaviy va funktsional xususiyatlarini o'rganish.*

Materiallar va usullar. *Tadqiqotga ITP bilan og'rigan 91 bemor (18 yoshdan 80 yoshgacha) va taqqoslanadigan yoshdagi gemostatik tizim patologiyasi bo'lmagan 88 sog'lom odam ishtirok etdi. Tekshirilganlar orasida TGFb gen polimorfizmlarini (C509T va Arg25Pro) aniqlash SNP–PCR usuli yordamida amalga oshirildi.*

Xulosa: *1. TGFb (C509T) polimorf genining zaiflashgan T alleli tashuvchilar orasida ITPda og'ir trombotsitopeniya rivojlanish xavfi 2.0 ga (χ^2=4.1; P=0.05) statistik jihatdan sezilarli darajada oshadi.*

2. TGFb (C509T) polimorf genining mutant T/T genotipi tashuvchilari orasida ITPda og'ir trombotsitopeniya xavfini 2.4 martaga oshirish tendentsiyasi mavjud (χ^2=1.8; P=0,2).

3. TGFb genining noqulay polimorf lokusu (Arg25Pro) ITP xavfi va uning og'ir kechishi bilan mustaqil ravishda bog'liq emas.

Kalit so'zlar: *immun trombotsitopeniya, genotip, assotsiatsiya, rivojlanish xavfi, og'ir kurs.*

STRUCTURE AND FUNCTIONAL FEATURES OF TGFβ FAMILY GENES (C509T AND Arg25Pro) IN IN IMMUNE THROMBOCYTOPENIA

Dilfuza Saburovna Matkarimova – professor
Tashkent Medical Academy (Tashkent, Uzbekistan)
Djuraeva Dilbar Erkinovna – assistant
Termez Branch of Tashkent Medical Academy (Tashkent, Uzbekistan)

SUMMARY. Purpose. *To study the structural and functional features of the TGFβ family genes (C509T and Arg25Pro) in immune thrombocytopenia.*

Material and methods. *The study included 91 patients with ITP (aged 18 to 80 years) and 88 conditionally healthy individuals of comparable age without hemostatic pathology. Among the examined subjects, detection of TGFβ gene polymorphisms (C509T and Arg25Pro) was performed using the SNP–PCR method.*

Conclusions: *1. The risk of developing severe thrombocytopenia in ITP is statistically significantly increased among carriers of the weakened T allele by 2.0 (χ^2=4.1; P=0.05) for the TGFβ marker (C509T).*

2. Among carriers of the mutant T/T genotype for the TGFβ gene (C509T), there is a tendency for the risk of severe thrombocytopenia in ITP to increase by 2.4 times (χ^2=1.8; P=0.2).

3.Unfavorable polymorphic loci of the TGFβ gene (Arg25Pro) are not independently associated with the risk of ITP and its severe course.

Key words: *immune thrombocytopenia, genotype, association, risk of development, severe course.*

Ведение. Известно, что большое количество генов участвуют в дифференциации тромбоцитов [1,4]. Мутации в одном из генов, потенциально могут привести к тромбоцитопении в связи с уменьшением образования или сокращения продолжительности жизни тромбоцитов [3].

Семейство генов трансформирующих факторов роста (TGF–β) участвует в регуляции большого числа клеточных реакций и играет заметную роль в гомеостазе человека [2]. Исследования, проведенные за последние десятилетия, позволили получить значительное представление о механизмах передачи сигналов TGF–β, нарушения в которых ассоциируются со многими заболеваниями человека, в том числе и ИТП [5,6]. Тем не менее нет единых заключений о их функциональной роли при ИТП [7].

В свою очередь, применение новых иммуногенетических методов и позволит улучшить понимание патогенетических механизмов ИТП, а также разработать критерии прогнозирования формирования, развития, клинического течения и исходов заболевания, что в конечном счете приведет к широким возможностям для повышения ранней диагностики, эффективности результатов лечения и качества жизни пациентов с ИТП.

Цель. Изучить структурно–функциональные особенности генов семейства TGFβ (C509T и Arg25Pro) при иммунной тромбоцитопении.

Научная новизна заключается в определении возможного вклада неблагоприятных полиморфных локусов генов TGFβ (C509T и Arg25Pro) в повышение риска ИТП и ее тяжелого течения.

Материал и методы: Материалом для исследования послужило 91 пациентов с ИТП (в возрасте от 18 до 80 лет) находившиеся на наблюдении и лечении в Сурхандарьинском областном многопрофильном медицинском центре в период с 2019 по 2023 гг. Группу контроля составило 88 здоровых лиц без патологии системы гемостаза, сопоставимого возраста и пола. Все обследованные пациенты с ИТП распределены на 3 группы: 1– я основная (n= 91), 2– я – пациенты с ИТП с уровнем тромбоцитов >50x10^9/л (n=36), 3–я – пациенты с ИТП с уровнем тромбоцитов от 50 до 30 x10^9/л (n=32) и 4–я – пациенты с ИТП с уровнем тромбоцитов <30x10^9/л (n=23).

Детекция полиморфизмов гена TGFβ (C509T и Arg25Pro) проводилась методом SNP–ПЦР на программируемом термоциклере фирмы «Applied Biosystems» 2720 (США), с использованием тест–систем компании «Литех» (Россия), согласно инструкции производителя. Статистический анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ «Open Epi, Version 9.3».

Результаты и обсуждение. На основе молекулярно–биологических анализов полиморфизмов C509T и Arg25Pro гена TGFβ были установлены особенности распределения их полиморфных локусов в здоровой группе и в выборке пациентов с ИТП, соответствовавшие по РХВ (P>0.05).

Анализируя особенности распределения локусов полиморфного гена TGFβ (C509T), по отношению к контролю было выявлено снижение диких аллеля и генотипа во всех группах пациентов с ИТП и одновременное увеличение частот неблагоприятных вариантов. Между тем, если в 1–й – основной, в 3–й и 4–й группах с ИТП изменения в частотах локусов были явными, то во 2 группе с ИТП с медианой тромбоцитов более 50x10^9/л их значения были приближенными к аналогичным в контрольной группе.

В свою очередь, увеличение частот неблагоприятных локусов полиморфного маркера TGFβ (C509T) возможно было за счет их участия в риске развития ИТП с более выраженной тромбоцитопенией (Таблица 1).

Таблица 1.

Распределение полиморфизма гена TGFβ (C509T) в группах здоровых и пациентов с ИТП

№	Группа	Аллели, (n/%)				Генотипы, (n/%)					
		C		T		C/C		C/T		T/T	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	Основная группа ИТП, (n=91)	123	67.6	59	32.4	42	46.1	39	42.9	10	11.0
2	ИТП (>50x10^9/л, n=36)	53	73.6	19	26.4	19	52.8	15	41.7	2	5.6
3	ИТП (50–30x10^9/л, n=32)	43	67.2	21	32.8	15	46.9	13	40.6	4	12.6
4	ИТП (<30x10^9/л, n=23)	27	58.7	19	41.3	8	34.8	11	47.8	4	17.4
5	Контрольная группа, (n=88)	130	73.9	46	26.1	49	55.7	32	36.4	7	7.9

Сравнивая в основной группе с ИТП и в контроле различия между неблагоприятными локусами установлено преобладание частот аллеля Т в 1.4 раза (32.4% против 26.1%; χ^2=1.7; P=0.2; OR=1.4; ДИ: 0.86 – 2.14), гетерозиготы С/Т в 1.3 раза (42.9% против 36.4%; χ^2=0.8; P=0.4; OR=1.3; ДИ: 0.72 – 2.39) и гомозиготы Т/Т в 1.4 (11.0% против 8.0%; χ^2=0.5; P=0.5; OR=1.4; ДИ: 0.52 – 3.92) при ИТП. Однако, по результатам статистического анализа очевидно, что различия между группами в изученных локусах не имеют достоверных значений, что доказывает отсутствие их самостоятельного вклада в механизмы, повышающие риск ИТП.

Во 2–й группе с ИТП в отношении к контролю неблагоприятные локусы по полиморфному маркеру TGFβ (C509T) и встречались несколько чаще, но все же между их частотами в сравниваемых группах различия были весьма малыми и не достигали значимого уровня. Различия в частоте аллеля Т между группами были равны единице (26.4% против 26.1%; χ^2<3.84; P=0.98; OR=1.0; ДИ: 0.54 – 1.89), при том, что гетерозиготный вариант С/Т при ИТП был выше в 1.3 (41.7% против 36.4%; χ^2=0.3; P=0.6; OR=1.3; ДИ: 0.57 – 2.76) и гомозигота Т/Т напротив обнаруживалась с меньшей частотой (5.6% против 8.0%; χ^2=0.2; P=0.7; OR=0.7; ДИ: 0.14 – 3.42).

Параллельно в 3–й группой с ИТП и контролем различия между частотами неблагоприятных локусов были более заметными чем во 2–й группе, но при этом они все же оставались статистически незначимыми. Так, чем в контроле среди пациентов 3–й группы частота ослабленного аллеля Т была выше в 1.4 раза (32.8% против 26.1%; χ^2=1.0; P=0.4; OR=1.4; ДИ: 0.74 – 2.56), а частоты гетерозиготы С/Т в 1.2 (40.6% против 36.4%; χ^2=0.2; P=0.7; OR=1.2; ДИ: 0.52 – 2.74) и гомозиготы Т/Т в 1.7 раза (12.5% против 8.0%; χ^2=0.6; P=0.5; OR=1.7; ДИ: 0.45 – 6.01). Недостоверные различия в полиморфных локусах гена TGFβ (C509T) свидетельствуют об отсутствии их связи со среднетяжелым снижением тромбоцитов при ИТП.

Однако, различия, обнаруженные между 4–й группой с ИТП и контролем отличались статистически достоверным характером в распределении неблагоприятных локусов гена TGFβ (C509T). К примеру, частота неблагоприятного аллеля Т в 4–й группе с ИТП статистически достоверно превышала аналогичную в контроле в 2.0 раза (41.3% против 26.1%; χ^2=4.1; P=0.05; OR=2.0; ДИ: 1.02 – 3.88). Тогда как частота мутантной гомозиготы Т/Т в группе пациентов была выше в 2.4 раза (17.4% против 8.0%; χ^2=1.8; P=0.2; OR=2.4; ДИ: 0.67 – 8.89), но в отношении увеличения частоты генотипа Т/Т по сравнению с контролем наблюдалась тенденция. В частоте гетерозиготы С/Т не установлено статистически достоверных различий хотя этот локус среди пациентов оказался выше в 1.6 раз (47.8% против 36.4%; χ^2=1.0; P=0.4; OR=1.6; ДИ: 0.64 – 4.03). Следовательно, установленные статистически достоверное различие в частоте ослабленного аллеля Т и тенденция в частоте мутантного генотипа Т/Т повышают риск ИТП с глубоким снижением числа тромбоцитов соответственно в 2.0 (χ^2=4.1; P=0.05) и 2.4 раза (χ^2=1.8; P=0.2).

Между тем, сравнивая частоты локусов полиморфного маркера TGFβ (C509T) в группах ИТП с умеренным и тяжелым снижением числа тромбоцитов обнаружена тенденция к снижению доли благоприятных аллеля С в 2.0 раза (26.4% против 41.3%; χ^2=2.9; P=0.1; OR=2.0; ДИ: 0.9 – 4.29) и генотипа С/С в 2.1 раза (52.8% против 34.8%; χ^2=1.8; P=0.2; OR=2.1; ДИ: 0.72 – 6.12) при ИТП с тяжелым снижением количества тромбоцитов.

Выявленные различия свидетельствуют, что при снижении протективной активности основных локусов маркера TGFβ (C509T) создаются предпосылки для тенденции к увеличению риска ИТП с тяжелой тромбоцитопенией соответственно в 2.0 (χ^2=2.9; P=0.1) и 2.1 раза (χ^2=1.8; P=0.2).

В распределении гена TGFβ (Arg25Pro) в группах пациентов с ИТП было замечено увеличение частот ослабленных локусов и снижение частот основных локусов по отношению к аналогичным в здоровой группе. Однако, необходимо подчеркнуть, что эти изменения имели более выраженный характер в группе со среднетяжелой и тяжелой тромбоцитопенией, что приводило изменениям и в основной группе пациентов с ИТП. Менее выраженные изменения в частотах локусов гена TGFβ (Arg25Pro) регистрировались в группе пациентов с умеренной тромбоцитопенией (Таблица 2).

Заметное увеличение частот ослабленных локусов гена TGFβ (Arg25Pro) в 3–й и 4–й группах ИТП дают возможность предположить о вкладе изученного генетического в механизмы формирования ИТП со среднетяжелой и тяжелой тромбоцитопенией.

Возможная связь между полиморфными локусами гена TGFβ (Arg25Pro) и риском ИТП оценена на основе сравнительных анализов проведенных между 1–й основной и 5–й контрольной группами, результаты которых показали отсутствие достоверной связи увеличения риска ИТП и носительством ослабленными аллелем Pro в 1.9 (7.1% против 4.0%; χ^2=1.7; P=0.2; OR=1.9; ДИ: 0.73 – 4.71) и генотипом Arg/Pro в 1.9 раза (14.3% против 8.0%; χ^2=1.8; P=0.2; OR=1.9; ДИ: 0.74 – 5.03).

Наряду с этим, между полиморфными локусами гена TGFβ (Arg25Pro) и риском ИТП с умеренной тромбоцитопенией результаты сравнительных анализов также показали отсутствие

достоверной ассоциации, что подтверждалось незначимым увеличение доли носителей ослабленными аллелем Pro в 1.4 (5.6% против 4.0%; χ^2=0.3; P=0.6; OR=1.4; ДИ: 0.4 – 4.98) и генотипа Arg/Pro также в 1.4 раза (11.1% против 8.0%; χ^2=0.3; P=0.6; OR=1.4; ДИ: 0.4 – 5.25).

Помимо этого, несмотря на большее число носителей ослабленными аллелем Pro в 2.0 (5.6% против 4.0%; χ^2=0.3; P=0.6; OR=1.4; ДИ: 0.4 – 4.98) и генотипа Arg/Pro в 2.1 раза (11.1% против 8.0%; χ^2=0.3; P=0.6; OR=1.4; ДИ: 0.4 – 5.25) по генетическому маркеру TGFβ (Arg25Pro) в 3–й группе пациентов со среднетяжелой тромбоцитопенией в сравнении с контролем различия между изученными локусами не отличались статистической достоверностью.

В то же время, связь полиморфных локусов гена TGFβ (Arg25Pro) не имела достоверной значимости с увеличением риска тяжелой тромбоцитопении среди носителей ослабленными аллелем Pro в 2.3 (8.7% против 4.0%; χ^2=1.7; P=0.2; OR=2.3; ДИ: 0.66 – 7.97) и генотипом Arg/Pro в 2.4 раза (17.4% против 8.0%; χ^2=1.8; P=0.2; OR=2.4; ДИ: 0.67 – 8.89).

Заключение.

Таким образом, на основе сравнительных анализов значимости различий между полиморфными локусами генетических маркеров TGFβ (C509T) и TGFβ (Arg25Pro) в группе пациентов с ИТП в сравнении со здоровыми было установлено, что риск ИТП с тяжелой тромбоцитопенией статистически достоверно увеличен среди носителей ослабленного аллеля T в 2.0 (χ^2=4.1; P=0.05) по маркеру TGFβ (C509T). Кроме того, при носительстве мутантного генотипа T/T по гену TGFβ (C509T) наблюдается тенденция к повышению риска ИТП с тяжелой тромбоцитопенией в 2.4 раза (χ^2=1.8; P=0.2). Более того, снижение протективной активности основных локусов C и C/C маркера TGFβ (C509T) по сравнению с пациентами ИТП с умеренным снижением тромбоцитов возникают предпосылки для тенденции к увеличению риска ИТП с тяжелой тромбоцитопенией соответственно в 2.0 (χ^2=2.9; P=0.1) и 2.1 раза (χ^2=1.8; P=0.2).

В связи с отсутствием статистически достоверных различий между полиморфными локусами гена TGFβ (Arg25Pro) в группах пациентов с ИТП и здоровых изученный маркер не ассоциируется самостоятельно с риском ИТП и с тяжелым её течением.

Выводы:

1.Риск развития тяжелой тромбоцитопении при ИТП статистически достоверно повышается среди носителей ослабленным аллелем T в 2.0 (χ^2=4.1; P=0.05) по маркеру TGFβ (C509T).

2.Среди носителей мутантного генотипа T/T по гену TGFβ (C509T) наблюдается тенденция к повышению риска тяжелой тромбоцитопении при ИТП в 2.4 раза (χ^2=1.8; P=0.2).

3.Неблагоприятные полиморфные локусы гена TGFβ (Arg25Pro) самостоятельно не ассоциируются с риском ИТП и с тяжелым её течением.

ЛИТЕРАТУРА

1.Aziz S. P. et al. Association of IL–17A and IL–17F Gene Polymorphisms with Acute Immune Thrombocytopenia in Egyptian Children //Open Journal of Blood Diseases. – 2018. – Т. 8. – №. 03. – С. 49–60.

2.Elsaid D. S. et al. Interleukin–37, vascular endothelial growth factor A, and transforming growth factor–β1: promising biomarkers in primary immune thrombocytopenia //Expert Review of Hematology. – 2022. – Т. 15. – №. 8. – С. 757–768.

3.Hassan T. H. M. et al. Role of Interleukin–17 serum level as a prognostic in children with immune thrombocytopenia //NeuroQuantology. – 2022. – Т. 20. – №. 18. – С. 1504.

4.Ismail A. M. et al. IL–23/Th17 pathway and IL–17A gene polymorphism in Egyptian children with immune thrombocbytopenic purpura //Italian Journal of Pediatrics. – 2021. – Т. 47. – С. 1–8.,

5.Lin–Lin T. et al. Expression of interleukin–37, vascular endothelial growth factor A, and transforming growth factor–β1 and their correlation with T cells in children with primary immune thrombocytopenia //Chinese Journal of Contemporary Pediatrics. – 2023. – Т. 25. – №. 11.

6.Razavi A. S. et al. TGF–β signaling and the interaction between platelets and T–cells in tumor microenvironment: Foes or friends? //Cytokine. – 2022. – Т. 150. – С. 155772.

7.Tan J. H. et al. Scoping review on epigenetic mechanisms in primary immune thrombocytopenia //Genes. – 2023. – Т. 14. – №. 3. – С. 555.