

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ: ПОПУЛЯЦИОННАЯ РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И СВЯЗЬ С АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

© 2002 г. М. Б. Фрейдин¹, В. П. Пузырев^{1,2}, Л. М. Огородова²,
О. С. Кобякова², И. М. Кулманакова²

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики Сибирского отделения
Российской академии медицинских наук, Томск 634050; факс: (3822)51-37-44; e-mail: valery@img.tsu.ru.

² Сибирский государственный медицинский университет, Томск 634050;
факс: (3822)53-33-09; e-mail: office@ssmu.ru

Поступила в редакцию 22.01.2002 г.

Проведено исследование популяционной распространенности и патогенетической значимости для атопической бронхиальной астмы (БА) восьми полиморфных вариантов шести генов интерлейкинов (ИЛ) и их рецепторов: С-589Т, G/C 3'-UTR *IL4*, С-703Т *IL5*, T113M *IL9*, Q551R, I50V *IL4RA*, G-80A *IL5RA*, G1972A *IL5RB*. В выборках русских, таджиков, бурят и тувинцев установлена расовая и этническая специфика полиморфизма этих генов, выражающаяся в том, что популяции имеют своеобразный "генетический портрет" по частотам их аллелей. В выборке больных атопической БА и их родственников из г. Томска с помощью Transmission/Disequilibrium Test (TDT) установлена статистически значимая связь аллеля С-703 гена *IL5* с заболеванием ($p = 0.005$). Ассоциация полиморфизма гена *IL5* с БА обнаружена впервые.

Атопическая бронхиальная астма (БА) – одно из наиболее распространенных и тяжелых мультифакториальных заболеваний (МФЗ), характеризующееся обратимыми приступами удушья с нормальным дыханием в межприступный период [1]. Эта болезнь является следствием аллергической реакции и обусловлена сложным взаимодействием иммуннокомпетентных клеток, медиаторов, клеток и тканей бронхов, приводящим в острой бронхоконстрикции, отеку бронхиальной стенки, гиперсекреции и перестройке бронхиального дерева [2]. Раскрытие деталей этиологии и патогенеза БА привело исследователей к пониманию важной роли в этих процессах группы родственных молекул интерлейкинов (ИЛ), которые ответственны за индукцию и поддержание воспаления при данном заболевании [3]. Особое место в патогенезе БА занимают ИЛ-4, -5, -9 и -13, так как именно они являются инициаторами молекулярных и клеточных событий, приводящих к выбросу медиаторов и миграции эффекторных клеток в шоковый орган (бронхи, носоглотка, участки кожи и т.д.), где разворачивается воспалительная реакция.

С точки зрения генетики, интересным фактом оказалось то, что гены этих существенных для БА цитокинов расположены тандемно в одном кластере на хромосоме 5q31–33 [4]. Установлено сцепление БА и ассоциированных с заболеванием признаков с этим локусом [5, 6]. Поэтому гены ИЛ, расположенные в регионе 5q31–33, являются

привлекательным объектом исследований по поиску наследственных основ предрасположенности к астме. Кроме того, важным является изучение в этом аспекте генов рецепторов данных ИЛ, с помощью которых осуществляется их функционирование.

Анализ взаимосвязи полиморфных вариантов этих генов с астмой и факторами риска заболевания, проведенный несколькими группами исследователей, противоречивы и не дают однозначного ответа на вопрос об их патогенетической роли [7–10]. В России полиморфизм генов ИЛ в популяциях и у больных БА практически не исследован.

Целью настоящей работы было изучение распространенности в популяциях различающегося расового и этнического состава восьми динуклеотидных полиморфных вариантов генов ИЛ-4 (*IL4*, С-589Т, G/c 3'-UTR), ИЛ-5 (*IL5*, С-703Т), ИЛ-9 (*IL9*, T113M), α -цепи рецептора к ИЛ-4 (*IL4RA*, Q551R, I50V), α -цепи рецептора к ИЛ-5 (*IL5RA*, G-80A) и β -цепи рецептора к ИЛ-5 (*IL5RB*, G1972A), а также анализ связи этих полиморфизмов с атопической БА у русских жителей г. Томска.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Полиморфизм генов ИЛ и их рецепторов изучен в четырех популяционных выборках и в выборке больных атопической БА и их родственников.

Популяционные выборки, включающие русских ($n = 66$), таджиков ($n = 33$), бурят ($n = 60$) и тувинцев ($n = 59$), были сформированы для настоящего исследования на основе ДНК-банка лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН. Основным критерием отбора образцов было отсутствие родства между индивидами.

Исследованная семейная выборка была зарегистрирована по пробандам – большим БА детям, находившихся под наблюдением в клиничко-профилактических учреждениях г. Томска в 1997–2000 гг. Было обследовано 66 семей ($n = 183$), в том числе 51 полная (два родителя и больной ребенок) и 15 неполных (отсутствовал один из родителей). Возраст пробандов варьировал от 1.5 до 15 лет (средний возраст \pm S.D. составил 8.4 ± 3.4). Основную часть пробандов составили мальчики ($n = 46$). Средний возраст пробандов разного пола не различался (8.1 ± 3.6 у мальчиков и 8.9 ± 2.8 у девочек; $p > 0.100$). Всем пробандам был поставлен диагноз “атопическая бронхиальная астма” на основании данных клинического обследования по критериям ВОЗ [11].

Было исследовано восемь полиморфных вариантов шести генов ИЛ и их рецепторов: *IL4*, *IL5*, *IL9* (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9), *IL4RA* (α -цепь рецептора к ИЛ-4), *IL5RA*, *IL5RB* (α - и β -цепи рецептора к ИЛ-5) (табл. 1). Четыре исследованных мутации локализованы в регуляторных областях генов – три в промоторах (С-589, G-80А, С-703Т), одна – в 3'-нетранслируемом регионе (G/C 3'-UTR). Три других полиморфизма представлены миссенс-мутациями (Q551R, I50V, T113M) и одна – консервативной заменой (G972A).

Генотипирование индивидов осуществляли путем ПДРФ-анализа продуктов ПЦР-амплификации специфических участков генома. Для генотипирования использовали образцы ДНК из банка НИИ медицинской генетики (популяционные выборки) и ДНК, выделенную из цельной крови венозной крови (семейная выборка) по неэнзиматической методике [14]. Для ПЦР использовали праймеры и параметры температурных циклов, в большинстве случаев описанные в литературе (табл. 1). Для полиморфизма G-80А *IL5RA* структуру и температуру отжига праймеров подбирали экспериментально, исходя из известной последовательности гена (GenBank AJ002523). Структура праймеров для полиморфизмов С-703Т *IL5* и G1972А *IL5RB* была предоставлена Т. Шираковой (Т. Shirakawa, Отделение экспериментальной медицины университета Уэльса, г. Сванси, Великобритания).

Смесь для ПЦР содержала 2.5 пмоль специфических праймеров, 1.2–2.0 мкл 10× буфера для амплификации, 0.5 ед. акт. *Taq*-ДНК-полимеразы (“Сибэнзим”, Новосибирск) и 100–200 нг геном-

ной ДНК. Программа амплификации включала денатурацию при 94°C в течение 5 мин с последующими 30 циклами отжига при специфической для каждой пары праймеров температуре (1 мин), элонгации цепи при 72°C (45 с) и денатурации при 94°C (45 с). Программу завершала элонгация при 72°C в течение 3 мин.

Амплификат подвергали гидролизу соответствующей рестриктазой (табл. 1) при оптимальной для фермента температуре в течение 12–24 ч. Рестрикционная смесь включала 5–7 мкл амплификата, 1.0–1.2 мкл 10× буфера для рестрикции (“Сибэнзим”, Новосибирск; “New England Biolabs”, США) и 1–5 ед. акт. фермента. Продукты рестрикции фракционировали в 2–3%-ном агарозном геле с бромистым этидием при напряжении 120–130 В в течение 30–45 мин и визуализировали в УФ-свете.

Тестирования распределений генотипов на соответствие равновесию Харди–Вайнберга (РХВ) и сравнение частот аллелей в популяциях проводили с помощью точного теста Фишера [15]. Ожидаемую гетерозиготность рассчитывали по Nei. Для оценки специфики исследованных выборов по совокупности полиморфных вариантов генов ИЛ использовали процедуру многомерного шкалирования, с помощью которой популяции размещали в пространстве ланетных переменных, отражающих их близость/удаленность относительно друг друга. Многомерное шкалирование проводили на основании матрицы евклидовых расстояний между выборками, построенной по аллельным частотам по алгоритму невзвешенных парных групповых средних (UPGA).

Изучение ассоциаций полиморфизма исследованных генов с БА проводили с помощью TDT [16]. Оценку уровня значимости для теста TDT проводили по алгоритму Монте-Карло, реализованному в программе Nx23, разработанной Ю.С. Аульченко (Институт цитологии и генетики РАН, Новосибирск) и доступной на сайте <http://mga.bionet.nsc.ru>.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Популяционная распространенность аллелей генов ИЛ

Согласно современным представлениям в генетике человека, подверженность индивидов к распространенным комплексным заболеваниям определяется сочетанием “нормальных” широко распространенных в популяциях вариантов генов, отдельные эффекты которых в отношении патологии могут быть невелики [17]. В процессе этногенеза частоты аллелей генов приобретают свою специфику у разных народов и это, возможно, лежит в основе дифференциальной подверженности к МФЗ в популяциях. В этой связи является важным изучение изменчивости генов-кандида-

Таблица 1. Характеристики исследованных полиморфизмов и методов их генотипирования

Ген	Полиморфизм	Локализация в гене	Структура праймеров, 5' → 3'	Температура отжига праймеров, °С	Фермент рестрикции	Продукты рестрикции, пн		Авторы метода генотипирования
						аллель "дикого" типа	мутантный аллель	
<i>IL4</i>	C-589T	5'-UTR	F : act-agg-cct-cac-ctg-ata-cg R : gtt-gta-atg-cag-tcc-tcc-tg	57	<i>BsmFI</i>	192; 60	252	[8]
	G/C	3'-UTR	F : ctc-agt-aca-cca-tat-ggc-t R : cca-gtg-act-ata-att-ata-att-cc	60	<i>VneI</i>	332; 269	601	Shirakawa T., личное сообщение
<i>IL5</i>	C-703T	5'-UTR	F : cag-gga-gag-cca-ata-cag-agt R : atg-atg-tcc-aga-ctc-cag-gat-ct	60	<i>A/wNI</i>	160; 18	178	Shirakawa T., личное сообщение
	T113M	5-й экзон	F : act-ctg-gct-ctt-ggc-agg-ta R : cct-atg-agg-ctg-agg-gtc-tg	57	<i>Bsp19I</i>	462	321; 141	[12]
<i>IL4RA</i>	Q551R	12-й экзон	F : gtc-tcg-gcc-acc-acc-ggc-tat-c R : acc-aaa-gcc-cac-cac-cgc-act	59	<i>Bsc4I</i>	87	64; 23	[10]
	150V	3-й экзон	F : ggc-agg-tgt-gag-gag-cat-cc R : gcc-tcc-gtt-gtt-ctc-agg-ta	60	<i>RsaI</i>	273	254; 19	[13]
<i>IL5RA</i>	G-80A	5'-UTR	F : at-ggc-tat-ctg-gac-gag-ag R : tta-gag-gcg-gtt-ctt-cac-tc	57	<i>AcsI</i>	206	154; 52	–
	G1972A	5-й экзон	F : agc-cag-acg-tcc-cca-cct-cc R : act-agg-gag-aca-gac-gag-gcc	59	<i>MspI</i>	182; 95; 67	182; 162	Shirakawa T., личное сообщение

Примечание. Аллель "дикого типа" указан первым в графе "Полиморфизм".

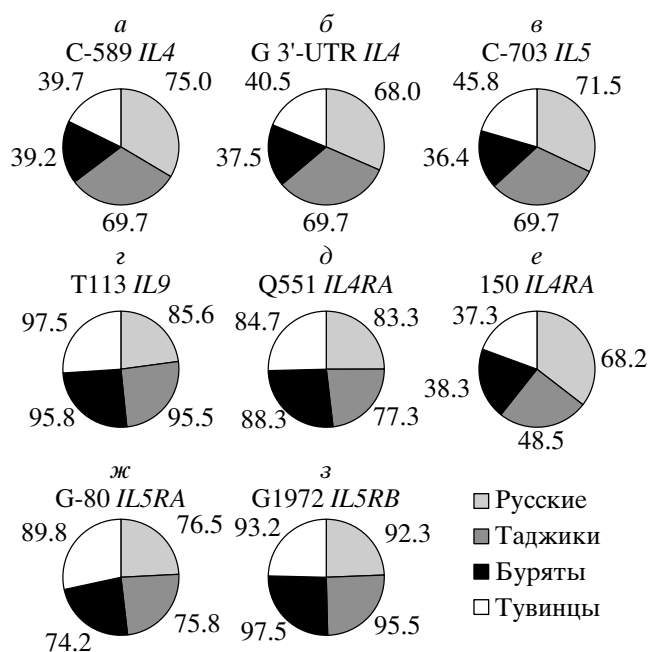


Рис. 1. Частоты аллелей генов интерлейкинов и их рецепторов в популяциях (в %). Установлены статистически значимые отличия ($0.06 < p < 0.001$): а, б, в – русские, таджики – буряты, тувинцы; г – русские – буряты, тувинцы; е – русские – другие популяции; ж – тувинцы – другие популяции.

тов МФЗ у представителей разных этнических групп.

Исследование восьми полиморфизмов генов ИЛ и их рецепторов провели в четырех расово и этнически различающихся группах: русские, таджики, буряты и тувинцы. Русских и таджиков относят к восточнославянской (в данном случае) и памиро-иранской подгруппам большой европеоидной расы, в то время как буряты и тувинцы являются монголоидами центрально-азиатского типа.

Распределения генотипов в исследованных популяциях соответствовали ожидаемым при РХВ (табл. 3). Для полиморфизмов T113M *IL9* и G1972A *IL5RB* отмечен низкий уровень аллельного разнообразия: гетерозиготность по ним составила от 0.050 для обоих локусов у бурят до 0.288 и 0.154 соответственно у русских. Тем не менее, частоты редких аллелей для этих генных вариантов в исследованных популяциях превышали 2%, что характеризует изменчивость по ним как полиморфизм, а не как мутации (рис. 1). Максимальное разнообразие по локусам, оцененное на основании величин фактической гетерозиготности, отмечено для C-589T, G/C 3'-UTR и C-703T во всех исследованных выборках.

Для полиморфизмов C-589T, G/C 3'-UTR *IL4* и C-703T *IL5* установлена особенность: по частотам их аллелей изученные выборки разделены на две группы – в первой, включающей европеоидные

популяции (русские, таджики), преобладали аллели C-589, G 3'-UTR и C-703, в то время как у монголоидов (буряты, тувинцы) чаще присутствовали альтернативные аллели (рис. 1). Эта ситуация характеризует указанные полиморфизмы как расовоспецифичные. Возможно, замены C-589T, G/C 3'-UTR и C-703T в генах *IL4* и *IL5* возникли еще до разделения человечества на основные расы и позднее процессы расовой дивергенции привели к накоплению разных вариантов генов у европеоидов и монголоидов. Возможное древнее происхождение C-589T, G/C 3'-UTR и C-703T подтверждает близкая к максимальной для диаллельного генетического маркера наблюдаемая гетерозиготность по этим полиморфизмам в исследованных популяциях.

Сравнение частот аллелей по другим полиморфизмам показало статистически значимые отличия русских от монголоидов по E113M *IL9*, русских от других популяций по 150V *IL4RA* и тувинцев от других популяций по G-80A *IL5RA* (рис. 1). В этих случаях определенную роль, видимо, сыграли процессы инбридинга и генетического дрейфа, связанные с изолированностью исследованных популяций друг от друга. Эти данные свидетельствуют о наличии не только расовых, но и этнических особенностей в распределении частот исследованных полиморфных вариантов генов ИЛ и их рецепторов.

Наличие расовой и этнической специфики исследованного полиморфизма генов ИЛ наглядно подтверждает многомерное шкалирование, проведенное для популяций русских, таджиков, тувинцев и бурят на основании матрицы евклидовых расстояний, построенной по частотам аллелей изученных генов. Исследованные популяции были размещены в пространстве двух переменных, одну из которых в данном контексте можно охарактеризовать как “расовая специфичность” (ось абсцисс), другую – как “этническая специфичность” (ось ординат). Популяции монголоидов в этой системе координат расположены в поле положительных значений “расовой” переменной, приблизительно в одной проекции к оси абсцисс, в то время как европеоиды локализованы в поле отрицательных значений переменной (рис. 2). Проекция на ось ординат показывает заметную разобщенность исследованных популяций в пределах расовых групп, демонстрируя, тем самым, постулированные этнические особенности полиморфизма исследуемых генов.

Для сравнения полученных результатов по исследованной системе маркеров с мировыми были привлечены данные гинотипирования выборки 150 неродственных здоровых англичан, предоставленные профессором Дж.М. Хопкиным (J.M. Hopkin) из Отделения экспериментальной медицины Уэльского университета (г. Сванси, Великобритания).

Таблица 2. Полиморфизм генов интерлейкинов и их рецепторов в популяциях

Ген	Полиморфизм	Популяция	<i>n</i>	Распределение генотипов, %			H_0	H_e	<i>p</i>
				<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>			
<i>IL4</i>	C-589T	Русские	64	59.4	31.3	9.4	0.313	0.375	0.185
		Таджики	33	42.4	54.5	3.0	0.545	0.422	0.203
		Буряты	60	15.0	48.3	36.7	0.483	0.477	0.994
		Тувинцы	58	12.1	55.2	32.8	0.552	0.479	0.406
	G/C 3'-UTR	Русские	64	46.9	42.2	10.9	0.422	0.435	0.773
		Таджики	33	42.4	54.5	3.0	0.545	0.422	0.206
		Буряты	56	14.3	46.4	39.3	0.464	0.469	0.993
		Тувинцы	58	17.2	46.6	36.2	0.466	0.482	0.784
<i>IL5</i>	C-703T	Русские	65	52.3	38.5	9.2	0.385	0.407	0.753
		Таджики	33	51.5	36.4	12.1	0.364	0.422	0.417
		Буряты	59	8.5	55.9	35.6	0.559	0.463	0.161
		Тувинцы	59	22.0	47.5	30.5	0.475	0.496	0.79
<i>IL9</i>	T113M	Русские	66	71.2	28.8	0.0	0.288	0.246	0.319
		Таджики	33	90.9	9.1	0.0	0.091	0.087	0.931
		Буряты	60	93.3	5.0	1.7	0.050	0.080	0.080
		Тувинцы	59	94.9	5.1	0.0	0.051	0.050	0.931
<i>IL4RA</i>	Q551R	Русские	66	71.2	24.2	4.5	0.242	0.278	0.352
		Таджики	33	57.6	39.4	3.0	0.394	0.351	0.973
		Буряты	60	76.7	23.3	0.0	0.233	0.206	0.557
		Тувинцы	59	71.2	27.1	1.7	0.271	0.259	0.968
	150V	Русские	66	45.5	45.5	9.1	0.455	0.434	0.778
		Таджики	33	30.3	36.4	33.3	0.364	0.500	0.159
		Буряты	60	20.0	36.7	43.3	0.367	0.473	0.100
		Тувинцы	59	16.9	40.7	42.4	0.407	0.468	0.399
<i>IL5RA</i>	G-80A	Русские	66	57.6	37.9	4.5	0.379	0.359	0.987
		Таджики	33	60.6	30.3	9.1	0.303	0.367	0.336
		Буряты	60	55.0	38.3	6.7	0.383	0.383	0.988
		Тувинцы	59	81.4	16.9	1.7	0.169	0.183	0.451
<i>IL5RB</i>	G1972A	Русские	65	84.6	15.4	0.0	0.154	0.142	0.944
		Таджики	33	90.9	9.1	0.0	0.091	0.087	0.931
		Буряты	60	95.0	5.0	0.0	0.050	0.049	0.931
		Тувинцы	59	86.4	13.6	0.0	0.136	0.126	0.940

Примечание. *n* – численность выборок; H_0 , H_e – наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность соответственно; *p* – достигнутый уровень значимости для теста на РХВ.

Таблица 3. Число аллелей, унаследованных пробандами, больными атопической бронхиальной астмой, от гетерозиготных родителей

Ген	Полиморфизм	Число гетерозиготных родителей	Число унаследованных аллелей	NDT	<i>p</i>
IL4	C-589T	53	C – 26; T – 27	0.019	0.999
	G/C3'-UTR	48	C – 21; T – 27	0.750	0.476
IL5	C-700T	52	C – 34; T – 18	4.923	0.005
IL9	T113M	37	T – 19; M – 18	0.027	1.000
IL4RA	Q551R	36	Q – 21; R – 15	1.000	0.366
	I50V	60	I – 26; V – 34	1.067	0.356
IL5RA	G-80A	38	A – 22; G – 16	0.947	0.386
IL5RB	G1972A	31	G – 15; A – 16	0.032	0.999

Примечание. NDT – значение статистики теста Transmission/Disequilibrium Test на отклонение от случайной сегрегации аллелей [16]; *p* – достигнутый уровень значимости (процедура Монте-Карло; использовано 15000 симуляций).

тания), а также опубликованные данные по частотам аллелей исследованных локусов среди здоровых европейцев (голландцы, французы, немцы) и японцев [10, 13, 18–23].

Результаты многомерного шкалирования, выполненного по собственным и мировым данным, подтвердили предположение о расовой и этнической специфичности исследованных локусов (рис. 3). Это обстоятельство представляется важным в связи с тем, что закономерности распространения БА и других МФЗ также имеют свои особенности в популяциях разных рас и народов. Это относится, например, к частоте заболеваний, соотношению долей разных болезней, характеру семейного накопления, клиническому полиморфизму и т.д. [24]. Возможно, такая специфика

обусловлена различиями в частотах “патогенетически значимых” аллелей генов предрасположенности к заболеваниям. Данное предположение частично подтверждается тем, что при анализе сцепления генетических локусов с МФЗ в выборках разных рас зачастую сцепление с заболеванием регистрируется для разных локусов.

Взаимосвязь полиморфизма генов ИЛ с атопической БА

Наиболее распространенным приемом анализа патогенетической значимости генов-кандидатов МФЗ является исследование ассоциаций их полиморфных вариантов с интегральными клиническими фенотипами заболеваний [25]. Сущест-

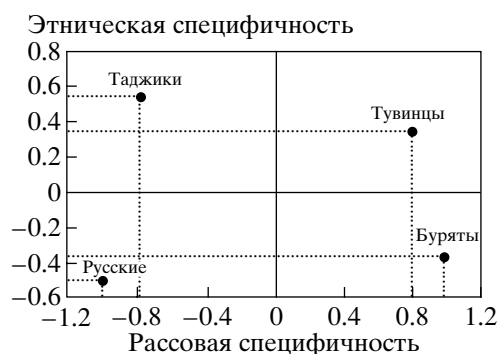


Рис. 2. Размещение исследованных популяций в пространстве переменных, отражающих их близость/удаленность относительно друг друга по данным о полиморфизме генов интерлейкинов и их рецепторов. Пунктиром указаны проекции на оси координат.

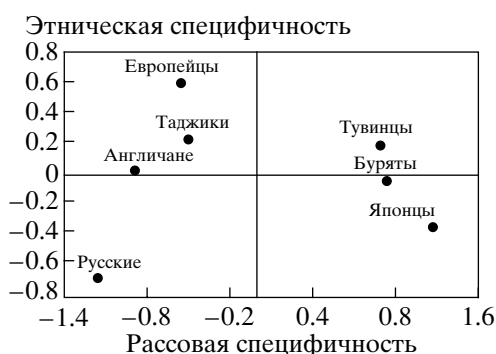


Рис. 3. Размещение семи популяций в пространстве переменных, отражающих их близость/удаленность относительно друг друга по данным о полиморфизме генов интерлейкинов и их рецепторов. Русские, таджики, буряты и тувинцы – собственные данные; остальные популяции – данные других авторов [10, 13, 18–23].

вует несколько причин ассоциаций полиморфизмов с болезнями [26]: собственная функциональная (патогенетическая) значимость ассоциированного локуса, его неравновесие по сцеплению с другим причинным геном и артефакт, связанный с эффектами популяционной структуры (подразделенность, метисация, инбридинг). В настоящее время принято, что для идентификации генов подверженности к сложным заболеваниям наиболее перспективны исследования на семейном материале, которые нечувствительны к эффектам популяционной структуры и поэтому более точны.

Для анализа ассоциаций исследуемого полиморфизма генов ИЛ и их рецепторов с БА использовали тест на неравновесие при наследовании TDT, который заключается в проверке случайности сегрегации аллелей, унаследованных больными детьми от гетерозиготных родителей [16]. Тест TDT для диаллельного маркерного локуса сводится к сравнению частот альтернативных аллелей у больных потомков гетерозиготных родителей: если один из аллелей существенно чаще встречается у больных потомков, считается, что он ассоциирован с заболеванием.

Учитывая относительно небольшой объем исследованной выборки, для точной оценки уровня значимости для TDT была использована процедура Монте-Карло, реализованная в программе Nх23. Суть метода заключается в случайной генерации большого числа псевдовыборок такого же размера, как и реальная, исходя из предложения о случайной трансмиссии аллелей. Для каждой из этих выборок оценивается величина TDT и уровень значимости. Те уровни значимости, которые равны или меньше полученного для настоящей выборки, используются для расчета точного уровня значимости для анализируемой выборки. В данном исследовании генерировали 15000 псевдовыборок.

Анализ наследования аллелей генов ИЛ и их рецепторов пробандами, больными атопической БА, с помощью TDT показал наличие статистически значимой ассоциации с заболеванием аллеля С-703 гена *IL5* (табл. 3). Для других полиморфизмов связи с БА не обнаружено.

Ассоциация аллеля С-703 гена *IL5* с атопической БА найдена впервые. Так как транзикация С-703Т локализована в промоторной области *IL5*, ее фенотипический эффект может заключаться в изменении экспрессии гена и, следовательно, уровня его белкового продукта, ИЛ-5. Значение ИЛ-5 в патогенезе БА связано с его способностью к активации эозинофилов, принимающих активное участие в развитии и хронизации воспаления бронхов [3]. Кроме того, ИЛ-5 стимулирует индуцированный ИЛ-4 синтез антител аллергии, IgE [27]. Таким образом, можно ожидать существенное значение ИЛ-5 в развитии как воспалительной, так и

аллергической составляющей атопической БА. Поскольку в исследованной выборке из Томска с БА был ассоциирован аллель С-703, можно предположить, что эта форма гена обладает более сильной по сравнению с Т-703 способностью к экспрессии и обуславливает повышенную продукцию ИЛ-5. Важным обстоятельством является то, что аллель С-703 *IL5* значимо чаще встречается у европеоидов по сравнению с монголоидами (рис. 1). То есть как фактор риска атопической БА аллель С-703 гена *IL5* имеет большее значение в европеоидных популяциях.

Ясно, что подверженность к атопической БА является полигенной и ген *IL5* – лишь одно из звеньев сети взаимодействующих между собой и с факторами внешней среды генов. В настоящее время круг генов-кандидатов БА хорошо очерчен и включает по крайней мере 100–150 генов различных систем организма [28]. В их числе гены факторов гуморального иммунного ответа и воспаления, гены рецепторов, внутриклеточных сигнальных молекул и факторов транскрипции, гены метаболизма медиаторов воспаления и ксенобиотиков. На сегодняшний день в исследованиях генетической основы атопической БА имеет место высокая согласованность результатов картирования и анализов ассоциаций. Опубликованы итоги 10 полногеномных скринингов генов подверженности к заболеванию. Активно проводятся работы на модельных животных (в основном на мышах). Более того, уже появляются сообщения о попытках генотерапии БА. Так, установлено, что вдыхание аэрозолей, содержащих антисмысловые олигонуклеотиды против мРНК рецептора аденозина А₁ существенно снижает реактивность дыхательных путей у кроликов с астмалеподобным фенотипом [29]. Этот пример действительности генотерапии при БА свидетельствует о том, что знание тонких генетических механизмов формирования патологического состояния предоставляет реальную возможность целенаправленного и эффективного лечения МФЗ.

Тем не менее, до полного понимания генетической структуры подверженности к БА, по-видимому, все еще далеко, поскольку пока трудно представить всю картину взаимодействия наследственных и средовых факторов в реализации столь сложного патологического фенотипа. В этом отношении перспективными являются активно развиваемые технологии микрочипов [30] и биоинформационные подходы к анализу генных сетей [31]. Обсуждая перспективы дальнейшего изучения генетических основ БА и МФЗ в целом, нужно отметить важность комплексного подхода к этой проблеме. Необходим одновременный анализ популяционной специфики и патогенетической значимости групп наследственных факторов, имеющих разную “сферу компетенции”, работающих на разные физиологические

системы организма. Выявление “полей действия” этих комплексов генов, их плеiotропных эффектов для патологических фенотипов и факторов риска заболеваний с учетом расовой и этнической принадлежности индивидов позволит решить сложную задачу установления генетической основы МФЗ и приблизит нас к пониманию механизмов взаимодействия полигенных систем в процессе реализации наследственной информации на уровне целостного организма.

Авторы выражают благодарность сотрудникам Отделения экспериментально медицины Университета Уэльса профессору Дж.М. Хопкину и Т. Ширакаве (г. Сванси, Великобритания) за предоставленные последовательности праймеров и генотипические данные англичан.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (гранты 01-04-48213 и 00-15-97876) и ГЦ ФНТП “Приоритетные направления генетики”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма // Русс. мед. журн. 1995. Т. 1. № 2. С. 7–10.
2. Holgate S.T. Asthma genetics: waiting for exhale // Nature Genet. 1997. V. 15. P. 227–229.
3. Chung K.F., Barnes P.J. Cytokines in asthma // Thorax. 1999. V. 54. P. 825–857.
4. Arai K.I., Lee F., Miyajima A. et al. Cytokines: co-ordinators of immune and inflammatory responses // Ann. Rev. Biochem. 1990. V. 59. P. 783–802.
5. Marsh D.G., Neely J.D., Breazeale D.R. et al. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentration // Science. 1994. V. 264. P. 1152–1156.
6. Meyers D.A., Postma D.S., Panhuysen C.I.M. et al. Evidence for a locus regulating total serum IgE levels mapping to chromosome 5 // Genomics. 1994. V. 23. P. 464–470.
7. Rosenwasser L.J., Klemm D.J., Dresback J.K. et al. Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy // Clin. Exptl. Allergy. 1995. V. 25. Suppl. P. 74–78.
8. Walley A.J., Cookson W.O.C.M. Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for association with asthma and atopy // J. Med. Genet. 1996. V. 33. P. 689–692.
9. Hershey G.K.K., Friedrich M.F., Esswein L.A. et al. The association of atopy with a gain-of-function mutation in the α subunit of the interleukin-4 receptor // New Eng. J. Med. 1997. V. 337. P. 1720–1725.
10. Mitsuyasu H., Yanagihara Y., Mao X.-Q. et al. Dominant effect of Ile50Val variant of the human IL-4 receptor α -chain in IgE synthesis // J. Immunol. 1999. V. 162. P. 1227–1231.
11. Бронхиальная астма. Глобальная стратегия. Совместный доклад Национального института Сердца, Легкие, Кровь и Всемирной организации здравоохранения // Пульмонология. 1996. Приложение.
12. Laitinen T., Kauppi P., Ignatius J. et al. Genetic control of serum IgE levels and asthma: linkage and linkage disequilibrium studies in an isolated population // Hum. Mol. Genet. 1997. V. 6. P. 2069–2076.
13. Noguchi E., Shibasaki M., Arinami T. et al. No association between atopy/asthma and the Ile50Val polymorphism of IL-4 receptor // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999. V. 160. P. 342–345.
14. Lahiri D.K., Bye S., Nunberg J.I. et al. A non-organic and non-enzymatic extraction method gives higher yields of genomic DNA from whole-blood samples than do nine other methods used // J. Biochem. Biophys. Methods. 1992. V. 25. P. 193–205.
15. Бейр Б. Анализ генетических данных. М.: Мир, 1995. 400 с.
16. Spielman R.S., McGinnis R.E., Ewens W.J. Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) // Am. J. Hum. Genet. 1993. V. 52. P. 506–516.
17. Morton N.E. Significance levels in complex inheritance // Am. J. Hum. Genet. 1998. V. 62. P. 690–697.
18. Bleeker E.R., Scott A.F., Xu J. et al. fine mapping of asthma susceptibility locus to 5q31–33 // Am. J. Hum. Genet. 1996. V. 49. Suppl. A213.
19. Kawashima T., Noguchi E., Arinami T. et al. Linkage and association of an interleukin 4 gene polymorphism with atopic dermatitis in Japanese families // J. Med. Genet. 1998. V. 35. P. 502–504.
20. Kruse S., Japha T., Tedner M. et al. The polymorphisms S503P and Q576R in the interleukin-4-receptor α gene are associated with atopy and influence the signal transduction // Immunology. 1999. V. 96. P. 365–371.
21. Mitsuyasu H., Izuhara K., Mao X.-Q. et al. Ile50Val variants or IL4R α upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma // Nature Genet. 1998. V. 19. P. 119–120.
22. Noguchi E., Shibasaki M., Arinami T. et al. Lack of association of atopy/asthma and the interleukin-4 receptor α gene in Japanese // Clin. Exptl. Allergy. 1999. V. 29. P. 228–233.
23. Ziani S., Chavernoz N., Morgant G.A. The interleukin-4 receptor variants 150V and Q576R in atopic children // Am. J. Hum. Genet. 1999. V. 65. Suppl. A455.
24. Пузырев В.П., Эрдыниева Л.С., Кучер А.Н., Назаренко Л.П. Генетико-эпидемиологическое исследование населения Тувы. Томск: СТТ, 1999. 256 с.
25. Пузырев В.П., Степанов В.А. Патологическая анатомия генома человека. Новосибирск: Наука, 1997. 224 с.
26. Lander E.S., Schork N.J. Genetic dissection of complex traits // Science. 1994. V. 265. P. 2037–2047.
27. Takatsu K. Interleukin 5 and B cell differentiation // Cytokine and Growth Factor Rev. 1998. V. 9. P. 25–35.
28. Фрейдлин М.Б. Генетические основы подверженности к бронхиальной астме // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / Под ред. А.Б. Масленникова. Новосибирск: Манускрипт, 2001. С. 130–141.

29. *Nyce J.W., Metzger W.J.* DNA anitise sense therapy for asthma in an animal model // *Nature*. 1997. V. 385. P. 721–725.
30. *Lebed J.B., Chechetkin V.R., Turygin A.Y. et al.* Comparison of complex DNA mixtures with generic oligonucleotide microchips // *J. Biomolec. Structure Dynam.* 2001. V. 18. P. 1–11.
31. *Колчанов Н.А., Ананько Е.А., Колпаков Ф.А. и др.* Генные сети // *Молекуляр. биол.* 2000. Т. 34. № 4. С. 533–544.