

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 17А У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Сташкевич Д.С.¹, Девальд И.В.^{1,2}, Хромова Е.Б.¹, Евдокимов А.В.¹,
Суслова Т.А.^{1,3}

¹ ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

³ ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», г. Челябинск, Россия

Резюме. Интерлейкин 17 играет ключевую роль в иммунопатогенезе ревматоидного артрита (РА). Данный цитокин служит связующим звеном между активацией врожденного и приобретенного иммунитета, но повышение экспрессии IL-17A может выступать одной из причин неконтролируемого воспаления и формирования иммунопатологических реакций. Среди представителей семейства интерлейкина 17 наиболее изученным является IL-17A, который характеризуется наибольшей биологической активностью. IL-17A является одним из важных медиаторов иммунитета, способен индуцировать продукцию других провоспалительных цитокинов и хемокинов и способствовать рекрутированию воспалительных клеток, таких как моноциты и нейтрофилы, в воспаленный орган. В генетической структуре IL-17A присутствует ряд полиморфных сайтов, однонуклеотидные замены в которых могут влиять на уровень экспрессии гена *IL17A*, одной из которых является точка -197G/A гена *IL17A*. Данное исследование посвящено оценке вклада генетического полиморфизма в позиции -197G/A гена *IL17A*. Работа относится к ретроспективному типу исследований «случай – контроль». Методом аллель-специфической ПЦР был определен полиморфизм -197G/A гена *IL17A* в группах больных ревматоидным артритом и здоровых доноров русской этнической группы. Данное исследование является фрагментом работы по оценке иммуногенетической составляющей ревматоидного артрита у русских Челябинской области. Частоты встречаемости аллелей и генотипов, полученные в работе, соответствуют закону Харди–Вайнберга. Распределение частот встречаемости в выборке русских Челябинской области характеризуется достаточно высокой частотой аллеля с заменой (40%), что характерно для европеоидных популяций. Таким образом, установлено, что для данного полиморфизма характерны межпопуляционные различия. Показано, данный полиморфизм не ассоциирован с предрасположенностью к ревматоидному артритом у русских Челябинской области. В ходе исследования у женщин, больных РА, были установлены некоторые изменения в частотах встречаемости аллелей и генотипов, образованных в результате однонуклеотидной замены в точке -197G/A *IL17A*. Однако полученные особенности не могут рассматриваться как дополнительные факторы риска развития РА у женщин. Аллель -197*G, гомозиготный генотип -197G/G могут рассматриваться как маркеры позднего возраста первой атаки РА у женщин. Проведенный анализ распределения аллелей и генотипов SNP -197G/A гена *IL17A* показал, что данный полиморфизм является малоинформативным

Адрес для переписки:

Сташкевич Дарья Сергеевна
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»
454001, Россия, г. Челябинск,
ул. Братьев Кашириных, 129.
Тел.: 8 (908) 069-38-72.
E-mail: stashkevich_darya@mail.ru

Address for correspondence:

Stashkevich Daria S.
Chelyabinsk State University
454001, Russian Federation, Chelyabinsk,
Br. Kashirin str., 129.
Phone: 7 (908) 069-38-72.
E-mail: stashkevich_darya@mail.ru

Образец цитирования:

Д.С. Сташкевич, И.В. Девальд, Е.Б. Хромова,
А.В. Евдокимов, Т.А. Суслова «Полиморфизм
гена интерлейкина 17А у больных ревматоидным
артритом» // Российский иммунологический журнал,
2020. Т. 23, № 3. С. 285–290.
doi: 10.46235/1028-7221-382-IGP
© Сташкевич Д.С. и соавт., 2020

For citation:

D.S. Stashkevich, I.V. Devald, E.B. Khromova,
A.V. Evdokimov, T.A. Suslova "Interleukin 17A gene
polymorphism in patients with rheumatoid arthritis", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 3, pp. 285–290.
doi: 10.46235/1028-7221-382-IGP
DOI: 10.46235/1028-7221-382-IGP

показателем и, вероятно, в большей степени ассоциирован с некоторыми клиническими вариантами течения РА, но не с предрасположенностью.

Ключевые слова: интерлейкин 17, генетический полиморфизм, ревматоидный артрит

INTERLEUKIN 17A GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Stashkevich D.S.^a, Devald I.V.^{a, b}, Khromova E.B.^a, Evdokimov A.V.^a,
Suslova T.A.^{a, c}

^a Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

^c Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Interleukin 17 plays a key role in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) and serves as a link between activation of innate and adaptive immune cells, whereas its increased expression may represent one of the causes for uncontrolled inflammation and formation of immunopathological reactions. Among members of the interleukin 17 family, most studied is IL-17A, which is characterized by peak biological activity. IL-17A is one of the important immune mediators able to induce production of other pro-inflammatory cytokines and chemokines and promote recruitment of inflammatory cells, such as monocytes and neutrophils, into inflamed organs. *IL17A* gene contains a number of polymorphic sites, wherein single-nucleotide substitutions particularly at position the -197G/A may affect its expression level. Here in case-control study we retrospectively examined contribution of genetic polymorphism at the -197G/A position within the *IL17A* gene. Allele-specific PCR was used to identify the -197G/A polymorphism in *IL17A* gene in groups of patients with rheumatoid arthritis and healthy donors of the Russian ethnic group. Our study was made within a framework on assessing immunogenetic component for rheumatoid arthritis in ethnic Russian subjects in the Chelyabinsk Region. Prevalence of *IL17A* gene alleles and genotypes obtained in the work is in agreement with the Hardy–Weinberg equilibrium, and is characterized by rather high frequency of allele replacement (40%), which is typical for Caucasoid populations. Thus, it was found that interpopulation differences are characteristic of such gene polymorphism shown not to be associated with predisposition to rheumatoid arthritis in ethnic Russian subjects in the Chelyabinsk Region. Women with RA in our study were found to display certain changes in frequencies of alleles and genotypes formed due to single-nucleotide substitution in *IL17A* gene at position -197G/A. However, in women such features cannot be considered as additional risk factors for developing RA. Allele -197*G, homozygous genotype -197G/G may be considered as markers of late-onset for the first RA attack in women. Analysis on distribution of SNP -197G/A alleles and genotypes within the *IL17A* gene showed that such polymorphism is of low value predictor likely being more associated with some RA clinical variants, but not with predisposition to RA development.

Keywords: interleukin 17, genetic polymorphism, rheumatoid arthritis

Введение

Интерлейкин 17A (IL-17A) — член большого семейства регуляторных и провоспалительных цитокинов, включающих шесть основных молекул: IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E и IL-17F, продуцируемых преимущественно Th17 [4, 5, 6]. Несмотря на сходство в строении, цитокины семейства IL-17 выполняют различ-

ные биологические функции. Наиболее изученными членами семейства являются IL-17A и IL-17F, которые могут существовать в виде гомодимеров или гетеродимера IL-17A/F [5, 6]. Функции данных белков похожи, однако IL-17A более активен, чем IL-17F, а гетеродимер IL-17A/F обладает промежуточной активностью. IL-17A является одним из важных медиаторов иммуни-

тета, способен индуцировать продукцию других провоспалительных цитокинов и хемокинов и способствовать рекрутированию воспалительных клеток, таких как моноциты и нейтрофилы, в воспаленный орган [4, 5, 6]. Данный цитокин служит связующим звеном между активацией врожденного и приобретенного иммунитета [5]. Однако повышение выработки IL-17A лежит в основе неконтролируемого воспаления и может служить причиной формирования иммунопатологических реакций [3, 4, 5]. Это ключевой цитокин, участвующий в патогенезе аутоиммунных заболеваний, одним из которых является ревматоидный артрит [6].

Ревматоидный артрит (РА) – тяжелое инвалидирующее аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом и системным поражением внутренних органов [1, 2, 3, 7].

В настоящее время генетический компонент формирования предрасположенности к ревматоидному артриту включает целый комплекс генов-кандидатов, среди которых наиболее известные гены главного комплекса гистосовместимости (*HLA-DRB1*), фактора некроза опухолей (*TNFA*) и ряд других генов цитокинов и их рецепторов, матриксных металлопротеиназ [1, 3, 4, 5]. Одним из таких генов является ген *IL17A*, картируемый на коротком плече 6 хромосомы, на которой располагаются гены главного комплекса гистосовместимости I, II, III классов [1, 2]. В генетической структуре IL-17A присутствует ряд полиморфных сайтов, однонуклеотидные замены в которых могут влиять на уровень экспрессии гена *IL17A*, одной из которых является точка -197G/A гена *IL17A* [6].

Цель исследования – анализ ассоциации SNP -197G/A гена *IL17A* с предрасположенностью и вариабельностью течения ревматоидного артрита у русских Челябинской области.

Задачи исследования:

1. Изучить частоты встречаемости аллельных вариантов и генотипов полиморфизма -197G/A гена *IL17A* в исследуемых выборках.

2. Установить наличие или отсутствие ассоциации полиморфизма -197G/A гена *IL17A* с предрасположенностью и вариабельностью течения ревматоидного артрита у русской популяции ЧО.

Материалы и методы

Контрольная группа – потенциальные доноры стволовой клетки (113 человек, из них: женщины – 44, мужчины – 69, средний возраст

34,6±0,75 ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови») [1].

В работу включен 71 больной РА русской этнической группы (женщины – 60, мужчины – 11, средний возраст на момент обследования 51,7±1,3). Диагноз ставился врачами-ревматологами г. Челябинска [1]. Генотипирование *IL17A* (SNPs -197G/A) осуществлялось с использованием аллель-специфической ПЦР (ООО НПФ «Литех», Москва).

Статистическая обработка проводилась с использованием критериев Пирсона (χ^2), точного двустороннего критерия Фишера, OR с расчетом 95% ДИ [1]. Значимость различий между группами при $p \leq 0,05$, тенденция к различиям определялась для промежуточных значений p ($0,05 < p \leq 0,10$).

Результаты и обсуждение

Данное исследование является фрагментом работы по оценке иммуногенетической составляющей ревматоидного артрита у русских Челябинской области [1].

Наблюдаемые в исследовании частоты аллелей и генотипов SNP -197G/A гена *IL17A* в выборках больных РА и условно здоровых лиц соответствуют ожидаемым согласно равновесию Харди–Вайнберга. Распределение частот встречаемости в выборке русских Челябинской области характеризуется достаточно высокой частотой аллеля с заменой (40%), что характерно для европеоидных популяций [4, 5].

Результаты сравнительного анализа группы больных ревматоидным артритом и группы здоровых лиц показывают отсутствие ассоциации между однонуклеотидным полиморфизмом 197G/A гена *IL17A* и предрасположенностью к РА. В обеих группах наблюдалось преобладание гетерозиготного генотипа (42,3%, 49,6%; $\chi^2 = 0,9$, $p = 0,334$), среднее значение характерно для частот гомозиготного генотипа по предковому аллелю (38,3%, 36,3%; $\chi^2 = 0,06$, $p = 0,8$) и низкое – для генотипа гомозиготного по аллелю с заменой.

В связи с тем, что РА чаще поражает женщин, чем мужчин, и течение заболевания у женщин характеризуется большей тяжестью и редкими ремиссиями [7], была проведена оценка частот аллелей и генотипов SNP -197G/A гена *IL17A* в зависимости от пола.

В ходе исследования у женщин, больных РА, были установлены некоторые изменения в частотах встречаемости аллелей и генотипов, образованных в результате однонуклеотидной замены

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ -197G/A ГЕНА IL17A У БОЛЬНЫХ РА И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

TABLE 1. FREQUENCIES OF ALLELES AND GENOTYPES -197G/A OF THE IL17A GENE IN RA PATIENTS AND HEALTHY WOMEN OF THE RUSSIAN POPULATION

IL17A -197	Женщины, больные РА Women with RA		Здоровые женщины Healthy women		Достоверность Authenticity χ^2 , p
	количество number	%	количество number	%	
		120		88	
-197*A	53	44,17	40	45,45	0,034 p = 0,854
-197*G	67	55,83	48	54,55	
-197AA	14	23,33	7	15,91	0,352 p = 0,352
-197GA	25	41,67	26	59,09	3,084 p = 0,080
-197GG	21	35	11	25	1,192 p = 0,275

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФИЗМА -197G/A ГЕНА IL17A ЖЕНЩИН У БОЛЬНЫХ РА С РАННИМ И ПОЗДНИМ ВОЗРАСТОМ НАЧАЛА ЗАБОЛЕВАНИЯ

TABLE 2. FREQUENCY DISTRIBUTION OF ALLELES AND GENOTYPES OF THE -197G/A POLYMORPHISM OF THE IL17A GENE IN RA WOMEN WITH EARLY AND LATE AGE OF DISEASE ONSET

IL17A -197	Женщины, больные РА Ранний возраст начала Women with RA Early-onset		Женщины, больные РА Поздний возраст начала Women with RA Late-onset		Достоверность Authenticity χ^2 , p
	количество number	%	количество number	%	
		54		50	
-197*A	29	53,7	15	30	5,98 p = 0,015
-197*G	25	46,3	35	70	
-197AA	8	26,6	4	16	1,36 p = 0,24
-197GA	13	48,2	7	28	2,23 p = 0,136
-197GG	6	22,2	14	56	6,26 p = 0,013

в точке -197G/A IL17A (данные представлены в таблице 1).

Как видно из таблицы 1, группа больных женщин характеризовалась снижением частоты ге-

нотипа G/A (на уровне тенденции, $\chi^2 = 3,084$, p = 0,080, OR = 0,50, 95% ДИ 0,2÷1,1). Критерий отношения шансов показал, что полученные различия в частотах не являются значимыми для

прогнозирования вероятности развития РА у женщин.

Сравнение групп больных РА и здоровых мужчин показало, что в группе мужчин больных РА отсутствовали носители гомозиготного генотипа по аллелю с заменой. Других особенностей в распределении частот аллелей и генотипов в выборках мужчин больных РА и здоровых не было установлено (данные не приводятся).

На следующем этапе мы оценили вклад SNP -197G/A гена *IL17A* в раннее или позднее начало заболевания.

Возраст начала ревматоидного артрита – показатель неоднозначный в плане тяжести и прогноза заболевания. В ряде исследований показано, что у пациентов с ранним началом развития РА (до 40 лет) чаще наступает спонтанная ремиссия, а течение позднего старта РА (после 40 лет) характеризуется большей активностью заболевания и большей деструкцией суставов по сравнению с лицами первой группы [7]. В связи с преобладанием в группе РА женщин, мы провели оценку распределения аллелей и генотипов в зависимости от возраста начала РА только у женщин.

Из таблицы 2 видно, у женщин, больных РА, с началом болезни после 40 лет наблюдалось: повышение частоты аллеля предкового типа -197*G (70% против 46,3%, $\chi^2 = 5,98$, $p = 0,015$, OR = 2,7, 95% ДИ 1,2÷6,06); повышение носительства гомозиготного по предковому аллелю генотипа (56% против 22,2%, $\chi^2 = 6,26$, $p = 0,013$, OR = 4,5,

95% ДИ 1,3÷14,8). Согласно критерию отношения шансов, вероятность возникновения заболевания после 40 лет для носителей гомозиготного генотипа G/G выше в 4,5 раза по сравнению с носительством других генотипов -197G/A гена *IL17A*.

Полученные в ходе исследования результаты согласуются с рядом работ [4, 5] об отсутствии значимой ассоциации между SNP -197G/A гена *IL17A* и предрасположенностью к ревматоидному артриту.

Результаты нашей работы об анализе возможной связи вариабельности течения РА и носительства полиморфных вариантов гена *IL17A* соответствуют данным, полученным в исследованиях, проведенных Furuya T. и соавт. в 2007 году [2].

Заключение

Несмотря на то, что первый член семейства IL-17 был открыт в 1993 году, исследований, посвященных вкладу всех представителей семейства IL-17 в иммунопатогенез ревматоидного артрита и оценке ассоциации генетического полиморфизма семейства их генов недостаточно, а имеющиеся результаты противоречивы.

Проведенный анализ распределения аллелей и генотипов SNP -197G/A гена *IL17A* показал, что данный полиморфизм является малоинформативным показателем и, вероятно, в большей степени ассоциирован с некоторыми клиническими вариантами течения РА, но не с предрасположенностью.

Список литературы / References

1. Бурмистрова А.Л., Сташкевич Д.С., Сулова Т.А., Девальд И.В., Исаканова А.О., Димчева О.Н. . Молекулярно-генетический анализ полиморфизмов генов цитокинов – интерлейкина-1 β , рецептора антагониста интерлейкина-1 и интерлейкина-4 у больных ревматоидным артритом башкирской этнической группы, проживающих в Челябинской области // Медицинская иммунология, 2007. Т. 9, № 6. С. 631-634. [Burmistrova A.L., Stashkevich D.S., Suslova T.A., Devald I.V., Issakanova A.O., Dimcheva O.N.. Molecular genetic analysis of polymorphisms of cytokine interleukin-1 β genes, interleukin-1 and interleukin-4 antagonist receptors in patients with rheumatoid arthritis of the Bashkir ethnic group living in the Chelyabinsk region. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2007, Vol. 9, no. 6, pp. 631-634. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2007-6-631-634.
2. Furuya T., Hakoda M., Ichikawa N., Higami K., Nanke Y., Yago T., Kamatani N., Kotake S. Associations between HLA-DRB1, RANK, RANKL, OPG, and IL-17 genotypes and disease severity phenotypes in Japanese patients with early rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.*, 2007, Vol. 26, no. 12, pp. 2137-2141.
3. Magyari L., Varszegi D., Kovesdi E., Interleukins and interleukin receptors in rheumatoid arthritis: Research, diagnostics and clinical implications. *World J. Orthop.*, 2014, Vol. 5, no. 4, pp. 516-536.
4. Nordang G.B., Viken M.K., Hollis-Moffatt J.E. Association analysis of the interleukin 17A gene in Caucasian rheumatoid arthritis patients from Norway and New Zealand. *Rheumatology*, 2009, Vol. 48, no. 4, pp. 367-370.
5. Pawlik A., Kotrych D., Malinowski D. IL17A and IL17F gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet. Disord.*, 2016, Vol. 17, 208. doi: 10.1186/s12891-016-1064-1.

6. Rafiei A., Hosseini V., Janbabai G., Polymorphism in the interleukin-17A promoter contributes to gastric cancer. *World J. Gastroenterol.*, 2013, Vol. 19, no. 34, pp. 5693-5699.

7. Symmons D.P.M. Environmental factors and the outcome of rheumatoid arthritis. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, 2003, Vol. 17, no. 5, pp. 717-727.

Авторы:

Сташкевич Д.С. — к.б.н., декан биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Девальд И.В. — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»; доцент кафедры терапии Института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Россия

Хромова Е.Б. — к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Евдокимов А.В. — к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Суслова Т.А. — к.м.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»; заведующая отделом — врач клинической лабораторной диагностики отдела молекулярно-биологической диагностики ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», г. Челябинск, Россия

Authors:

Stashkevich D.S., PhD (Biology), Dean, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Devald I.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University; Associate Professor, Department of Therapy, Institute of Continuing Professional Education. South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Khromova E.B., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Evdokimov A.V., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Suslova T.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University; Physician of Clinical Laboratory Diagnostics, Head, Department of Molecular Biological Diagnostics, Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 28.06.2020
Принята к печати 04.07.2020

Received 28.06.2020
Accepted 04.07.2020