

© Локшина Э.Э., Зайцева О.В., 2005

Э.Э. Локшина, О.В. Зайцева

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ АТОПИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Российский Государственный Медицинский Университет, Москва

Последние 20—30 лет характеризуются значительным увеличением числа атопических IgE-опосредованных заболеваний, в том числе таких как бронхиальная астма (БА), аллергический ринит, атопический дерматит, поллиноз, аллергический конъюнктивит, причем, как среди взрослого, так и детского населения [1]. В Европе каждый третий ребенок страдает аллергией, а каждый десятый — БА. Это позволило ВОЗ в 1999 г. включить БА и аллергию в число приоритетных проблем на ближайшие 10 лет [2]. Многолетние клиничко-эпидемиологические исследования, проведенные в нашей стране в течение последних десятилетий, установили, что распространение аллергических заболеваний в разных регионах России колеблется от 15 до 35% [3], большую долю среди них (от 5 до 15%) занимает БА [4], причем среди заболевших увеличивается число детей раннего возраста. Это заставляет нас по-новому взглянуть на механизмы возникновения атопии, научиться выявлять ранние маркеры аллергического воспаления у детей групп риска, используя клиничко-функциональные и генетические методы обследования, что позволит своевременно осуществлять мероприятия первичной и вторичной профилактики этих социально значимых заболеваний.

Согласно современной концепции, аллергическое воспаление проявляется дисбалансом между различными типами Т-клеток и вследствие этого — повышенным синтезом IgE. Под действием аллергенных стимулов происходит активация и пролиферация Th2-субпопуляции Т-лимфоцитов с последующим выделением ими цитокинов (ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ10, ИЛ13 и др.), индуцирующих гиперпродукцию общего и специфических IgE. Эти события инициируют развитие хронического аллергического воспаления, а также способствуют формированию гиперреактивности.

БА — аллергическое заболевание, характеризующееся повторными эпизодами обструкции бронхов, патогенетическую основу которого составляют иммунное (атопическое) воспаление дыхательных путей и гиперреактивность бронхов (ГРБ), воз-

никающая при этом бронхиальная обструкция обратима под действием проводимого лечения либо спонтанно [5].

В становлении БА играют роль две основные группы факторов — это генетические и внешнесредовые. Среди факторов внешней среды выделяют, прежде всего, промышленные и бытовые поллютанты, аэроаллергены, курение, респираторные и паразитарные инфекции, социально-экономический статус семьи и др. Внешние факторы модифицируют вероятность развития БА у предрасположенных к этому людей, в результате чего происходит сенсibilизация организма и развитие заболевания в виде появления астматических приступов и длительного сохранения симптомов [6].

Однако проведенные многочисленные исследования показали, что в формировании БА генетические факторы играют важную роль. В 50—60-е годы XX века была доказана теория мультифакториального наследования атопических заболеваний, согласно которой развитие БА возможно только в результате взаимодействия средовых и наследственных факторов. В этот же период времени К. Ishizaka и Т. Ishizaka доказали, что биологической основой атопии является IgE. Это имело существенное значение, поскольку у детей БА в абсолютном большинстве случаев формируется на основе атопии [7]. Позднее были проведены множественные семейные, близнецовые, генетические, эпидемиологические и математические методы исследования с целью выявления наследственных закономерностей в развитии БА. В результате было установлено, что доля генетической составляющей IgE находится в пределах 50—84% [8, 9]. Кроме того, была установлена связь ГРБ с развитием аллергического воспаления в бронхах; генетический вклад этого феномена в реализацию бронхообструкции составляет до 66% [10]. Клиничко-генеалогический анализ показал, что вероятность возникновения аллергического заболевания у ребенка зависит от того, кто из родителей страдает аллергией. Были обследованы дети с атопическими заболева-

ями и их родители: у 33% отцов и 45% матерей обнаружены признаки атопии, при этом БА была выявлена у 25% отцов и 40% матерей. В настоящее время доказано, что атопический статус матери является более сильным предиктором атопии, чем атопический статус отца [11]. Обнаружено, что риск развития атопии у детей составляет 0—20%, если родители не имеют признаков атопии, 30—50%, если один из родителей имеет признаки атопии, и 60—100%, если оба родителя имеют атопические заболевания. Обнаруживаемая у пробандов с атопией и их родственников склонность к повышению уровня IgE свидетельствует о генетической детерминированности IgE-ответа [12].

Самая большая трудность, с которой столкнулись исследователи, это то, что БА не относится к моногенным заболеваниям, например, таким как муковисцидоз. Поэтому традиционную схему изучения ген — болезнь у больных БА использовать нельзя [13]. С позиций генетики, в настоящее время БА рассматривается как мультифакториальное полигенное заболевание, передача которого потомству осуществляется группой генов. В 80—90-х годах XX века были проведены многочисленные исследования с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) в целях позиционного клонирования и изучения генов-кандидатов. Позиционное клонирование представляет собой исследование сцепления фенотипа болезни с известными маркерами в геноме человека. При изучении генов-кандидатов выбирают ген, чей продукт вовлечен в патогенез заболевания, и изучают сцепление его различных аллелей с фенотипом заболевания [14]. Основными характеристиками фенотипа БА являются ГРБ, эозинофилия, атопия и увеличение уровня IgE, как результат взаимодействия множественных генных вариантов.

В результате проведенных исследований были определены следующие кандидатные участки хромосом: 1p31, 1p32, 1p36, 2q14, 2q21—31, 3q32, 3p24.2—22, 4q35, 5p12, 5q23—33, 6p21.3—23, 7p14—15, 7q, 11p13, 11q13, 11q15, 11q21—23, 12q13—24, 13q31, 14q, 16q21, 16q23, 17p11.1—11.2, 17q12—21, 19q13, 20q13, 21q21 [15, 16].

Проведенные исследования показали, что при формировании БА генетические факторы оказывают наибольшее влияние на синтез общего и специфических IgE, продукцию противовоспалительных цитокинов, развитие ГРБ, экспрессию рецепторов IgE на иммунокомпетентных клетках, а также на β_2 -адренорецепторный полиморфизм [12].

Гены наиболее существенных для БА интерлейкинов (ИЛ4, ИЛ5, ИЛ9, ИЛ13) расположены тандемно в кластере на хромосоме 5q31—33 [17]. В нескольких исследованиях было установлено сцепление БА и ассоциированных с этим локусом признаков заболевания [18, 19]. В НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН и Сибирском государственном медицинском университете было проведено исследование, целью которого было изучение ассоциаций по-

лиморфизма генов интерлейкинов и их рецепторов в сочетании с признаками атопии (высокий уровень общего и специфических IgE, семейный атопический анамнез, положительные кожно-скарификационные пробы, ГРБ). В результате была получена достоверная связь исследуемых полиморфизмов с патологическими признаками для аллелей С-703Т гена ИЛ5, Т113М гена ИЛ9 и Q551R гена α -цепи рецептора ИЛ4 (IL4RA). Так, аллель С-703 гена ИЛ5 был ассоциирован с БА, ГРБ и положительными кожно-скарификационными пробами, в то время как Т113М гена ИЛ9 — с ГРБ, а аллель Q551 гена IL4RA — с атопией. Была установлена статистически значимая взаимосвязь аллелей локусов G+717C и С-590Т гена ИЛ4 с тяжестью течения БА. Частоты аллелей G+717 и С-590 были достоверно выше у пробандов с тяжелой БА по сравнению с пробандами с легким течением БА, в то время как больные БА средней степени тяжести имели промежуточные значения частот этих аллелей [20]. Кроме того, было обнаружено, что аллель -703С полиморфизма -703С/Т гена ИЛ5 и сочетание генотипов -703СС/551RR ассоциированы с высоким риском развития БА у детей с атопическим дерматитом [21]. В основе полученных ассоциаций аллелей с БА и патологическими качественными признаками, видимо, лежит функциональная значимость генов интерлейкинов — важных регуляторов иммунного ответа и воспаления. Таким образом, данные генетические маркеры могут быть использованы в качестве предикторов в диагностике аллергических заболеваний у детей.

В настоящее время известно, что контроль продукции специфических IgE-антител осуществляется классическими генами иммунного ответа (I-гены), которые сцеплены с главной системой гистосовместимости (HLA). Главный комплекс гистосовместимости человека или система HLA представляет собой комплекс генов, которые сами по себе, а также через кодируемые ими продукты, выполняют важнейшие биологические функции, и в первую очередь обеспечивают генетический контроль иммунного ответа и взаимодействие различных клеточных элементов, реализующих иммунный ответ [22].

Существует связь типа сенсibilизации с субвариантами аллелей II класса HLA (короткое плечо 6q хромосомы 6). Молекулярный анализ выявил значительно более высокие коэффициенты относительного риска развития отдельных видов сенсibilизации с аллелями HLA DR, HLA DQ, HLA DP. Такие ассоциации вначале были обнаружены при сенсibilизации некоторыми пыльцевыми аллергенами, а в дальнейшем — при сенсibilизации многими другими антигенами [23]. «Маркерные» аллели определяют предрасположенность к формированию атопического фенотипа. Таким образом, некоторые гаплотипы II класса HLA являются предикторами атопических заболеваний [24]. Один из механизмов совместного расщепления фенотипа БА с HLA-гаплотипами подразумевает наличие неравновесного сцепления генов

комплекса HLA с каким-либо из «главных» генов, определяющих развитие заболевания. Таким образом, полученные результаты генетического исследования HLA-маркеров в семьях с отягощенным наследственным анамнезом по БА помогают объяснить развитие заболевания у одних и отсутствие его у других членов семьи при одинаковом внешнесредовом воздействии, а также позволяют выделять в семьях индивидуумов, имеющих более высокий риск формирования болезни [25].

Атопия, лежащая в основе возникновения БА, была маркирована на 11q хромосомы 11 — маркер D11S97, причем было показано, что передача атопии через этот ген возможна только по материнской линии [26]. В дальнейшем многочисленные исследования подтверждают существующую связь области 11q12—q13 с уровнем IgE-ответа в разных популяционных группах [27—29].

Еще одним претендентом на роль основного гена предрасположенности к атопии и БА является ген, кодирующий β -цепь высокоаффинного рецептора IgE [25, 26]. Новую варианту гена FcεR1 β -bE237G, картированного в 11q.13 связывают также с ГРБ и атопией, поскольку не были найдены гены, влияющие на ГРБ независимо от атопии [30].

Кроме того, ГРБ выявляет связь с генетическими маркерами сегмента 5q31.1—q.33 хромосомы 5, что указывает на сочетанное наследование предрасположенности к повышенному уровню IgE и предрасположенности к ГРБ и БА, а ген, ответственный за ГРБ, находится вблизи главного локуса регуляции общего уровня IgE [23]. По данным других исследователей, была выявлена связь некоторых регионов хромосом 4 и 7 с ГРБ [31]. Не так давно на хромосоме 20 (20p13) был открыт ген ADAM33 (a disintegrin and metalloprotease), отвечающий за развитие ГРБ при БА, с ним связывали надежды на раннюю диагностику БА [32], однако последние исследования показывают, что в различных популяциях нет такой четкой связи этого гена с БА и ГРБ [33].

В последнее время в качестве маркера аллергического воспаления стал широко использоваться ок-

сид азота (NO) в выдыхаемом воздухе. В хромосоме 12q был выявлен ген, контролирующий образование синтазы NO (NO51). Исследования в этом направлении продолжаются, и в будущем данный маркер можно будет использовать в комплексной диагностике аллергических заболеваний.

Таким образом, за последние несколько лет отмечен значительный прогресс в понимании генетической основы БА, что имеет существенное значение для детской аллергологии и пульмонологии. Стало понятным, что БА — это заболевание с вовлечением огромного количества генов, со сложным типом наследования. Очевидно, что это требует проведения широкомасштабных исследований, с учетом многих полиморфных вариантов генов, внешнесредовых факторов и изучения взаимосвязи как самих генетических факторов и факторов окружающей среды, так и взаимодействий между генами, участвующими в аллергическом воспалении.

Учитывая мультифакториальный характер БА, для выявления маркеров аллергического воспаления у детей из группы высокого риска по развитию БА и атопических заболеваний целесообразно использовать комплексный подход в обследовании, то есть находить разумное сочетание эпидемиологических, клинико-функциональных и генетических методов исследования. Кроме того, помимо прогностической оценки атопического анамнеза, исследования периферической крови на наличие эозинофилии, определения уровня общего и специфических IgE, проведения кожных проб с причинно значимыми аллергенами, изучения уровня NO в выдыхаемом воздухе, проведения провокационных проб для определения ГРБ, а также исследования цитокинового и интерферонового статуса, возможно, целесообразно включать в комплексное обследование детей из группы высокого риска по развитию БА и атопических заболеваний определение основных генетических маркеров аллергического воспаления. Комплексное изучение маркеров атопии у детей из групп риска может позволить разработать методы первичной и вторичной профилактики аллергических болезней, в том числе и БА.

ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала <http://www.pediatrjournal.ru> № 3/2006, приложение № 13.

Э.Э. Локшина, О.В. Зайцева

1. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema: ISAAC. // *Lancet*.— 1998.— Vol. 351.— P. 1225—1232.
2. European Allergy White Paper (Research, Epidemiology, Public health). / Ed. S. Meredith.— Brussels, 1999.— 57 p.
3. Ильина Н.И. Аллергология в различных регионах России по результатам клинико-эпидемиологических исследований: Автореф. дисс.... докт. мед. наук. — М., 1996. — 63 с.
4. Стандартизированные эпидемиологические исследования аллергических заболеваний у детей (Программа ISAAC в России). Пособие для врачей.— М., 1998.— 30 с.
5. Научно-практическая программа «Бронхиальная астма у детей: диагностика, лечение и профилактика».— М., 2004.— С. 6.
6. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы / Под ред. А.Г. Чучалина.— М., 2002.— С. 35—53.
7. Бронхиальная астма у детей / Под ред. С.Ю. Каганова.— М., 1999.— С. 39—51.
8. Blumental M.N., Bonini S. // *Genetic and environmental factors in clinical allergy*.— Minneapolis, 1990.— P. 20—31.
9. Зайцева О.В. Бронхиальная астма у детей (факторы риска, принципы первичной и вторичной профилактики): Автореф. дисс.... докт. мед. наук.— М., 2001.— 48 с.
10. Hopp R.J., Bewetra A.K., Watt G.D. et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* — 1984. — Vol. 14.— P. 61—66.
11. Prevention of Allergy and Asthma. Interim Report. // *ACI International*.— Geneva, 2000.— P. 288—302.
12. Балаболкин И.И. Бронхиальная астма у детей.— М., 2003.—С.34—46.
13. Чучалин А.Г. // *Пульмонология*.— 1999.— Vol. 9, № 4.— P. 6—10.
14. Саркисян Л.К. // *Вестник РУДН*.— 2003.— № 5.— С. 47.
15. Holloway J.W., Jongepier H., Beghe B. et al. // *The European Respiratory Monograph. Asthma*.— 2003.— Vol. 8, № 23.— P. 26—57.
16. Gao P.S., Huang S.K. // *Panminerva Medica*.— 2004.— Vol. 46.— P. 121—134.
17. Noguchi E., Nukaga-Nishio Y., Jian Z. et al. // *Hum. Immunol.* — 2001. — Vol. 62. — P. 1251—1257.

18. Postma D.S., Bleecker E.R., Amelung P.J. et al. // *N. Engl. J. Med.* — 1995. — Vol. 333.— P. 894—900.
19. Marsh D.G., Neely J.D., Breazeale D.R. et al. // *Science.* — 1994. — Vol. 264. — P. 1152—1156.
20. Фрейдин М.Б. Роль генов интерлейкинов и их рецепторов в формировании предрасположенности к atopической бронхиальной астме: Автореф. дисс.... канд. мед. наук.— Томск, 2001.— 21 с.
21. Федорова О.С. Клинико-генетическое обоснование эффективности первичной профилактики бронхиальной астмы в группе детей, больных atopическим дерматитом: Автореф. дисс.... канд. мед. наук.— Томск, 2005.— 23 с.
22. Медуницын Н.В., Алексеев Л.П. Система Ia антигенов.— М., 1987.— 174 с.
23. Резник И.Б. // *Аллергология.*— 1998.— № 1.— С. 8—14.
24. Stephan V., Schmid V., Frischer T. et al. // *Pediatr. Allergy Immunol.*— 1996.— Vol. 7, № 1.— P. 28—34.
25. Богорад А.Е. // *Пульмонология.*— 2002.— Vol. 12, № 1.— С. 47—56.
26. Cookson W.O., Sharp P.A., Fauh J.M. et al. // *Lancet.* — 1989. — Vol. 1. — P. 1292 —1295.
27. Huang S.K., Mathias R.A., Ehrlich E. et al. // *Hum. Genet.* — 2003. — Vol. 113.— P. 71 — 75.
28. Hsu F.C., Liang K.Y., Beaty T.H. // *Genet. Epidemiol.*— 2003.— Vol. 25.— P. 1 — 13.
29. Liang K.Y., Hsu F.C., Beaty T.H. // *Genet. Epidemiol.* — 2003. — Vol. 25. — P. 285 — 292.
30. Cookson W.O. // *Allergy.*— 1998. — Vol. 53, № 45. — P. 9 —14.
31. Daniels S.E., Bhattacharya S., James A. et al. // *Nature.* — 1996. — Vol. 6597. — P. 247 — 250.
32. Van Eerdewegh P., Little R.D., Dupuis J. // *Nature.* — 2002. — Vol. 418. — P. 426 — 430.
33. Schedel M., Schon C., Carr D. et al. // *Abstracts of World Allergy Congress.*— Munich, 2005.— P. 809.