

УДК 616.8:612.017.1:577.218

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА И ЭКСПРЕССИИ ОТДЕЛЬНЫХ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В ФОРМИРОВАНИИ ПАТОЛОГИИ (ОБЗОР)**Бодиенкова Г.М., Титова Ж.В.***ФГБНУ «Восточно – сибирский институт медико-экологических исследований»,
Ангарск, e-mail: immun11@yandex.ru*

В обзоре представлен анализ данных литературы, касающихся роли полиморфизма и экспрессии генов цитокиновой сети в формировании патологического процесса. Показано, что к центральным регуляторам гомеостаза относится цитокиновая система, обладающая широким спектром биологических эффектов. Функционирование цитокиновой сети в норме и при патологии базируется на механизмах, лежащих в основе регуляции экспрессии генов цитокинов. В работе представлено краткое описание основных характеристик экспрессии генов – тканеспецифичности и зависимости от активации клеточных сигнальных путей. Изложены структурные и функциональные особенности некоторых генов цитокинов.

Ключевые слова: цитокины, полиморфизм, экспрессия генов, патологический процесс

**POLYMORPHISM AND GENE EXPRESSION CYTOKINES
IN THE FORMATION OF PATHOLOGY (REVIEW)****Titova Z.V., Bodienskova G.M.***FGBNU «East-Siberian Institute of medical and environmental research»,
Angarsk, e-mail: immun11@yandex.ru*

The review presents an analysis of the literature on the role of polymorphism and gene expression of cytokine network in the formation of the pathological process. The central regulators of homeostasis are a cytokine system that has a wide range of biological effects. The functioning of the cytokine network in health and disease is based on the mechanisms the regulation of gene expression of cytokines. This paper provides a brief description of the main characteristics of gene expression – tissue specificity and depending on the activation of cellular signaling pathways. In this paper presents some structural and functional features of cytokine gene.

Keywords: cytokines, polymorphism, gene expression, pathological process

Ведущая роль в обеспечении и поддержании гомеостаза, формировании согласованных реакций отдельных систем организма в ответ на воздействие внешних и внутренних факторов принадлежит иммунной системе. К центральным регуляторам гомеостаза относится цитокиновая система, обладающая широким спектром биологических эффектов [2]. Образование и высвобождение высокоактивных молекул жестко регулируется генетическими механизмами [9], которые до настоящего времени изучены недостаточно. Известно, что функционирование цитокиновой сети в норме и при патологии базируется на механизмах, лежащих в основе регуляции экспрессии генов цитокинов [5]. Экспрессия генов подразумевает под собой процесс реализации закодированной в структуре ДНК информации на уровне мРНК и белков и начинается с транскрипции их нуклеотидной последовательности. В норме многие гены не экспрессируются, а степень экспрессии других имеет высокую индивидуальную вариабельность. Патологический процесс может приводить к активации заинтересованных генов или к репрессии активных. Это предоставляет клеткам широкие возможности для изменчивости, обеспечива-

ющей приспособленность их фенотипов к разнообразным условиям среды и физиологическим воздействиям. Часто гены экспрессируются последовательно: активация одного гена вызывает экспрессию другого или нескольких генов, что приводит к каскаду событий [11]. Уровень экспрессии в определенной степени зависит от полиморфизма генов. Однонуклеотидный полиморфизм заключается в отличии последовательности ДНК размером в один нуклеотид между гомологичными участками гомологичных хромосом. Такие отличия возникают в результате точечных мутаций. Влияние полиморфных вариантов на экспрессию обуславливает возможные сценарии развития заболевания. Это определяет необходимость исследования индивидуального генетического профиля для выработки стратегии превентивной и предикативной корректировки образа жизни каждого человека. Отметим, что изучение экспрессии отдельных генов цитокинов и их генных кластеров способствует решению одной из важнейших проблем молекулярной биологии – исследованию механизмов регуляции экспрессии генов эукариот [5]. Генетически детерминированная дисрегуляция цитокинов ведет к инициации не только

хронических воспалительных процессов, но и к генерализированным нарушениям. Известно, что дисбаланс в продукции белков, например, семейства интерлейкин-1 (IL-1 β , IL1RA, IL1RI), влияет на характер протекания воспалительных заболеваний и является одним из пусковых механизмов патологических процессов [10]. В нервной системе процессы постепенного и необратимого нарушения механизмов обеспечения структурной и функциональной целостности нейрона вызывают изменения в содержании цитокинов, нейротрофических факторов, нейропептидов и экспрессии различных «факторов выживания», которые защищают целостность генома и сохраняют также нейрональные стволовые клетки, обеспечивающие компенсацию поврежденных нейронов и глии [1]. Следует отметить, что большинство цитокинов не синтезируется клетками вне воспалительной реакции и иммунного ответа. При нормальном физиологическом состоянии спектр детектируемых мРНК цитокинов узок и уровень экспрессии соответствующих генов невысок. При повреждении тканей, воспалении, опухолеобразовании и при многих других патологических процессах спектр экспрессирующихся генов цитокинов, обладающих местной и дистантной активностью, значительно расширяется, а уровень экспрессии генов, обладающих базальной активностью, многократно возрастает [27]. Сопоставление уровня мРНК и содержания биологически активных молекул важно для понимания процессов регуляции и активации иммунной системы, и может объяснить физиологическое состояние организма человека [12].

Важными характеристиками экспрессии генов цитокинов являются ее тканеспецифичность и зависимость от активации клеточных сигнальных путей [5]. Тканеспецифический характер формируется в процессе клеточной дифференцировки [23] и часто определяется присутствием в соответствующих клетках специфического набора транскрипционных факторов [28]. Каскад внутриклеточных сигнальных реакций, следующий за взаимодействием определенных лигандов с их рецепторами на поверхности лимфоцита, завершается формированием комплексов регуляторных районов генов цитокинов с конститутивными и/или индуцибельными транскрипционными факторами, запускающих инициацию или ингибирование экспрессии генов [17].

Уровень экспрессии рецепторов в определенной степени зависит от аллельных вариантов полиморфных локусов, частота встречаемости которых может иметь значительные различия при патологических процессах. Полиморфные генетические сайты могут рассматриваться как маркеры предрасположенности или резистентности к различным заболеваниям, в патогенезе которых играет роль цитокиновая сеть [18]. В последнее время накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что полиморфизм генов цитокинов и их рецепторов вносит существенный вклад в содержание конечных продуктов экспрессии, влияя тем самым и на процессы, которые регулируют эти медиаторы. Это может оказывать влияние на эффективность применения ингибитора транскрипции определенного цитокина в качестве метода терапии.

Для гена *TNF* (фактор некроза опухоли) и его рецепторов, а также гена *IL1B* (интерлейкин-1 бета) известен целый ряд полиморфных вариантов в промоторных и интронных областях, которые ассоциированы с повышенной или пониженной продукцией цитокина, а также с развитием целого ряда инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний, ключевую роль в которых играют цитокины [13]. В хромосомном регионе 6p21.3 локализованы два гена *TNFA* и *TNFB*, кодирующих белки суперсемейства TNF. TNF- α , кодируемый геном *TNFA*, является провоспалительным цитокином, который задействован в регуляции широкого спектра биологических процессов: пролиферации, дифференцировки, апоптоза клеток [25], коагуляции и метаболизма липидов [15]. Данный цитокин секретируется главным образом макрофагами, хотя его способны продуцировать и другие типы клеток, например, T- и B-лимфоциты. Наработка TNF- α регулируется на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях [14]. Он связывается со специфическими мембранными рецепторами, что приводит к активации факторов транскрипции, регулирующих гены интерлейкинов 1 и 6 (IL-1, IL-6), простагландинов, фактора активации тромбоцитов, факторов роста (TGF- β), гормонов, в частности, адреналина [8]. Развитие патологических процессов, ключевым цитокином в которых является TNF- α , может быть обусловлено уровнем экспрессии не только его самого, но и его рецепторов. TNF- α реализует свои эффекты через 2 типа рецепторов, которые могут существовать в мембранно-связанной и в растворимой

форме: рецептор TNF α типа (*TNFR1*) известный как p55 или p60, и рецептор TNF β типа (*TNFR2*), обозначаемый как p75 или p80. От уровня их экспрессии зависят биологические эффекты этого медиатора. *TNFR1* конститутивно экспрессируется практически на всех клетках млекопитающих, тогда как *TNFR2* – преимущественно на клетках иммунной системы. Уровень экспрессии *TNFR1* и *TNFR2* может быть обусловлен аллельными вариантами кодирующих их генов, где в результате точечных мутаций может происходить изменение уровня транскрипции гена [7,13]. Следует отметить, что ген *TNFA* расположен в том же локусе, где закодированы молекулы главного комплекса гистосовместимости первого (*HLA-A, B, C*) и второго (*HLA-DP, DQ, DR*) классов. Промоторная область гена *TNFA* включает 8 полиморфных участков с единичными нуклеотидными заменами: – 1031T > C, – 863C > A, – 857C > T, – 575G > A, – 376G > A, – 308G > A, – 244G > A, – 238G > A. Однако наиболее значимыми считаются однонуклеотидные замены гуанина на аденин в позициях – 308 и – 238, которые вызывают изменения уровня продукции TNF- α . Показано, что клетки доноров, гомозиготных по генотипу A/A, синтезируют в 3 раза больше цитокина, чем клетки лиц с генотипом G/G [22]. Еще одним полиморфным участком гена *TNFA*, влияющим на продукцию цитокина, является – 238G > A. Однако в данном случае замена гуанина на аденин ведет не к повышению, а к понижению продукции белка. Стимуляция клеток цельной крови липополисахаридом показала, что клетки с генотипом G/A синтезируют в 1,5 раза меньше TNF- α , чем клетки с генотипом G/G. Таким образом, однонуклеотидные замены в положениях – 308G > A и 238G > A гена *TNFA* ассоциированы с повышением и снижением уровня экспрессии соответственно. Полиморфизм – 308G > A гена *TNFA* влияет и на транскрипционную активность гена *TNFB*, локализованного в том же кластере [4]. Ген *TNFB* тандемно связан с геном *TNFA* внутри комплекса генов *HLA* на хромосоме 6. Полиморфизм в гене *TNFB* – замена аденина на гуанин в первом нитроне в позиции + 252, приводит к синтезу мутантного аллеля размером 5,5 т.п.н., тогда как размер аллеля дикого типа составляет 10,5 т.п.н [32]. В зависимости от исследованной популяции носительство различных *TNFB*-аллелей ассоциировано с повышенной или пониженной секрецией TNF- α . В частности обнаружено, что по-

лиморфизм + 252A > G гена *TNFB* влияет на уровень секреции TNF α [4]. В результате транзиции + 252A > G значительно увеличивается и выработка TNF- β , зависящая от увеличения транскрипции гена, что подтверждено опытами *in vitro* [32]. Два аллельных полиморфизма – – 308G > A гена *TNFA* и + 252A > G гена *TNFB* – ассоциированы с многофакторными заболеваниями, например, сахарным диабетом 1 типа [8].

Особый интерес представляет иммунорегуляторный медиатор IL-4 (интерлейкин-4), имеющий большое значение для регуляции многих клеточных процессов. IL-4 принимает участие в ограничении воспалительного ответа, подавляя секрецию провоспалительных цитокинов и регулируя, таким образом, тяжесть повреждения тканей. Для этого медиатора показано, что его экспрессия происходит с участием альтернативного сплайсинга [22]. Ген *IL4* у человека экспрессируется в виде двух форм мРНК: полноразмерной формы, содержащей все 4 экзона и альтернативно сплайсированной, не содержащей 2-го экзона, названной IL-4 δ 2 [29]. Образование изоформ мРНК IL-4 у взрослого человека имеет тканеспецифический характер: обычно мРНК IL-4 δ 2 преобладает над полноразмерной формой и обнаруживается в мононуклеарных клетках (МНК) периферической крови человека в минорных количествах, а также в клетках тимуса и бронхо-альвеолярного лаважа, клеточных линиях B95/8 и HL60 [22]. Данные об экспрессии гена *IL4* недостаточно, а сведения по биологической активности противоречивы. Вместе с тем известно, что клеткам-эффекторам передается сигнал IL-4 с помощью белка-рецептора. Последний состоит из двух субъединиц: альфа-субъединицы, отвечающей за связывание с белком IL-4, и гамма-субъединицы, транскрипция, которой активируется белком IL-4. Ген *IL4RA* расположен на длинном плече хромосомы 16 (16p12.1) и существует в нескольких полиморфных вариантах. Полиморфизм гена *IL4RA* (1902A > G) приводит к замене аминокислоты глутамина на аргинин в 551 положении (551G > A), затрагивает структуру альфа-субъединицы рецептора и может влиять на передачу сигнала IL-4 [3]. Ген *IL4* расположен на длинном плече хромосомы 5 (5q31.1), содержит 4 экзона и имеет размер 10 т.п.н. Один из полиморфных вариантов гена *IL4* (– 590T > C) связан с изменением уровня экспрессии. Данный

полиморфизм ассоциирован с различными заболеваниями, включая атопический дерматит [21], болезнь Грейвса [19] и рассеянный склероз [20].

Важную роль в развитии и формировании многих патологических состояний играет противовоспалительный ИЛ-10. Установлено, что ИЛ-10 способен тормозить повреждение и тромбоз атеросклеротической бляшки благодаря угнетению активности макрофагов, которые являются основными триггерами гиперкоагуляции, ингибированию продукции провоспалительных цитокинов, снижению экспрессии тканевого фактора [6, 16]. Экспрессия ИЛ-10 обеспечивает защиту нейронов и глиальных клеток мозга преимущественно за счет ингибирования проапоптотических цитокинов и стимулирования защитных сигнальных реакций. Активация рецепторов ИЛ-10 регулирует сигнальные процессы с участием Jak1 (янускиназа-1)/Stat3 (преобразователь сигнала и активатор транскрипции-3), MAPK (митоген-активируемая протеинкиназа), phosphokinase-3 (фосфокиназа-3) и NF-κappaB (ядерный фактор транскрипции «каппа-би»), в свою очередь сопряженных с контролем митохондриального апоптоза. Относясь к числу противовоспалительных цитокинов, ИЛ-10 участвует в регуляции защитных процессов при нейродегенеративных расстройствах [30]. В исследованиях на моно – и дизиготных близнецах установлено, что межличностная вариабельность по концентрации ИЛ-10 в значительной мере (50–70%) обусловлена генетическими факторами [26]. Значительное внимание уделяется поиску функционально значимых полиморфных вариантов гена *IL10*. Показано, что полиморфизм промоторных участков гена *IL10* обуславливает межличностную вариабельность по степени продукции ИЛ-10 при антигенной стимуляции и формировании воспалительных клеточных реакций [31]. Продемонстрировано, что генотип – 627C/C гена *IL10* ассоциирован с повышенным, а генотип – 627C/A – с пониженным содержанием ИЛ-10 в крови, с более низким уровнем экспрессии гена *IL10* [24, 31], что является стимулом к развитию патологий нервной системы.

Таким образом, исследованиями многих авторов показано, что цитокиновая система относится к центральным регуляторам гомеостаза, обладая широким спектром биологических эффектов. Функционирование цитокиновой сети базируется на механизмах, лежащих в основе регуляции экс-

прессии генов цитокинов. Ключевую роль в развитии и течении многих патологических процессов в организме человека могут играть генетические факторы: аллельные варианты полиморфных локусов, эпистатическое влияние и экспрессия генов, которые важно учитывать при диагностике и разработке схемы лечения.

Список литературы

1. Гомазков О.А. Молекулярные механизмы регуляции нейробиохимических процессов. История и современный взгляд // Успехи физиол. наук. – 2003. – Т. 34, № 3. – С. 42–54.
2. Гуломов З.С., Симбирцев А.С., Янов Ю.К. и др. Роль цитокинов при лечении острых и хронических заболеваний верхних дыхательных путей (обзор литературы) // Российская оториноларингология. – 2008. – № 6. – С. 200–205.
3. Козловская М.А., Швед Н.Ю., Ярмолинская М.И. и др. Поиск ассоциации и анализ межгенных взаимодействий генов цитокиновой системы (IL-4, IL-4Ra, TNF-α, RANTES) при эндометриозе // Медицинская генетика. – 2012. – № 9. – С. 10–18.
4. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Тарасенко Н.В. и др. Изменчивость полиморфных вариантов генов факторов некроза опухоли и их рецепторов у представителей четырех этнических групп Сибирского региона. // Медицинская генетика. – 2010. – № 6. – С. 16–23.
5. Мордвинов В.А., Фурман Д.П. Цитокины: биологические свойства и регуляция экспрессии гена интерлейкина-5 человека. // Вестник ВОГиС. – 2009. – Т.13, № 1. – С. 53–67.
6. Мустафина О.Е., Тимашева Я.Р., Тулякова Г.Х. и др. Полиморфизм -627C>A гена интерлейкина 10: анализ ассоциаций с сердечно-сосудистыми заболеваниями // Медицинская генетика. – 2010. – № 5. – С. 12–17.
7. Пушкарева А.Э., Хусаинова Р.И., Валиев Р.Р., Хуснутдинова Э.К. Исследование полиморфных вариантов генов цитокинов – фактора некроза опухолей (TNFA и TNFB) у больных с хронической сердечной недостаточностью // Медицинская генетика. – 2010. – № 2. – С. 30–37.
8. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. – 2002. – № 1. – С. 9–16.
9. Симбирцев А.С., Громова А.Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 3–10.
10. Симбирцев А.С., Рыдловская А.В. Функциональный полиморфизм гена TNFA и патология // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т.4, № 3. – С. 4–10.
11. Сысоев К.А. Экспрессия мРНК хемокинов и хемокиновых рецепторов и содержание цитокинов в крови здоровых добровольцев // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 91–97.
12. Шкаруба Н.С., Васильев Ф.Ф., Силков А.Н. и др. Частота встречаемости аллельных вариантов генов TNFR1 в позициях – 609 и – 1207 и TNFR2 типа в позициях – 1709 и – 3609 среди условно-здоровых доноров и у больных ревматоидным // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 3, Ч. 2. – С. 237–240.
13. Яценко О.П. Изучение тканеспецифической экспрессии сплайс-вариантов мРНК IL-4 и IL-6 у мыши и человека: автореф. дис. канд. мед.наук. – Новосибирск, 2011. – 18 с.
14. Bihl M.P., Heinemann K., Rudiger J.J. et al. Identification of a novel IL-6 isoform binding to the endogenous IL-6 receptor. // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. – 2002. – V. 27(1). – P. 48–56.
15. Fernandez V., Videla L.A., Tapia G., Israel Y. Increases in tumor necrosis factor-alpha in response to thyroid hormone-induced liver oxidative stress in the rat // Free Radic. Res. – 2002. – V. 7. – P. 719–725.

16. Fugger L, Friese MA, Bell JI. From genes to function: the next challenge to understanding multiple sclerosis. // *Nat. Rev. Immunol.* – 2009. – V. 9(6). – P. 408–417.
17. Hoogendoorn B. Functional analysis of human promoter polymorphisms // *Hum. Mol. Genet.* – 2003. – V. 12(18). – P. 2249–2254.
18. Howell W.M., Turner S.J., Collins A. et al. Influence of TNF- α and LTA single nucleotide polymorphisms on susceptibility to and prognosis in cutaneous malignant melanoma in the British population // *Eur. J. Immunogenet.* – 2002. – V. 29. – P. 17–23.
19. Inoue T., Kira R., Nakao F. et al. Contribution of the interleukin-4 gene to susceptibility to subacute sclerosing panencephalitis // *Arch. Neurol.* – 2002. – V. 59. – P. 822–827.
20. 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.
21. Kestler D.P., Agarwal S., Cobb J. et al. Detection and analysis of an alternatively spliced isoform of interleukin-6 mRNA in peripheral blood mononuclear cells. // *Blood.* – 1995. – V. 86(12). – P. 4559–4567.
22. Li B., Carey M., Workman J.L. The role of chromatin during transcription // *Cell.* – 2007. – V. 128. – P. 707–719.
23. Lio D., Cardore G., Crivello A. et al. Opposite effects of interleukin 10 common gene polymorphisms in cardiovascular diseases and in successful ageing: genetic background of male centenarians is protective against coronary heart disease // *J. Med. Gen.* – 2004. – V. 41. – P. 790–794.
24. Pastinen T., Ge B., Hudson T.J. Influence of human genome polymorphism on gene expression // *Hum. Mol. Genet.* – 2006. – V. 15, № 1. – P. 9–16.
25. Qidwai T., Khan F. Tumor necrosis factor gene polymorphism and disease prevalence // *Scand. J. Immunol.* – 2011. – V. 74(6). – P. 522–547.
26. Rose-John S., Schooltink H. Cytokines are a therapeutic target for the prevention of inflammation-induced cancers // *Rec. Results Cancer Res.* – 2007. – V. 174. – P. 57–66.
27. Rudensky A.Y., Gavin M., Zheng Y. FOXP3 and NFAT: partners in tolerance // *Cell.* – 2006. – V. 126. – P. 253–256.
28. Seah G.T., Gao P.S., Hopkin J.M., Rook G.A. Interleukin-4 and its alternatively spliced variant (IL-4 δ 2) in patients with atopic asthma. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – V. 164(6). – P. 1016–1018.
29. Simpson J.L., Bischoff F.Z., Kamat A. et al. Genetics of endometriosis // *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* – 2003. – V. 30(1). – P. 21–40.
30. Suarez A., Castro P., Alonso R. et al. Interindividual variations in constitutive interleukin-10 messenger RNA and protein levels and their association with genetic polymorphisms // *Transplantation.* – 2003. – V. 75. – P. 711–717.
31. Torre-Amione G., Kapadia S., Lee J. et al. Tumor necrosis factor – and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart // *Circulation.* – 1996. – V. 93. – P. 704–711.
32. Um J.Y., Kim H.M. Frequencies of the tumor necrosis factor gene polymorphisms in the Korean population // *Hereditas.* – 2003. – V. 139. – P. 184–188.