

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА rs1800857 ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1А (IL1A) В РАЗВИТИИ САРКОИДОЗА ЛЕГКИХ (НА ПРИМЕРЕ ЖИТЕЛЕЙ КАРЕЛИИ)



И.Е. Малышева¹, Л.В. Топчиева¹, Э.Л. Тихонович²

¹Институт биологии — обособленное подразделение ФГБУН Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», г. Петрозаводск, Россия

²Республиканская больница им. В.А. Баранова, г. Петрозаводск, Россия

Резюме. Актуальность проблемы исследования обоснована недостаточной изученностью механизмов генетической регуляции воспалительного иммунного ответа при формировании гранулемы и развитии воспаления при саркоидозе легких. Считается, что развитие воспалительного процесса и образование саркоидных гранул возникает у людей с генетически обусловленной чувствительностью к воздействию неустановленного этиологического агента(ов). Сложность выявления причинного фактора(ов) заключается в многообразии клинических форм и проявлений заболевания и вовлечении сложных иммунологических процессов в патогенез данного заболевания. Процесс воспаления, его интенсивность, может зависеть в том числе от генетического фона организма. У носителей определенных комбинаций аллельных вариантов генов может наблюдаться как увеличение, так и уменьшение продукции провоспалительных факторов. Это, в свою очередь, может определять восприимчивость людей к возникновению саркоидоза легких, а также изменять клинические характеристики течения данного заболевания и силу развития воспалительного ответа со стороны иммунной системы. Необходимо также отметить, что генетический фон различается в разных этнических группах. Следовательно, генетический фон и факторы окружающей среды, этническая принадлежность, могут определять различия в частоте заболевания и его фенотипе. В связи с этим является актуальным поиск аллельных вариаций генов, которые могли бы выступать в качестве прогностических маркеров развития и прогрессирования саркоидоза легких, а также характеризовали бы особенности его течения у пациентов. Сведения о связи носительства аллельных вариаций генов с восприимчивостью к саркоидозу легких, а также вклад полиморфного варианта rs1800857 гена *IL1A* в развитие, прогрессирование и терапию данного заболевания еще весьма малочисленны и зачастую противоречивы. В настоящем исследовании проведена оценка риска развития саркоидоза легких у русского населения Республики Карелия. Согласно результатам исследований, установлена значимая ассо-

Адрес для переписки:

Малышева Ирина Евгеньевна
185910, Россия, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11,
Институт биологии — обособленное подразделение
ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр» РАН.
Тел.: 8 (8142) 57-31-07. Факс: 8 (8142) 76-98-10.
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Contacts:

Irina E. Malysheva
185910, Russian Federation, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11,
Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the RAS.
Phone: +7 (8142) 57-31-07. Fax: +7 (8142) 76-98-10.
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Для цитирования:

Малышева И.Е., Топчиева Л.В., Тихонович Э.Л. Прогностическая значимость генетического полиморфизма rs1800857 гена интерлейкина-1а (IL1A) в развитии саркоидоза легких (на примере жителей Карелии) // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 967–971. doi: 10.15789/2220-7619-PSO-9635

Citation:

Malysheva I.E., Topchieva L.V., Tikhonovich E.L. Prognostic significance of interleukin-1a (IL1A) rs1800857 genetic polymorphism in development of pulmonary sarcoidosis in residents of Karelia // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 967–971. doi: 10.15789/2220-7619-PSO-9635

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Карельского научного центра Российской академии наук (тема FMEN-2022-0009).

Financial support of the research was provided from the federal budget funds for the state assignment of the Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences (topic FMEN-2022-0009).

циация ($p < 0,001$) указанного аллельного полиморфизма гена *IL1A* с саркоидозом легких. Риск развития данного заболевания повышен в 3,47 раза (95% ДИ 2,41–5,01) у носителей Т-аллеля по указанному полиморфизму гена *IL1A* ($p < 0,001$). Таким образом, однонуклеотидный полиморфизм rs1800857 гена *IL1A* связан с риском развития саркоидоза легких у русского населения Республики Карелия.

Ключевые слова: воспаление, гранулема, саркоидоз легких, цитокины, инфекционные агенты, полиморфизм генов, ген *IL1A*.

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF INTERLEUKIN-1A (*IL1A*) rs1800857 GENETIC POLYMORPHISM IN DEVELOP PULMONARY SARCOIDOSIS IN RESIDENTS OF KARELIA

Malysheva I.E.^a, Topchieva L.V.^a, Tikhonovich E.L.^b

^aInstitute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

^bV.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russian Federation

Abstract. The relevance of the research problem is justified by insufficient knowledge of the mechanisms for genetic regulation of inflammatory immune response during granuloma formation and arising inflammation in pulmonary sarcoidosis. It is believed that development of inflammatory process and formation of sarcoid granulomas occurs in subjects with genetically determined sensitivity to the effects of an unidentified etiological agent(s). The complexity of determining a causative factor(s) is accounted for by a variety of clinical forms and manifestations of the disease as well as a role for multifaceted immunological events in the pathogenesis of this disease. The process of inflammation, its intensity, may depend, among other issues, on host genetic background. Both enhanced and lowered production of pro-inflammatory factors can be observed in carriers of certain combinations of gene allelic variants. This, in turn, may determine human susceptibility to emergence of pulmonary sarcoidosis as well as alter clinical characteristics of the disease course and magnitude of developing immune inflammatory response. It should also be noted that the genetic background differs in various ethnic groups. Therefore, genetic background and environmental cues, ethnicity, may account for differed disease prevalence and phenotype. In this regard, it is relevant to search for allelic gene variations that could act as prognostic markers for development and progression of pulmonary sarcoidosis as well as characterize the features of its course. The data on the relationship between the carriage of allelic gene variations and susceptibility to pulmonary sarcoidosis as well as the contribution of *IL1A* rs1800857 polymorphic variant to development, progression, and therapy of the disease remain sparse and often contradictory. The current study assessed a risk of lung sarcoidosis in the subjects of Russian descent of the Republic of Karelia. According to the results of the studies, a significant association ($p < 0.001$) between the indicated *IL1A* gene allelic polymorphism and pulmonary sarcoidosis was established, with a risk of its development increasing by 3.47-fold (95% CI 2.41–5.01) in carriers of the T allele ($p < 0.001$). Thus, the single nucleotide polymorphism rs1800857 in the *IL1A* gene is associated with the risk of developing lung sarcoidosis in the subjects of Russian descent of the Republic of Karelia.

Key words: inflammation, granuloma, lung sarcoidosis, cytokines, infectious agents, gene polymorphism, *IL1A* gene.

Введение

Исследования последних десятилетий свидетельствуют о важной роли инфекционных агентов в патогенезе саркоидоза легких (болезнь Бенъе—Бека—Шаумана). Данное заболевание относится к системным иммуновоспалительным гранулематозам и характеризуется образованием эпителиоидно-клеточных гранул во многих органах, преимущественно в легких и внутригрудных лимфатических узлах [1, 3]. В образцах жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и в тканях, взятых от больных, а также в саркоидных гранулемах, обнаружены нуклеиновые кислоты и белки микроорганизмов [11, 15]. Кроме того, в клетках жидкости БАЛ больных саркоидозом легких выявлены изменения количества CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток в присутствии множества эпитопов бактерий [4, 11]. В качестве потенциальных инфекционных агентов наиболее вероятными возбудителями данного заболевания являются *Mycobacterium tuberculosis*

и *Propionibacterium acnes*. По результатам исследований у больных выявлен специфический иммунный ответ на микобактериальные антигены mKatG и ESAT-6 *M. tuberculosis* [12, 15]. Кроме того, более высокий уровень *P. acnes* обнаружен в средостенных или поверхностных лимфатических узлах пациентов с саркоидозом легких [12]. В исследовании Nishiwaki и соавт., проведенных с использованием мышинной модели показано, что увеличение рециркуляции чувствительных к *P. acnes* клеток при внелегочной сенсибилизации может вызывать гранулематозные изменения в легких. При этом проводимая антибактериальная терапия с целью эрадикации природных *P. acnes* существенно уменьшала поражение легких [10].

Полагают, что нарушение продукции цитокинов и хемокинов играет важную роль в патогенезе саркоидоза легких. На начальных стадиях развития заболевания отмечена поляризация иммунного ответа по Th1-типу. На более поздних стадиях, по мере прогрессирования пато-

логического процесса, характеризующегося фиброзными изменениями в легких, происходит переключение на Th2-тип иммунного ответа [5, 6]. Одним из важных провоспалительных цитокинов, вовлеченных в патогенез саркоидоза легких, является IL-1. Данный цитокин — один из ключевых модуляторов воспаления. Он оказывает профибротическое действие (индуцирует пролиферацию фибробластов) и вырабатывается лимфоцитами, макрофагами и моноцитами в ответ на микробные антигены [12]. К семейству IL-1 относятся такие белки, как IL-1 α , IL-1 β , антагонист рецептора IL-1 (IL-1Ra) [2]. Мутации в генах, кодирующих указанные белковые молекулы, могут оказывать влияние на развитие и прогрессирование патологического процесса при саркоидозе легких. Так, однонуклеотидные замены (Single nucleotide polymorphism, SNP), особенно в регуляторных областях генов, могут влиять на уровень их экспрессии и продукцию соответствующих белков. По данным литературы, к таким полиморфным вариантам, исследованным при саркоидозе, относятся IL-1 α –889, IL-1 β –511 и IL-1 β +3953 [8, 14]. Что касается саркоидоза легких, то данные проведенных исследований в различных этнических группах достаточно малочисленны и зачастую противоречивы. Поэтому цель настоящего исследования заключалась в изучении связи полиморфного маркера rs1800587 гена *IL1A* с развитием саркоидоза легких (на примере жителей Карелии).

Материалы и методы

В исследование включено 252 человека (130 человек из группы контроля (здоровые люди) (средний возраст — 43,0 \pm 14,23 года) и 122 больных саркоидозом легких, русского происхождения, проживающих в Республике Карелия (средний возраст — 41,0 \pm 12,56 года). Диагноз саркоидоза легких установлен на основании клинических рекомендаций Министерства здравоохранения РФ от 2022 г. У всех пациентов (100%) саркоидоз был

верифицирован гистологически на основании исследования биоптата. Добровольное информированное согласие получено от всех пациентов до проведения исследования. В качестве материала для генотипирования были использованы образцы периферической крови. Исследование выполнено с соблюдением этических норм согласно критериям Всемирной ассоциации медицинских редакторов (The World Association of Medical Editors — WAME), одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ «Республиканская больница им. В.А. Баранова» г. Петрозаводска (протокол № 96 от 11.07.2017).

Для выделения геномной ДНК из лейкоцитов периферической крови использовали набор «Analytik jena» (Германия). Генотипирование полиморфного маркера rs1800587 гена *IL1A* проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом длин рестриционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). ПЦР проводили на приборе iCycler iQ5 (Bio-Rad, США). Для амплификации использовали наборы «HS-Screen mix» и праймеры фирмы «Евроген» (Россия). Сиквенс праймеров указан в работе Trevilatto и соавт. [13]. ПЦР-продукты обрабатывали эндонуклеазой рестрикции *Bsp* 19 I (1 ед.а.) в течение 3 ч при 37°C. Фрагменты рестрикции разделяли с помощью 8% ПААГ (полиакриламидный гель), окрашивали 1% раствором бромистого этидия и визуализировали в проходящем УФ свете.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statgraphics Centurion XVI (version 16.1.11). Критерий χ^2 применяли при сравнении частот встречаемости аллелей и генотипов в группе больных саркоидозом легких и в контрольной группе. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Таблица. Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта rs1800857 гена *IL1A* в группе больных саркоидозом легких и в контрольной группе

Table. Distribution of alleles and genotypes of the polymorphic variant rs1800857 in the group of patients with pulmonary sarcoidosis and in the control group

Показатель Parameter		Больные саркоидозом легких Patients with pulmonary sarcoidosis (n = 122)	Контрольная группа Control group (n = 130)	Критерий χ^2 Criterion χ^2
Аллели Alleles	С	86 (0,352)	170 (0,654)	45,750 (df = 1, p < 0,001)
	Т	158 (0,648)	90 (0,346)	
Генотипы Genotypes	СС	15 (0,123)	56 (0,431)	41,783 (df = 2, p < 0,001)
	СТ	56 (0,459)	58 (0,446)	
	ТТ	51 (0,418)	16 (0,123)	

Примечание. n — число обследованных лиц. Данные представлены в виде абсолютных значений (относительная частота).
Note. n — number of examined subjects. Data are presented as absolute values (relative frequency).

Результаты и обсуждение

По результатам сравнительного анализа установлено статистически значимое различие в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs1800857 гена *IL1A* в исследуемых группах ($p < 0,001$) (табл.).

Выявлены различия в распределении частот аллелей и генотипов в группе здоровых людей и больных саркоидозом легких. Частота встречаемости Т аллеля и ТТ генотипа была выше в группе больных саркоидозом легких по сравнению с контрольной группой: ($\chi^2 = 15,632$; $p < 0,001$) и ($\chi^2 = 28,05$; $p < 0,001$), соответственно. Для определения риска развития саркоидоза легких по полиморфному варианту rs1800857 гена *IL1A* проведен расчет отношения шансов. Согласно полученным данным, у носителей Т аллеля риск развития данного заболевания повышен в 3,47 раза (95% ДИ 2,41–5,01). У людей, имеющих генотип ТТ по полиморфному варианту rs1800857 гена *IL1A* риск развития саркоидоза легких повышен в 5,12 раза (95% ДИ 8,71–9,66), по сравнению с носителями СТ и СС генотипов.

Нами проведен тест на соответствие распределения аллелей и генотипов по полиморфному маркеру rs1800587 гена *IL1A* равновесию Харди–Вайнберга. По результатам исследования не установлено отклонение частот генотипов исследуемого полиморфного маркера rs1800587 гена *IL1A* от равновесия Харди–Вайнберга в группе больных саркоидозом легких ($\chi^2 = 0,00$, $df = 2$, $p = 0,998$) и в контрольной группе ($\chi^2 = 0,04$, $df = 2$, $p = 0,982$).

Генетические факторы, как было отмечено ранее, играют важную роль в патогенезе саркоидоза легких. Гены семейства интерлейкина-1 являются полиморфными [8]. Исследуемый нами аллельный полиморфизм rs1800587 гена *IL1A* расположен в регуляторной области (промотор). Однонуклеотидная замена цитозина

на тимин в позиции –889 промотора гена *IL1A* приводит к изменению уровня его транскрипции и продукции соответствующего белка IL-1a [2, 8]. По данным литературы, более высокий уровень экспрессии гена *IL1A* показан у носителей ТТ генотипа [2, 9]. Аллельный полиморфизм гена может быть связан с различной продукцией соответствующего белка. В проведенных нами исследованиях установлена ассоциация аллельного полиморфизма rs1800587 гена *IL1A* с риском развития саркоидоза легких у русского населения Республики Карелия ($p < 0,001$). Среди больных саркоидозом легких частота встречаемости носителей Т аллеля и гомозиготного ТТ генотипа значимо выше в сравнении с группой здоровых людей ($p < 0,001$). Однако в исследовании других авторов показано, что среди населения Чехии у страдающих саркоидозом, наиболее часто встречается СС генотип полиморфного маркера rs1800587 гена *IL1A* по сравнению с контролем (60,0% против 44,2%, $p = 0,012$) У носителей СС генотипа риск развития заболевания повышен в 1,9 раза (95% ДИ 1,1–3,1) [8]. В то же время у населения Дании не выявлена связь полиморфного варианта rs1800587 гена *IL1A* с риском развития данного заболевания [7].

Таким образом, результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о вовлечении аллельного полиморфизма rs1800587 гена *IL1A* в патогенез саркоидоза легких у русского населения Республики Карелия.

Заключение

Генетический фон организма может оказывать влияние на восприимчивость к развитию саркоидоза легких. В сочетании с факторами окружающей среды, а также в зависимости от этнической принадлежности, это может объяснять расовые и географические различия в частоте и фенотипе данного заболевания.

Список литературы/References

1. Визель А.А., Гурылёва М.Э. Потенциальные инфекционные триггеры при саркоидозе // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2002. Т. 4, № 4. С. 313–324. [Vizel A.A., Gurileva M.E. Potential infectious triggers in Sarcoidosis. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2002, vol. 4, no. 4, pp. 313–324. (In Russ.)]
2. Громова А.Ю., Симбирцев А.С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека // Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4, № 2. С. 1–12. [Gromova A.Yu., Simbirtsev A.S. Gene polymorphisms of interleukin-1 family cytokines. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2005, vol. 4, no. 2, pp. 1–12. (In Russ.)]
3. Bonifazi M., Gasparini S., Alfieri V., Renzoni E. Pulmonary sarcoidosis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2017, vol. 38, no. 4, pp. 437–449. doi: 10.1055/s-0037-1603766
4. Chen E., Moller D. Etiologic role of infectious agents. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2014, vol. 35, no. 3, pp. 285–295. doi: 10.1055/s-0034-1376859
5. Costabel U., Ohshimo S., Guzman J. Diagnosis of sarcoidosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2008, vol. 14, no. 5, pp. 455–461. doi: 10.1097/MCP.0b013e3283056a61
6. Grunewald J. Genetics of sarcoidosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2008, vol. 14, no. 5, pp. 434–439. doi: 10.1097/MCP.0b013e3283043de7
7. Grutters J., Sato H., Pantelidis P., Ruven H., McGrath D., Wells A., van den Bosch J., Welsh K., du Bois R. Analysis of IL6 and IL1A gene polymorphisms in UK and Dutch patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.*, 2003, vol. 20, no. 1, pp. 20–27.

8. Hutyróvá B., Pantelidis P., Drábek J., Zůrková M., Kolek V., Lenhart K., Welsh K., Bois R., Petrek M. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2002, vol. 165, no. 2, pp. 148–151. doi: 10.1164/ajrccm.165.2.2106004
9. Khazim K., Azulay E., Kristal B., Cohen I. Interleukin 1 gene polymorphism and susceptibility to disease. *Immunol. Rev.*, 2018, vol. 281, no. 1, pp. 40–56. doi: 10.1111/imr.12620
10. Nishiwaki T., Yoneyama H., Eishi Y., Matsuo N., Tatsumi K., Kimura H., Kuriyama T., Matsushima K. Indigenous pulmonary *Propionibacterium acnes* primes the host in the development of sarcoid-like pulmonary granulomatosis in mice. *Am. J. Pathol.*, 2004, vol. 165, no. 2, pp. 631–639. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63327-5
11. Oswald-Richter K.A., Beachboard D.C., Zhan X., Gaskill C.F., Abraham S., Jenkins C., Culver D.A., Drake W. Multiple mycobacterial antigens are targets of the adaptive immune response in pulmonary sarcoidosis. *Respir. Res.*, 2010, vol. 11, no. 1: 161. doi: 10.1186/1465-9921-11-161
12. Oswald-Richter K.A., Culver D.A., Hawkins C., Hajizadeh R., Abraham S., Shepherd B.E., Jenkins C.A., Judson M.A., Drake W.P. Cellular responses to mycobacterial antigens are present in bronchoalveolar lavage fluid used in the diagnosis of sarcoidosis. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, no. 9, pp. 3740–3748. doi: 10.1128/IAI.00142-09
13. Trevilatto P., Scarel-Caminaga R., Brito Junior R., Souza A., Sallum A., Line S. Polymorphisms in the IL-1a and IL-1b genes are not associated with susceptibility to chronic periodontitis in a brazilian population. *Braz. J. Oral Sci.*, 2003, vol. 2, no. 7, pp. 348–352. doi: 10.20396/bjos.v2i7.8641716
14. Vasakova M., Sterclova M., Kolesar L., Slavcev A., Skibova J., Striz I. Cytokine gene polymorphisms in sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.*, 2010, vol. 27, no. 1, pp. 70–75.
15. Yamaguchi T., Costabel U., McDowell A., Guzman J., Uchida K., Ohashi K., Eishi Y. Immunohistochemical detection of potential microbial antigens in granulomas in the diagnosis of sarcoidosis. *J. Clin. Med.*, 2021, vol. 10, no. 5: 983. doi: 10.3390/jcm10050983

Авторы:

Малышева И.Е., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Топчиева Л.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Тихонович Э.Л., к.м.н., зав. отделением респираторной терапии Республиканской больницы им. В.А. Баранова, г. Петрозаводск, Россия.

Authors:

Malysheva I.E., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation;

Topchieva L.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation;

Tikhonovich E.L., PhD (Medicine), Head of the Respiratory Therapy Department, V.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 03.05.2023
Принята к печати 03.10.2023

Received 03.05.2023
Accepted 03.10.2023