

Полиморфизм генов *STAT4* и *CTLA4* у населения Беларуси в связи с предрасположенностью к заболеванию ювенильным идиопатическим артритом

Яцкив А.А.¹, Никитченко Н.В.¹, Чичко А.М.², Сукало А.В.², Гончарова Р.И.¹

¹ — Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Республика Беларусь, г.Минск; R.Goncharova@igc.by

² — УО «Белорусский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, г.Минск, childill1@bsmu.by

Генотипирование по полиморфным локусам G/T rs7574865 гена *STAT4* и C/T rs5742909 гена *CTLA4* не показало статистически достоверных различий в распределении частот аллелей и генотипов при сравнении групп с диагнозом *ювенильный идиопатический артрит* (ЮИА) (n = 80) и контроля (n = 80). В то же время, после стратификации по подтипам заболевания, для полиморфизма G/T rs7574865 гена *STAT4* отмечена ассоциация мутантного аллеля T с полиартикулярным ЮИА. Для выяснения точной роли изучаемых полиморфных локусов в предрасположенности к ЮИА необходимо увеличение количества индивидов в исследуемых когортах.

Ключевые слова: ювенильный идиопатический артрит, полиморфизм, *STAT4*, *CTLA4*

Введение

Ревматические заболевания детского возраста, в группу которых входит ювенильный идиопатический артрит (ЮИА), представляют собой сложную проблему, требующую мультидисциплинарного подхода не только при ведении пациентов, но и на стадии диагностики заболевания. Эта необходимость продиктована разнообразием клинических проявлений ЮИА и отсутствием каких-либо специфических диагностических тестов для точного и своевременного установления диагноза. ЮИА — артрит неизвестной этиологии, в основе патогенеза которого лежит нарушение основных звеньев клеточного и гуморального иммунного ответа, начинающийся до достижения 16-летнего возраста и персистирующий более шести недель при исключении других известных состояний. Согласно классификации Международной лиги ревматологических ассоциаций (ILAR), выделяют семь подтипов ЮИА.

Исследование генетической компоненты актуально в контексте выявления генетических предикторов заболевания. Кандидатами на эту роль могут быть гены, имеющие непосредственное отношение к формированию иммунного ответа, такие как *STAT4* и *CTLA4*, нарушение экспрессии или активности продуктов которых может вызывать изменения в функционировании иммунной системы и приводить к возникновению аутоиммунных патологий или иммуносупрессии.

Целью настоящей работы стало выявление вклада полиморфизма G/T rs7574865 в третьем интроне гена *STAT4* и C/T rs5742909 в промоторе гена *CTLA4* в формировании предрасположенности к ЮИА у белорусских пациентов путем анализа частот распространения аллелей и генотипов.

Материалы и методы

На базе кардиологического отделения УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г.Минска были сформированы две группы детей в возрасте 1—17 лет: группа с диагнозом ЮИА и контрольная группа детей без аутоиммунных и воспалительных заболеваний, у которых были взяты образцы периферической цельной венозной крови. Выделение ДНК осуществлялось стандартным фенол-хлороформным методом. Генотипирование проводилось методом ПЦР-ПДРФ анализа. Основой для отработки методик определения полиморфизмов послужили статьи В. Yuksel et al. [1] и С.-P. Liu et al. [2].

Для статистического анализа использовали критерий χ^2 и точный критерий Фишера. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В ходе работы было генотипировано 160 образцов ДНК детей: 80 пациентов с диагнозом ЮИА и 80 условно здоровых детей.

Стратификация детей, страдающих ЮИА, по подтипам заболевания (рисунок) показала, что наиболее распространенным является олигоартрит, на долю которого приходится 57,5%. Такие подтипы, как псориатический и энтезит-ассоциированный ЮИА, в исследуемой группе не представлены.

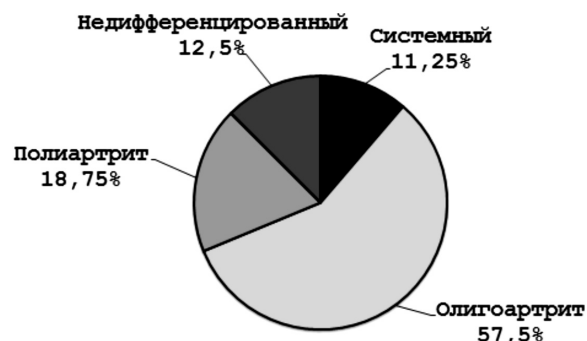
В исследуемых группах пациентов с ЮИА и детей без воспалительных и аутоиммунных заболеваний были определены частоты аллелей и генотипов для полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* и rs5742909 гена *CTLA4* (табл. 1).

Для обоих полиморфизмов в каждой из групп преобладал гомозиготный генотип дикого типа, различия в распределении частот генотипов и аллелей установлено не было ($p > 0,05$).

Результат анализа распределения частот аллелей после стратификации пациентов по подтипам заболевания представлен в табл. 2.

В группе пациентов с полиартикулярным ЮИА частота мутантного аллеля Т по полиморфизму rs 7574865 гена *STAT4* статистически достоверно выше, чем среди детей без аутоиммунных и воспалительных заболеваний ($p = 0,04$). Для всех остальных подтипов заболевания различий в распространении аллелей по обоим полиморфизмам не выявлено.

Впервые ассоциация полиморфизма rs7574865 гена *STAT4* с ЮИА была показана Prahalad и др. [3] в популяции белых американцев, причем после стратификации по подтипам она в большей степени была выражена для полиартикулярного ЮИА. Подтверждения ассоциации данного локуса с заболеванием позже были получены Hinks A. на британской популяции [4], в исследовании Thompr-



Структура группы пациентов по подтипам ЮИА.

son S.D. и др. [5] в результате анализа двух больших популяционных выборок европеоидов США и Германии и в независимом репликативном исследовании Ellis J.A. и др. в выборке из 318 пациентов в рамках Австралийского проекта CLARITY [6]. Аналогично, результаты, полученные в недавней работе Fan Z.-D. и др. [7], выполненной в китайской популяции, предполагают, что мутантный Т аллель является аллелем риска для ЮИА.

Частоты генотипов и аллелей полиморфных локусов генов *STAT4* и *CTLA4* у пациентов с ЮИА и в контрольной группе

Таблица 1

Полиморфизм гена	Варианты генотип/аллель		Частота аллелей/генотипов				p
			ЮИА, n = 80		Группа контроля, n = 80		
			n	%	n	%	
rs7574865 <i>STAT4</i>	Генотипы	GG	49	61,25	48	60,0	0,99
		GT	27	33,75	28	35,0	
		TT	4	5,0	4	5,0	
	Аллели	G	125	78,1	124	77,5	0,99
		T	35	21,9	36	22,5	
rs5742909 <i>CTLA4</i>	Генотипы	CC	67	83,75	62	77,5	0,42
		CT	13	16,25	17	21,25	
		TT	0	0,0	1	1,25	
	Аллели	C	147	91,9	141	88,1	0,35
		T	13	8,1	19	11,9	

Частоты аллелей полиморфных локусов генов *STAT4* и *CTLA4* у пациентов с различными подтипами ЮИА и в группе контроля

Таблица 2

Анализируемая группа	rs 7574865 <i>STAT4</i>			rs5742909 <i>CTLA4</i>		
	Частота аллеля, %			Частота аллеля, %		
	G	T	p	C	T	p
Контроль	77,5	22,5	—	88,1	11,9	—
Олигоартрит	83,7	16,3	0,2	92,4	7,6	0,28
Полиартрит	60,0	40,0	0,04	93,3	6,7	0,31
Системный	83,3	16,7	0,41	94,4	5,6	0,36
Недифференцированный	75,0	25,0	0,5	85,0	15,0	0,45

Полиморфизм rs5742909 гена *CTLA4* является менее изученным, и хотя для него рядом исследователей были показаны ассоциации с некоторыми аутоиммунными заболеваниями, данные касательно ЮИА более противоречивы. Так, в работе В. Mitterski и др. [8], выполненной на выборке пациентов из немецкой популяции, установлено существование значительных различий частот аллелей в группах пациентов с ревматоидным артритом и группе контроля, которое оказалось еще более явным при сравнении группы контроля с группой больных ЮИА. Тем не менее, эти результаты не удалось подтвердить S. Prahalad и др. [9]. Недавняя же работа L. Zhang с соавторами [10] опять указывает на статистически достоверное повышение уровня экспрессии *CTLA4* во время активной фазы заболевания у пациентов с ЮИА, что вполне соотносится с установленным ранее явлением возрастания экспрессии гена, вызванным заменой цитозина на тимин в положении -318 промотора *CTLA4* [11].

На данном этапе исследования распределение частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу G/T rs7574865 гена *STAT4* в изученных выборках белорусских пациентов с диагнозом ЮИА и контроля не отличались, однако выявлена ассоциация мутантного аллеля T с полиартикулярным подтипом заболевания. Не выявлено достоверных различий в распределении частот генотипов и аллелей полиморфного локуса C/T rs5742909 гена *CTLA4* как для общей группы пациентов, страдающих ЮИА, так и для разных подтипов заболевания. Для однозначного установления роли рассматриваемых полиморфизмов в развитии ЮИА необходимы дальнейшие исследования на больших выборках пациентов.

Список литературы

1. Yuksel B, Ataman S, Evcik D et al. Is There An Association Between Two-STAT4 Gene Polymorphisms and Rheumatoid Arthritis in Turkish Population? Arch. Rheumatol. 2014;29(1):20-27.
2. CTLA-4 and CD86 genetic variants and haplotypes in patients with rheumatoid arthritis in southeastern China. Liu CP, Ji-ang JA, Wang T et al. Genet Mol Res. 2013 Apr 25;12(2):1373-1382.
3. Prahalad S, Hansen S, Whiting A et al. Variants in TNFAIP3, STAT4, and C12orf30 loci associated with multiple autoimmune diseases are also associated with juvenile idiopathic arthritis Arthritis Rheum. 2009 Jul;60(7):2124-2130.
4. Hinks A, Eyre S, Ke X et al. Overlap of disease susceptibility loci for rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis. Ann. Rheum. Dis. 2010 Jun;69(6):1049-1053.
5. Thompson SD, Sudman M, Ramos PS et al. The susceptibility loci juvenile idiopathic arthritis shares with other autoimmune diseases extend to PTPN2, COG6, and ANGPT1. 2010 Nov;62(11):3265-3276.
6. Ellis JA, Chavez RA, Pezic A et al. Independent replication analysis of genetic loci with previous evidence of association with juvenile idiopathic arthritis. Pediatr Rheumatol Online J. 2013 Mar 18;11(1):12. doi: 10.1186/1546-0096-11-12.
7. Fan ZD, Wang FF, Huang H et al. STAT4 rs7574865 G/T and PTPN22 rs2488457 G/C Polymorphisms Influence the Risk of Developing Juvenile Idiopathic Arthritis in Han Chinese Patients. PLoS One. 2015 Mar 17;10(3):e0117389. doi: 10.1371/journal.pone.0117389. eCollection 2015.
8. Mitterski B, Drynda S, Boschow G et al. Complex genetic predisposition in adult and juvenile rheumatoid arthritis. BMC Genet. 2004 Feb 4;5:2. doi: 10.1186/1471-2156-5-2.
9. Prahalad S, Bohnsack JF, Whiting A et al. Lack of association of functional CTLA4 polymorphisms with juvenile idiopathic arthritis Arthritis Rheum. 2008 Jul;58(7):2147-2152.
10. Zhang L, Liang H, Guan H et al. Study of the association between CD28/CTLA-4 expression and disease activity in juvenile idiopathic arthritis. Exp Ther Med. 2015 May;9(5):1733-1738.
11. Wang XB, Zhao X, Giscombe R et al. A CTLA-4 gene polymorphism at position -318 in the promoter region affects the expression of protein. Genes Immun. 2002 Jun;3(4):233-234.

STAT4 and CTLA4 genes polymorphism in Belarusian population in view of predisposition to juvenile idiopathic arthritis

Yatskiv A.A.¹, Nikitchenko N.V.¹, Chichko A.M.², Sukalo A.V.², Goncharova R.I.¹

¹ – Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus, RGoncharova@igc.by

² – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus, childill1@bsmu.by

Genotyping of *STAT4* gene rs7574865 and *CTLA4* gene rs5742909 variants hasn't shown any statistically significant differences in the allele and genotype frequency distribution when comparing groups of JIA patients (n = 80) and controls (n = 80). However, after stratification by JIA subtype the T allele of rs7574865 variant of *STAT4* gene was associated with polyarticular JIA. To clarify the exact role of the polymorphisms studied in predisposition to JIA, extension of investigated groups sample size is required.

Key words: juvenile idiopathic arthritis, polymorphism, *STAT4*, *CTLA4*