

Роль полиморфных вариантов генов *TNF* (rs1800629), *TNFB* (rs2239704) и *TNFRSF1B* (rs652625) в развитии аллергических и инфекционных заболеваний

Жалсанова И.Ж.¹, Брагина Е.Ю.¹, Бабушкина Н.П.¹, Тарасенко Н.В.^{1,2}, Назаренко М.С.¹, Пузырев В.П.^{1,2}

1 — Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук
634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

2 — ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации
634050, г. Томск, Московский тракт, 2

В настоящем исследовании установлены ассоциации полиморфных вариантов генов *TNF* (rs1800629), *TNFB* (rs2239704) и *TNFRSF1B* (rs652625) с развитием бронхиальной астмы и туберкулеза. Различия в характере транскрипции гена *TNF* в зависимости от генотипа и воздействия стимуляторов микробного/немикробного происхождения (LPS, IFN- γ) предполагают функциональную значимость однонуклеотидной замены G>A (rs1800629) в гене *TNF*.

Ключевые слова: бронхиальная астма, туберкулез, *TNF*, экспрессия генов

Для цитирования: Жалсанова И.Ж., Брагина Е.Ю., Бабушкина Н.П., Тарасенко Н.В., Назаренко М.С., Пузырев В.П. Роль полиморфных вариантов генов *TNF* (rs1800629), *TNFB* (rs2239704) и *TNFRSF1B* (rs652625) в развитии аллергических и инфекционных заболеваний. *Медицинская генетика* 2020; 19(8): 90-91

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.08.90-91

Автор для корреспонденции: Жалсанова Ирина Жаргаловна; **e-mail:** irina.zhalsanova@medgenetics.ru

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ №15-04-05852 и Комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН (№ 0550-2018-0003).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

The role of the *TNF* (rs1800629), *TNFB* (rs2239704) and *TNFRSF1B* (rs652625) genes polymorphic variants in the allergic and infectious disease's development

Zhalsanova I.Zh.¹, Bragina E.Yu.¹, Babushkina N.P.¹, Tarasenko N.V.^{1,2}, Nazarenko M.S.¹, Puzyrev V.P.^{1,2}

1 — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences
Nab. r. Ushaiki, 10, Tomsk, 634050 Russia

2 — Siberian State Medical University
Moskovsky trakt 2, Tomsk, 634055 Russia.

In the present study, we established associations of the genes *TNF* (rs1800629); *TNFB* (rs2239704) and *TNFRSF1B* (rs652625) with the development of bronchial asthma and tuberculosis. Differences in the *TNF* gene transcription pattern depending on the genotype and the effect of stimulators of microbial/non-microbial origin (LPS, IFN- γ) suggest the functional significance of the single nucleotide substitution G>A (rs1800629) of the *TNF* gene.

Keywords: bronchial asthma, tuberculosis, *TNF*, gene expression

For citation: Zhalsanova I.Zh., Bragina E.Yu., Babushkina N.P., Tarasenko N.V., Nazarenko M.S., Puzyrev V.P. The role of the *TNF* (rs1800629), *TNFB* (rs2239704) and *TNFRSF1B* (rs652625) genes polymorphic variants in the allergic and infectious disease's development. *Medical genetics*. 2020; 19(8): 90-91 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.08.90-91

Corresponding author: Zhalsanova Irina Zhargalovna; **e-mail:** irina.zhalsanova@medgenetics.ru

Funding. The study was financially supported by the Russian Federal Property Fund No. 15-04-05852 and the Comprehensive Program for Fundamental Scientific Research SB RAS (No. 0550-2018-0003).

Conflict of Interest. Authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Бронхиальная астма (БА) занимает лидирующие позиции в структуре общей заболеваемости, так согласно данным 2018 года у трети населения мира диагностирована БА [1]. Рост числа аллергических

заболеваний связывают с высоким уровнем жизни и недостаточным микробным разнообразием, необходимым для формирования устойчивого иммунного ответа. Соответственно факторы иммунитета, на кото-

рые нацелены инфекционные агенты, являются ключевыми в обеспечении защиты от развития БА и других аллергических заболеваний [2]. На модельных животных показано, что микобактериальная инфекция может подавлять признаки аллергической БА [3]. Популяционные исследования продемонстрировали переменный защитный эффект от воздействия микобактерий, причем наиболее стойкий защитный эффект выявили у лиц с генетической предрасположенностью к atopическим заболеваниям [4]. Таким образом, роль микобактериальной инфекционной нагрузки в развитии атопии остается неопределенной. Поэтому исследования, связанные с поиском возможных супрессорных механизмов туберкулезной инфекции на риск развития атопии, являются актуальными.

Цель исследования: оценить особенности ассоциаций полиморфизма генов *TNF* (rs1800629), *TNFB* (rs2239704) и *TNFRSF1B* (rs652625) с развитием инфекционных (туберкулез) и аллергических заболеваний (БА).

Материал и методы

Генотипирование выполнено методом реал-тайм ПЦР с использованием TaqMan-зондов у пациентов с аллергической БА (n=250), с ТБ, включая первичные и вторичные формы заболевания (n=421), а также в контрольной группе (n=560). Для сравнения частот аллелей и генотипов использовали двусторонний точный тест Фишера. Уровень экспрессии генов *TNF*, *TNFB* и *TNFRSF1B* оценивали в стимулированных индукторами иммунного ответа культурах мононуклеаров крови относительно здоровых доноров, дифференцированных в зависимости от генотипов (n=49). Инкубацию образцов осуществляли в течение суток при температуре +37°C в присутствии индукторов (липополисахарид (LPS), 6,6'-Di-O-mycosyl- α,α -trehalose *Mycobacterium bovis* (TDM) и интерферон гамма (IFN- γ)) и в контрольных образцах без индукторов. Экстракцию и очистку мРНК проводили сорбентно-колоночным методом. Стандартизацию концентрации мРНК (100 нг/мкл) проводили на этапе получения кДНК. В качестве референсных относительного уровня экспрессии использовали гены *GAPDH* и *ACTB*. В работе применяли сравнительный $\Delta\Delta C_q$ метод, уровень экспрессии исследуемых генов вначале нормализовали относительно количества мРНК референсных генов, а затем относительно соответствующих показателей контроля (нестимулированные культуры). Статистическую значимость различий уровня экспрессии оценивали в пакете программ CFX Maestro™ (BioRad).

Результаты и выводы

Значительные различия в частоте минорного аллеля А полиморфного варианта rs652625 гена *TNFRSF1B* наблюдали при сравнении групп пациентов с БА (2,43%) и ТБ (6,25%) относительно здоровых индивидов (10,17%) ($p=7,68E-06$, $p=0,010$, соответственно). Выявлена ассоциация полиморфного варианта rs2239704 гена *TNFB* с развитием БА и ТБ. Так частота аллеля С в группах пациентов с БА (50,3%) и ТБ (51,3%) была значительно выше, чем в контрольной группе (43,3%) ($p=0,040$, $p=0,006$, соответственно). Значительное перераспределение генотипов наблюдали при сравнении исследуемых групп по варианту гена *TNF* (rs1800629). Максимальная частота генотипа AA регистрировалась у пациентов с первичным ТБ (4,21%), что повлияло на выраженные различия как при сравнении с контрольной группой (1,19%; $p=0,033$), так и при сравнении с больными БА (1,78%; $p=0,047$).

Уровень относительной нормализованной экспрессии гена *TNF* в культурах мононуклеаров крови изменялся в зависимости от вида стимулятора. Выраженное активирующее действие на транскрипцию гена *TNF* вызывал стимулятор иммунного ответа IFN- γ (в 4,7 раз) по сравнению с нестимулированными культурами ($p=0,0006$). Наличие аллеля А (генотипы AA+AG) по варианту rs1800629 способствовало двукратному снижению относительной экспрессии гена *TNF* при стимуляции LPS и IFN- γ по сравнению с гомозиготами GG. В контрольных образцах (нестимулированных культурах мононуклеарных клеток крови здоровых доноров), наоборот, наблюдали повышение уровня мРНК в 1,8 раза у индивидов, имеющих аллель А (генотипы AA+AG) по сравнению с носителями генотипа GG.

Таким образом, механизмы, реализующиеся через *TNF*, являются важными для аллергических и инфекционных заболеваний, что было показано с помощью выявленных ассоциаций генов кластера фактора некроза опухоли (*TNF* (rs1800629); *TNFB* (rs2239704)) и рецептора *TNFRSF1B* (rs652625) с развитием БА и ТБ. Полученные ассоциации полиморфизма rs1800629 гена *TNF* с развитием заболеваний могут быть следствием функциональной значимости изученного варианта.

Литература/ References

1. Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma management and prevention, updated 2018. Available from <https://ginasthma.org/>
2. von Mutius E. The microbial environment and its influence on asthma prevention in early life. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 137 (3): 680–689.
3. Smit J.J., Van Loveren H., Hoekstra M.O., et al. *Mycobacterium vaccae* administration during allergen sensitization or challenge suppresses asthmatic features. *Clin Exp Allergy.* 2003; 33: 1083–1089.
4. Obihara C.C., Kimpen J.L., Gie R.P., et al. *Mycobacterium tuberculosis* infection may protect against allergy in a tuberculosis endemic area. *Clin Exp Allergy.* 2006; 36 (1): 70–76.