

# РОЛЬ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА ГЕНА *eNOS3* И ИХ ВЗАИМОСВЯЗИ ПРОТИВО- И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ СЕМЕЙНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Аралов Н.Р.<sup>1</sup>, Окбоев Т.А.<sup>2</sup>, Дусанов А.Д.<sup>3</sup>, Юлдашева Д.А.<sup>4</sup>, Носирова Д.Э.<sup>5</sup>,  
Рустамова Ш.Ш.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Аралов Нематилла Равианович – заведующий кафедрой;

<sup>2</sup>Окбоев Тошпулат Алихужаевич – ассистент;

<sup>3</sup>Дусанов Абдугафур Дусанович – доцент;

<sup>4</sup>Юлдашева Дилфуза Ахматовна – ассистент;

<sup>5</sup>Носирова Дилдора Эркиновна – ассистент;

<sup>6</sup>Рустамова Шахризода Шухратовна – студент магистратуры,  
кафедра внутренних болезней №4,  
Самаркандский государственный медицинский институт,  
г. Самарканд, Республика Узбекистан

**Аннотация:** обследовано 118 больных, страдающих бронхиальной астмой (БА), получавшие стационарное лечение в аллерго-пульмонологическом отделении СамГМО. В основную группу были отнесены 48 больных семейной БА из них 29 женщин (60,4%) и 19 мужчин (39,6%), а в дополнительную группу были отнесены их родственники в I-III поколениях – 70 больных из них 40 женщин (57,1%), 30 мужчин (42,9%). Верификация больных проводилась согласно международной классификации ВОЗ (Х-пересмотр, МКБ-10) и в соответствии с диагностическими критериями Глобальной стратегии лечения и профилактики БА (GINA, 2006) и критериями отечественных программных документов по диагностике, лечению и профилактике БА. Иммунологические анализы больных семейной БА определили в сыворотке крови ИЛ – 6 и  $\gamma$ -интерферон методом ИФА. Анализ полиморфного варианта гена *eNOS3* осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК (ПЦР). При анализе частот аллелей гена *eNOS3* отмечается повышение частоты аллели 27N у больных БА (222-94,06%) по сравнению с контрольной группой (99-90%). В семьях средние показатели ИЛ-6 в сыворотке крови генотипа N/N у больных с БА аллергической формой составляет (15,6 $\pm$ 3,2 пг/мл), что указывает на достоверное увеличение от показателей у больных генотипа N/del (8,6 $\pm$ 2,4 пг/мл), а также при генотипа N/del у больных неконтролируемой семейной БА средние показатели  $\gamma$ -IFN составляет (5,6 $\pm$ 0,8 пг/мл), что указывает на достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение от показателей генотипа N/N у больных (3,5 $\pm$ 0,8 пг/мл).

**Ключевые слова:** семейной бронхиальной астмой, ИЛ – 6 и  $\gamma$ -интерферон, генотипа N/N и N/del.

**Актуальность.** Наблюдаемая в последние годы заметная тенденция к увеличению заболеваемости бронхиальной астмой (БА) и ее более тяжёлому течению, поставила данную патологию в один ряд с наиболее актуальными проблемами современной медицины диктуя необходимость ее всестороннего изучения [3-9; 30-33]. Генетическим исследованиям мультифакториальных заболеваний во многом способствует детальное описание патогенеза изучаемых болезней [1-4; 13-16]. Среди множества генов-кандидатов, представляет определенный интерес ген *eNOS3* являющийся важным компонентом наследственной составляющей подверженности к БА [17-21; 29-31].

Основным звеном патогенеза БА является изменение иммунологического состояния организма. Цитокины являются составной частью иммунной системы, которые участвуют в развитии воспалительного процесса и отвечают за характер течения воспалительного процесса. Разновидностью цитокинов является интерлейкины, которые при БА усиливают иммунное воспаление и оказывает противовоспалительное действие [8-15; 22-26].

Выяснение взаимосвязей между иммунологическими показателями и ген *eNOS3* у больных является одним из наиболее актуальных направлений современной иммунологии. Интерес к этой проблеме объясняется перспективностью подобных исследований как для изучения механизмов осуществления функций генов иммунного ответа человека, так и для изучения возможной генетической обусловленности отдельных форм дисбаланса иммунной системы, существенных для патогенеза ряда заболеваний [27-29]. Следует отметить исследование полиморфизма гена *eNOS3* при БА в узбекской популяции проводится впервые.

**Цель исследования.** В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования явилось роль полиморфного локуса гена *eNOS3* и их взаимосвязи против- и провоспалительных цитокинов при семейной БА.

**Материал и методы.** Соответственно поставленной цели нами изучены распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена eNOS3 у больных БА и здоровых индивидов узбекской национальности. Обследовано 118 больных, страдающих бронхиальной астмой. Всем больным с семейной БА были проведены комплексные клинико-функциональные и лабораторные обследования. Верификация больных проводилась согласно международной классификации ВОЗ (Х-пересмотр, МКБ-10) и в соответствии с диагностическими критериями Глобальной стратегии лечения и профилактики БА (GINA, 2006) и критериями отечественных программных документов по диагностике, лечению и профилактике БА.

Анализ полиморфного варианта гена eNOS3 осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК (ПЦР) на амплификаторе и ПДРФ-анализом с последующим электрофорезом в полиакриламидном геле. Данные исследования проводились в «Центре медицинской генетики» Института Биохимии Академии Наук РУз (директор д.м.н., профессор Мухамедов Р.С.). Иммунологические анализы больных семейной БА проведены в лаборатории института иммунологии и иммунодиагностики АНРУз. При этом использовали «Вектор-Бест» тест разработанный в 2002-2007гг. в г. Новосибирске и определили в сыворотке крови ИЛ – 6 и  $\gamma$ - интерферон методом ИФА. Количественная оценка результатов проведено на программе Excel 2004.

Контрольную группу составляли практически здоровые лица проживающие в Республике Узбекистан в возрасте 17 – 62 лет ( средний возраст 28,64) 45 человек (из них 23 мужчин и 22 женщин) .

Полученные данные подвергали статистической обработке на персональном компьютере Pentium-IV по программам, разработанным в пакете EXCEL с использованием библиотеки статистических функций с вычислением критерия  $\chi^2$  и вероятности ошибки (p).

**Результаты и обсуждение.** Полученные результаты показывают, что в обследованной популяции имеется положительная связь заболевания гена eNOS3. Для изучения роль полиморфного локуса гена eNOS3 и их взаимосвязи противо- и провоспалительных цитокинов при семейной БА были обследованы больные БА, получавшие стационарное лечение в аллергопульмонологическом отделении Самаркандского городского медицинского объединения. Из всех проанализированных у 48 больных были выявлены случаи семейной БА. В семьях 48 больных, были выявлены 70 больных с БА. С каждой семьи с поставленным диагнозом БА пробанды были обследованы и разделены на группы. При обследовании семей всех больных с применением клинико-генеалогического метода, были составлены генеалогические карты на 48 семей. В основную группу были отнесены 48 больных семейной БА из них 29 женщин (60,4%) и 19 мужчин (39,6%), а в дополнительную группу были отнесены их родственники в I-III поколениях – 70 больных из них 40 женщин (57,1%), 30 мужчин (42,9%). Возраст всех обследованных варьировал от 17 до 56 лет, составляя в среднем  $38 \pm 0,3$  лет.

При анализе частот аллелей гена eNOS3 отмечается повышение частоты аллели 27N у больных БА (222-94,06%) по сравнению с контрольной группой (99-90%). Распределение генотипов также отличалось в изучаемых группах. Отмечалось существенное повышение частоты генотипа N/N у больных БА (107-90,7%) по сравнению с контрольной группой (45-81,8%).

Таблица 1. Распределение частот аллелей и генотипов 27del/N полиморфизма гена eNOS3 при БА

| Полиморфизм гена | Группы        | Аллель     |          | генотип   |         |         |
|------------------|---------------|------------|----------|-----------|---------|---------|
|                  |               | 27N        | 27 del   | N/N       | N/del   | del/del |
|                  | Больные n=118 | 222-94,06% | 14-5,94% | 107-90,7% | 8-6,8%  | 3-2,5%  |
|                  | Контроль n=55 | 99-90%     | 11-10%   | 45-81,8%  | 9-16,4% | 1-1,8%  |

Проведенный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта - 27del/N гена eNOS3 выявил высокую тенденцию к накоплению гомозиготного генотипа N/N и аллеля 27N при статистически достоверном отличии между общей группой больных БА и контрольной выборкой в узбекской популяции.

При проведении исследования ИЛ–6 и  $\gamma$ - интерферона при различных патогенетических формах генотипов 27del/N полиморфизма гена eNOS3 у больных семейной БА, генотипа N/N у больных БА средние показатели в общей группе ИЛ–6 и  $\gamma$ - интерферона составляли ( $13,5 \pm 2,9$ ;  $7,8 \pm 1,2$  пг/мл) ( $13,2 \pm 2,9$ ;  $7,6 \pm 1,2$  пг/мл). Средние показатели ИЛ-6 в сыворотке крови генотипа N/N у больных с БА аллергической формой ( $15,6 \pm 3,2$  пг/мл), что указывает на достоверное увеличение от показателей у больных генотипа N/del ( $8,6 \pm 2,4$  пг/мл), однако у больных генотипа N/N средние показатели IFN- $\gamma$  ( $5,1 \pm 0,9$  пг/мл) достоверно не отличились

от показателей генотип N/del ( $5,6 \pm 0,9$  пг/мл). Средние показатели IL-6 в сыворотке крови N/del у больных с БА неаллергической формы ( $12,6 \pm 2,9$  пг/мл) существенно недостоверное увеличение от показателей у больных генотипа N/N ( $10,9 \pm 2,6$  пг/мл), однако у больных генотипа N/N средние показатели IFN- $\gamma$  ( $11,2 \pm 1,4$  пг/мл) достоверно не отличились от показателей генотип N/del ( $10,9 \pm 2,6$  пг/мл). При смешанной форме семейной БА генотипа N/N средние показатели IL-6 и IFN- $\gamma$  в сыворотке крови составляли ( $14,3 \pm 3,1$ ;  $8,2 \pm 1,1$  пг/мл) достоверно не отличились от показателей генотип N/del ( $15,3 \pm 3,4$ ;  $8,3 \pm 1,1$  пг/мл).

Таблица 2. Показатели иммунный статус в зависимости от полиморфизма гена eNOS3 при патогенетических формах семейной БА

| Группы больных     | Иммунологический показатели пг мл | Генотипы       |                | P    |
|--------------------|-----------------------------------|----------------|----------------|------|
|                    |                                   | N/N            | N/del          |      |
| Общий группы       | IL-6                              | $13,5 \pm 2,9$ | $13,2 \pm 2,9$ | Нд   |
|                    | IFN- $\gamma$                     | $7,8 \pm 1,2$  | $7,6 \pm 1,2$  | Нд   |
| Аллергический БА   | IL-6                              | $15,6 \pm 3,2$ | $11,2 \pm 3,1$ | 0,05 |
|                    | IFN- $\gamma$                     | $5,1 \pm 0,9$  | $5,6 \pm 0,9$  | Нд   |
| Неаллергический БА | IL-6                              | $10,9 \pm 2,6$ | $12,6 \pm 2,9$ | 0,01 |
|                    | IFN- $\gamma$                     | $13,1 \pm 1,3$ | $11,2 \pm 1,4$ | Нд   |
| Смешанный БА       | IL-6                              | $14,3 \pm 3,1$ | $15,3 \pm 3,4$ | Нд   |
|                    | IFN- $\gamma$                     | $8,2 \pm 1,1$  | $8,3 \pm 1,1$  | Нд   |

При проведении исследований иммунологических показателей генотипа N/N у больных контролируемой семейной БА средние показатели IL-6 в сыворотке крови составляет ( $10,6 \pm 3,3$  пг/мл), что указывает на достоверное увеличение от показателей генотипа N/del у больных ( $8,7 \pm 2,6$  пг/мл), средние показатели  $\gamma$ - IFN генотипа N/N составляет ( $4,8 \pm 0,7$  пг/мл) у генотипа N/del у больных ( $4,2 \pm 0,7$  пг/мл) что указывает на отсутствие достоверной разницы между двумя показателями. При генотипа N/del у больных неконтролируемой семейной БА средние показатели IL-6 в сыворотке крови составляет ( $16,6 \pm 3,4$  пг/мл) у генотипа N/N у больных ( $15,7 \pm 3,1$  пг/мл) что указывает на отсутствие достоверной разницы между двумя показателями, у генотипа N/del у больных БА средние показатели  $\gamma$ - IFN составляет ( $5,6 \pm 0,8$  пг/мл), что указывает на достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение от показателей генотипа N/N у больных ( $3,5 \pm 0,8$  пг/мл).

Таблица 3. Показатели иммунный статус в зависимости от полиморфизма гена eNOS3 при контроле над БА

| Группы больные      | Иммунологические показатели пгмл | Генотипы       |                | P    |
|---------------------|----------------------------------|----------------|----------------|------|
|                     |                                  | N/N            | N/del          |      |
| Контролируемой БА   | IL-6                             | $10,6 \pm 2,9$ | $8,7 \pm 2,6$  | Нд   |
|                     | IFN- $\gamma$                    | $4,8 \pm 0,7$  | $4,2 \pm 0,7$  | Нд   |
| Неконтролируемой БА | IL-6                             | $15,7 \pm 3,1$ | $16,6 \pm 3,4$ | Нд   |
|                     | IFN- $\gamma$                    | $3,5 \pm 0,6$  | $5,6 \pm 0,8$  | 0,05 |

Результаты, полученные в ходе проведения молекулярно-генетических исследований, свидетельствуют о немаловажном вкладе полиморфного варианта гена eNOS3, в формирование генетической структуры предрасположенности к БА в узбекской популяции.

Таким образом, выявленная ассоциация с одной стороны аллеля 27N, а с другой генотипа N/N гена eNOS с развитием БА, позволит по-новому подойти к пониманию генетических механизмов патогенеза, и на этой основе оптимизировать методы диагностики, лечения и профилактики БА.

В среди семейх средние показатели IL-6 в сыворотке крови генотипа N/N у больных с БА аллергической формой составляет ( $15,6 \pm 3,2$  пг/мл), что указывает на достоверное увеличение от показателей у больных генотипа N/del ( $8,6 \pm 2,4$  пг/мл), а также при генотипа N/del у больных неконтролируемой семейной БА средние показатели  $\gamma$ - IFN составляет ( $5,6 \pm 0,8$  пг/мл), что указывает на достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение от показателей генотипа N/N у больных ( $3,5 \pm 0,8$  пг/мл). Эти показатели являются диагностическим маркером и прогностическом значением при семейной бронхиальной астме.

#### Список литературы

1. *Азизова Н.Д.* Современный подход к лечению бронхиальной астмы у детей //Проблемы биологии и медицины. 2012. Т. 1. С. 17.
2. *Аралов Н.Р. и др.* HLA-ассоциированная предрасположенность к бронхиальной астме //Аллергология и иммунология. 2006. Т. 7. №. 3. С. 308а-308.
3. *Аралов Н.Р., Зиядуллаев Ш.Х.* Иммунный статус подростков больных бронхиальной астмой, проживающих в табачководческом районе //Тюменский медицинский журнал. 2011. №. 2.
4. *Аралов Н.Р., Давидьян А.А., Зиядуллаев Ш.Х.* Функциональное состояние Т системы иммунитета у больных бронхиальной астмой в табачководческой зоне Ургутского района //Вестн. врача (Самарканд). 2007. №. 4. С. 154.
5. *Ахмедов М.Ж., Лим В.И.* Факторы риска развития инфекционно-токсического шока у детей с пневмонией //Практическая медицина. 2008. №. 30.
6. *Ахмеджанова Н.И.* Эффективность региональной лимфатической антибиотикотерапии и иммунокоррекции при хронических пиелонефритах у детей : дис. ташкент : Автореф. дис.... канд. мед. наук, 2010.
7. *Ахмеджанова Н.И., Ибатова Ш.М., Ахмеджанов И.А.* Новые методы диагностики и лечения хронического пиелонефрита у детей //Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. 2017. №. 4. С. 92-95.
8. *Гариб Ф.Ю. и др.* Иммунозависимые болезни. 1996.
9. *Гарифулина Л.М., Кудратова Г.Н., Гойибова Н.С.* Степень метаболических нарушений у детей и подростков с ожирением и артериальной гипертензией //Актуальные вопросы современной науки. – 2016. №. 4. С. 19-24.
10. *Давидьян А.А., Аралов Н.Р.* Влияние производства табака на иммунный статус подростков //Журн. теорет. и клин. медицины. 2005. №. 4. С. 85.
11. *Жураева Г.С., Баратова Д.Т.* Клиническая эффективность цефамеда в терапии острой пневмонии у детей раннего возраста //Проблемы биологии и медицины. 2012. Т. 1. С. 64.
12. *Зиядуллаев Ш.Х., Хаитова Н.М., Аралов Н.Р.* Применение полиоксидония при бронхиальной астме у подростков //Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2011. Т. 106. №. 7.
13. *Зиядуллаев Ш.Х. и др.* Роль некоторых регуляторных цитокинов в иммунопатогенезе экзогенных аллергических альвеолитов //Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2017. №. 1. С. 38-41.
14. *Ибрагимова Ф.И., Идиев Г.Э.* Состояние здоровья у рабочих производства синтетических моющих и чистящих средств //Проблемы биологии и медицины–Самарканд. 2012. №. 1. С. 68.
15. *Исмоилова З.А., Ахматов А.А.* Состояние сердечно сосудистой системы у детей с хроническим пиелонефритом на фоне гиперурикемии //Вопросы науки и образования. 2019. №. 4 (49).
16. *Исмоилова З.А., Юлдашев Б.А., Ахматов А.А.* Хронический пиелонефрит у детей на фоне нарушенного обмена мочевой кислоты: особенности анамнеза и клинико-лабораторная характеристика //Вопросы науки и образования. 2019. №. 4 (49).
17. *Курбаниязов З.Б. и др.* Современная концепция лечения больных с гигантскими послеоперационными вентральными грыжами //Проблемы биологии и медицины. 2016. №. 1. С. 86.
18. *Мамурова Н.Н. и др.* Значение вредного профессионального фактора в диагностике бронхо-легочной патологии //Интеллектуальный и научный потенциал XXI века. – 2017. С. 108-111.
19. *Мухамадиева Л.А.* Внутрибронхиальная озono и лазеротерапии у детей с хроническим бронхитом //Аспирантский вестник Поволжья. 2012. №. 5-6. С. 162-166.
20. *Негмаджанов Б.Б., Худоярова Д.Р., Рахимова Г.Э.* Эффективность двухэтапного лечения маточных кровотечений пубертатного периода на фоне эндемического зоба //Врач-аспирант. 2009. №. 6. С. 467-471.
21. *Окулов А.Б., Негмаджанов Б.Б.* Секстрансформационные операции при нарушениях органов репродуктивной системы //Пробл. Эндокринологии. 1993.
22. *Окбоев Т.А., Клебеева Г.Д., Аралов Н.Р.* Роль полиморфного локуса гена eNOS3 в формировании бронхиальной астмы //Академический журнал Западной Сибири. 2013. Т. 9. №. 1. С. 54-55.
23. *Тоштемуров И.У., Аралов Н.Р., Холлиев Р. Х.* Коррекция неврологических расстройств у больных хронической обструктивной болезнью легких //Аллергология и иммунология. 2012. Т. 13. №. 4. С. 324-325.
24. *Шавази Н.М., Лим М.В., Тамбриазов М.Ф.* Генеалогические аспекты острого обструктивного бронхита у детей //Вестник врача. С. 39..
25. *Шамсиев А.М., Раббимова Д.Т., Шамсиев Ж.А.* Дифференцированный подход к реабилитации младенцев, перенесших сепсис //Детская хирургия. 2018. Т. 22. №. 5. С. 269-271.

26. Шамсиев А.М., Юсупов Ш.А., Шарипов Р.Х. Влияние озонотерапии на показатели перекисного окисления липидов у детей с распространенными формами аппендикулярного перитонита //Анналы хирургии. – 2001. №. 5. С. 77.
27. Шамсиев А.М., Атакулов Ж.А., Лёнюшкин А.М. Хирургические болезни детского возраста //Ташкент: Из-во «Ибн-Сино. 2001.
28. Хаитова Н.М., Зиядуллаев Ш.Х., Аралов Н.Р. Иммунокорригирующая терапия в комплексном лечении подростков с бронхиальной астмой //научно-практический и информационный журнал. 2011. С. 39.
29. Холжигитова М.Б. и др. Клиническая взаимосвязь IL1 $\beta$  при хроническом обструктивном бронхите у подростков //Академический журнал Западной Сибири. 2013. Т. 9. №. 3. С. 18-19.
30. Холжигитова М.Б., Аралов Н.Р. Изучение уровня продукции IL-8 в бронхоальвеолярном лаваже у больных хроническом обструктивным бронхитом в подростковом возрасте //Академический журнал Западной Сибири. 2013. Т. 9. №. 1. С. 10-10.
31. Gavriely N. Breath sounds methodology. Boca Raton (FL): CRC Press; 1995; 203 p.
32. Slepov V.P. et al. Use of ethonium in the combined treatment of suppurative and inflammatory diseases in children //Klinicheskaja khirurgija. 1981. №. 6. С. 78.
33. Shamsiyev A.M., Rabbimova D.T. Comprehensive approach to the problem of rehabilitation of infants submitted sepsis //Voprosy nauki i obrazovaniya. 2017. С. 152.