УДК 616.995.121

ФАКТОРЫ ВОСПРИИМЧИВОСТИ ХОЗЯИНА К ПАРАЗИТАРНЫМ ИНВАЗИЯМ

© 2012 М.И. Лукманов

Башкирский государственный аграрный университет, г.Уфа

Поступила в редакцию 08.10.2012

Цель работы: выявить ассоциации полиморфизма гена фактора некроза опухолей *TNFA* с развитием цистного эхинококкоза. В качестве объекта исследования использовали образцы ДНК, полученные из лейкоцитов периферической венозной крови у населения Республики Башкортостан. Исследуемая группа включала 103 больных цистным эхинококкозом, в контроле – 102 здоровых индивидуума. Изучали рестрикционный полиморфизм *(-308)G/A* гена фактора некроза опухолей альфа – *TNFA* методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов продуктов полимеразной цепной реакции синтеза ДНК. Установлено, что лица с генотипом *GA* гена *TNFA* статистически значимо чаще встречаются среди больных цистным эхинококкозом.

Ключевые слова: *цистный эхинококкоз, генетический полиморфизм, фактор некроза опухолей альфа*

Высокий уровень пораженности паразитарными инвазиями является серьезной экологической и медико-социальной проблемой для многих стран с разными природно-климатическими и социально-экономическими условиями [2, 3, 5]. Несмотря на определенные успехи в лечении, появление современных инструментальных и серологических методов диагностики во многих странах мира количество больных протозоозами и гельминтозами не только не снижается, но и растет. За последнее десятилетие показатель паразитарной заболеваемости в России, в том числе и в Республике Башкортостан (РБ), снизился, но по-прежнему остается высоким, что свидетельствует о малоэффективности проводимых профилактических и противоэпидемических мероприятий [7]. На уровень заболеваемости населения паразитозами влияют ряд факторов, к числу которых относятся климатогеографический, социально-экономический, лечебно-профилактический [3, 4]. Немаловажное значение на течение эпидемиологического процесса оказывает уровень восприимчивости хозяина паразита. О степени индивидуальной подверженности человека к паразитарным инвазиям нет единого мнения. К числу наиболее актуальных аспектов проблемы профилактики относятся вопросы выявления факторов, влияющих на формирование заболевания, причин возникновения осложнений и рецидивов. Развитие патологии в организме человека зависит от возраста, питания, гормонального статуса, сопутствующих заболеваний. Современные исследования доказали, что генотип хозяина оказывает существенное влияние на течение многих инфекций и инвазий. В литературе описывают случаи врожденной, генетически обусловленной, устойчивости человека к гельминтозам [1, 3, 15]. Свидетельством генетического контроля развития инвазии являются этнические различия людей в заболеваемости гельминтозами [15], семейные случаи тяжелого течения аскаридоза и трихоцефалеза [12, 14]. Сформулирована гипотеза о том, что при гельминтозах под генетическим контролем находится интенсивность инвазии (плодовитость паразита) в организме хозяина, а не восприимчивость к заражению и заболеванию [15]. Возможно, что контроль восприимчивости к гельминтозам осуществляется несколькими генами, не исключается существование мажорных генов. Такой ген, управляющий интенсивностью инвазии Schistosoma mansoni, был найден у больных шистосомозом и назван SMI [12].

Исследования наследственной предрасположенности к заболеванию выявили ассоциацию интенсивности инвазии аскаридозом с локусами хромосом 1p32 и 13q32-q34 [15]. Известно, что способность организма реагировать, или нет на какой либо чужеродный антиген, а также степень выраженности иммунореактивности генетически закодирована и реализуется на уровне лимфоидной популяции клеток. Генетический компонент является не только фактором предрасположенности, но и оказывает влияние на клинические проявления заболевания [5, 15]. При некоторых паразитарных болезнях выявлены ассоциации антигенов комплекса гистосовместимости HLA с уровнем иммунного ответа хозяина на инвазию [1, 8, 10]. Н.Н. Озерецковская и соавт.

Лукманов Мурад Ильгизович, аспирант. E-mail: lukmanova.gi@yandex.ru

(1992) при исследовании роли цитокинов в развитии эхинококкозов установили существенное снижение уровня интерферонов в крови больных, степень которого зависела от вида возбудителя, его локализации в органах и характера поражения (солитарное, сочетанное, множественное) [4]. Поиск ассоциаций антигенов комплекса гистосовместимости с развитием иммунного ответа на инвазию E. qranulosus определил, что у носителей HLA антигенов A2 и B5 наблюдается более активная продукция интерферонов α и γ, а у носителей антигенов A3 и B13 обнаруживается низкий уровень цитокинов. Наиболее высокие титры интерферона α выявлены у больных эхинококкозом печени, носителей HLA-антигена A2, а интерферона γ - у больных с эхинококкозом легких, носителей антигена B5 [4].

Известно, что при гельминтозах происходят сложные процессы взаимной адаптации в системе паразит-хозяин. Гельминты, проникнув в организм хозяина, инициируют в нем запуск защитных реакций. Происходит активация всех основных клеточных функций, связанных с развитием фагоцитоза и представлением антигенов, эндогенной продукцией NO и активных форм кислорода, синтезом низкомолекулярных медиаторов воспаления и провоспалительных цитокинов, к которым относятся интерлейкины (IL), фактор некроза опухолей альфа (TNFα) [1, 5, 10]. Е.В. Машуровой (2008) изучен цитокиновый профиль при эхинококкозе печени у человека [6]. Выявлено, что повышение уровня TNFα и IL-6 в сыворотке крови больных эхинококкозом находится в прямой зависимости от активности патологического процесса. На основании полученных результатов рекомендовано использование уровня TNFα и IL-6 в клинической практике в качестве дополнительного критерия оценки тяжести поражения и прогнозирования возможности развития рецидивов.

Цель работы: изучение распределения частот генотипов полиморфного локуса (-308)G/A гена фактора некроза опухолей *TNFA* у больных цистным эхинококкозом.

Материал и методы. Материал для исследования собран от детей (N=103), поступивших на оперативное лечение по поводу цистного эхинококкоза (ЦЭ) в детскую республиканскую клиническую больницу (г. Уфа). В качестве контроля аналогичные исследования проведены среди здоровых и серонегативных в отношении эхинококкоза лиц (N=102). Группы обследованных пациентов и контроля были сопоставимы по возрасту, полу, этнической принадлежности и месту жительства. Иммуноглобулины класса IgG к антигенам выявляли согласно инструкции по применению в сыворотке венозной крови с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Использовали диагностические тест-системы компании ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). В качестве объекта исследования использовали образцы ДНК, полученные из периферической венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции по Mathew [13]. Изучали рестрикционный полиморфизм *(-308)G/A* гена фактора некроза опухолей альфа – *TNFA* методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов продуктов полимеразной цепной реакции синтеза ДНК [11]. Для статистического анализа использовали стандартные методы. Разницу в распределении частот генотипов между группами рассчитывали с использованием критерия χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность с помощью программы RxC-статистика. Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$. Для количественной оценки относительного риска заболевания по конкретному генотипу вычисляли показатель отношения шансов (odds ratio - OR). При OR=1 ассоциации нет, OR>1 рассматривали как положительную ассоциацию заболевания с аллелем или генотипом, OR<1 – как отрицательную ассоциацию (Schlesselman, 1982).

Результаты и обсуждение. Проведенный анализ распределения частот генотипов полиморфного локуса (-308)G/A гена *TNFA* показал, что среди больных ЦЭ носители генотипов *GG* составляли 54,9%; *GA* – 43,14% и *AA* – 1,96%; в контроле соответственно *GG* – 69,9%; *GA* – 28,16%; *AA* – 1,94%. У больных ЦЭ генотип *GA* встречался значительно чаще, чем в контроле (χ^2=4,38; p=0,03; OR=1,93; 95% CI: 1,08-3,46). Частота генотипа *GG* у больных ЦЭ была существенно ниже по сравнению с контролем (χ^2=4,29; p=0,03; OR=0,52; 95% CI: 0,29-0,93).

Известно, что транзиция *G/A* в *-308* позиции промоторной области гена *TNFA* приводит к повышенной экспрессии гена, а присутствие аллеля *A* вдвое увеличивает продукцию цитокина TNFα по сравнению с аллелем *G* [11]. TNFα (кахектин) – представляет собой клеточный медиатор макрофагов и лимфоцитов, играет важную роль в регуляции процессов дифференцировки, роста и метаболизма этих клеток [11]. Взаимодействуя с цитокинами, ростовыми факторами, факторами транскрипции, рецепторами клеточной поверхности и белками острой фазы, TNFα является мощным паракринным и аутокринным медиатором воспаления и иммунного ответа [9, 11]. TNFα может подавлять метаболизм лекарств, индуцировать экспрессию HLA-антигенов. При избыточной секреции TNFα активирует макрофаги и нейтрофилы, вызывая тем самым синтез каскада интерлейкинов, в котором наиболее важными являются IL1, IL6, IL8, IL10 [11]. Таким образом, высокий показатель отношения шансов позволяет считать, что генотип *GA* гена *TNFA* ассоциируется с развитием ЦЭ.

Полученные в исследовании результаты согласуются с литературными данными [11] о том, что уровень TNFα в сыворотке крови больных эхинококкозом в несколько раз превышает норму и также коррелирует со степенью увеличения размеров кисты в органе.

Выводы: развитие паразитарных заболеваний является результатом сложного взаимодействия между организмом хозяина и возбудителем. Многочисленные работы подтверждают существование факторов предрасположенности к определенному развитию паразитозов, к которым относится и генетическая детерминированность. Исследования, посвященные поиску ассоциаций полиморфизма генов-кандидатов с развитием инвазии, имеют существенное практическое значение в профилактической медицине. Выявление генетических маркеров позволит улучшить прогноз индивидуального риска заболевания и характера течения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Бекиш, В.Я.* Состояние генома хозяина при гельминтозах / *В.Я. Бекиш, О.-Я.Л. Бекиш*. – Витебск: ВГМУ, 2004. 218 с.
2. *Гузеева, Т.М.* Состояние заболеваемости паразитарными болезнями в Российской Федерации и задачи в условиях реорганизации службы // Мед. паразитол. 2008. №1. С. 3-11.
3. *Журавец, А.К.* Цистный эхинококкоз – гидатидная болезнь животных и человека. – Новочеркасск, 2004. 507 с.
4. *Озерецковская, Н.Н.* Интерфероновый статус и антигены системы HLA / *Н.Н. Озерецковская, А.М. Щербаков, С.Н. Сунцов* и др. // Мед. паразитология и паразит. болезни. 1992. № 1. С. 42-44.
5. *Лукманова, Г.И.* Идентификация штамма Echinococcus granulosus и генетические факторы риска гидатидозного эхинококкоза на Южном Урале: автореф. дис. … докт. мед. наук. – М., 2008. 49 с.
6. *Машурова, Е.В.* Цитокиновый профиль при эхинококкозе печени у человека: автореф. дис. … канд. мед. наук. – М., 2008. 24 с.
7. *Онищенко, Г.Г.* О заболеваемости эхинококкозом в Российской Федерации. - http://www.rospotrebnadzor.ru.
8. *Лукманова, Г.И.* Распределение частот специфичностей HLA у больных цистным эхинококкозом / *Г.И. Лукманова, А.А. Гумеров, З.М. Еличева, Л.И. Лукманова* // Мед. паразитол. 2006. № 3. С. 216-218.
9. *Симбирцев, А.С.* Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления / *А.С. Симбирцев, А.Ю. Громова* // Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4, № 1. С. 3-10.
10. *Чебышев, Н.В.* Эхинококкоз органов грудной полости / *Н.В. Чебышев, А.В. Стреляева, А.Г. Маленков* и др. – М.: Медицина, 2002. 416 с.
11. *Wilson, A.G.* Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation / *A.G. Wilson, J.A. Symon, T.L. McDowel* et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94, №7. P. 3195-3199.
12. *Marquet, S.* Genetic localization of a locus controlling the intensity of infection by Schistosoma mansoni on chromosome 5q31-q33 / *S. Marquet, L. Abel, D. Hillaire* et al. // Nat. Genet. 1996. Vol. 14. P. 181-184.
13. *Mathew, C.C.* The isolation of high molecular weight eucariotic DNA / *C.C. Mathew* // Methods in molecular biology / ed. *J.M. Walker*. – N.Y.; London, 1984. Vol. 2. P. 31-34.
14. *Forrestor, J.E.* Predisposition of individuals and families in Mexico to heavy infection with Ascaris lumbricoides and Trichuris trichiura / *J.E. Forrester, M.E. Scott, D.A.P. Bundy, M.H.N. Golden* // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 1990. Vol. 84. P. 272-276.
15. *Quinnell, R.J.* Genetics of susceptibility to human helminth infection // Int. J. Parasitol. 2003. Vol. 33, № 11. P. 1219-31.

FACTORS OF THE SUSCEPTIBILITY OF THE OWNER TO PARASITIC INVASIONS

© 2012 M.I. Lukmanov

Bashkir State Agrarian University, Ufa

Work purpose: to reveal associations of polymorphism of tumors necrosis gene factor TNFA with development of cystic echinococcosis. As object of research used the samples of DNA received from leukocytes of a peripheral blue blood at the population of Bashkortostan Republic. The studied group included 103 patients with cystic echinococcosis, in control – 102 healthy individuals. Studied restriction polymorphism (-308) G/A of alpha tumors necrosis gene factor – TNFA method of the polymorphism analysis the lengths of restriction fragments of products of polimerase chain reaction of DNA synthesis. It is established that persons statistically significantly meet a genotype of GA of TNFA gene among patients with cystic echinococcosis more often.

Key words: *cystic echinococcosis, genetic polymorphism, alpha factor of tumors necrosis*

Murad Lukmanov, Post-graduate Student. E-mail: lukmanova.gi@yandex.ru