АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ

На правах рукописи
УДК: 616.2122+616.28+616–056.3+615.8.

АЛИЕВА ВАСИЛА ШУКРУЛЛАЕВНА

КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА В УЗБЕКИСТАНЕ

14.00.36 - Аллергология и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Ташкент-2012

Работа выполнена в Республиканском научно-специализированном аллергологическом центре и Научно-исследовательском институте Гематологии и переливания крови МЗ РУз.

Научные консультанты: доктор медицинских наук, профессор **Назаров Озод Ахмедович**

доктор медицинских наук, профессор **Арифов Сайфиддин Саидазимович**

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор **Хаитова Назира Мусаевна**

доктор медицинских наук, профессор **Бабаходжаев Сирожиддин Насирович**

доктор медицинских наук, профессор **Юлдашев Илхом Рузиевич**

Ведущая организация: **Институт иммунологии МЗ РФ**

Защита диссертации состоится «____» _____2012 г. в ___ часов на заседании Специализированного совета Д.015.89.01 при Институте иммунологии АН РУз по адресу: 100600, г. Ташкент, ул. Я. Гулямова, 74.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института иммунологии АН РУз.

Автореферат разослан «_____» _____ 2012 г.

Ученый секретарь
Специализированного совета,
доктор медицинских наук **Камалов З.С.**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность работы. Аллергический ринит (АР) является глобальной проблемой здравоохранения. По результатам эпидемиологических исследований, аллергическим ринитом страдает около 20% населения всех возрастных групп (Хаитов. Р.М. и соавторы, 2009, Stewart M.et al., 2010). По причинам, которые до сих пор не совсем понятны, частота и заболеваемость АР существенно возросли за последние десятилетия. Только в Узбекистане распространенность АР за 10 лет увеличилась в 2 раза (Назаров О.А., 2011). Однако, официальная статистика о распространенности аллергического ринита, основанная на показателях обращаемости пациентов, в десятки раз ниже действительных значений и ни в коей мере не отражает серьезность данной проблемы, хотя и она достаточна для представления масштабов распространения данного заболевания (Хузина А.Х., 2007; Salib R.J., 2005).

Одной из важнейших проблем аллергического ринита является поздняя диагностика заболевания и позднее назначение адекватной патогенетической терапии, что приводит к развитию различных осложнений (Anne E. et. al., 2009; Min Y.G., 2010). В связи с этим первостепенное значение имеют профилактические меры, направленные на снижение контакта с аллергенами и их фиксации на слизистых оболочках, разработка и внедрение методов ранней диагностики АР (Bousquet J. at al. 2008; Tran N.P., et al. 2011).

В настоящее время признано, что атопия (наследственная тенденция к повышенному синтезу IgE), являясь типичным представителем мультифакториальных заболеваний, лежит в основе целого ряда аллергических заболеваний, в том числе АР (Фрейдин М.Б. и соавторы, 2006). Наряду с факторами окружающей среды особая роль в формировании данного заболевания отводится генетической предрасположенности.

Поиск и изучение генетических маркеров, ассоциированных с развитием АР, является важнейшей задачей для понимания патогенеза, лечения и профилактики заболевания.

Необходимо отметить, что исследования генетических маркеров с аллергическим ринитом и другими болезнями дыхательной системы занимаются лишь в нескольких научных лабораториях развитых стран мира (Hopkin J. et al., 1996; Weiss E.H., 1999; Meyers A., 2000; Carr D., 2003). Однако результаты, полученные этими исследователями, зачастую противоречивы. Кроме того, до настоящего времени еще не разработан системный подход клинико-генетического исследования аллергического ринита и не определены возможности внедрения результатов исследований в диагностику и лечение данной патологии.

На сегодняшний день известно множество генов, белковые продукты, которых непосредственно участвуют в патогенезе АР. Среди них особое место занимают семейства генов, определяющих функционирование системы детоксикации ксенобиотиков (GSTT1 и GSTM1 и др.) и регуляции иммунной

системы. Существует достаточное количество данных, свидетельствующих о большом значении дисфункции таких ферментов биотрансформации ксенобиотиков как GSTT1 и GSTM1, противовоспалительных цитокинов (TNF-α, RANTES) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA4) в генезе таких атопических заболеваний, как аллергический дерматит и бронхиальная астма, и список подобных маркеров постоянно расширяется (Fryer A.A. et al., 2000; Garte et al., 2001; Иващенко Т., 2001; Вавилин В.А. и соавторы, 2002; Carr D. et al., 2003). Однако вклад неблагоприятных аллелей этих генетических маркеров в развитие АР до сих пор не изучен. Кроме того, нет четкого представления о роли каждого гена, возможности выделения главного гена, взаимодействии мутантных генотипов и факторов среды в сложном патогенезе АР.

В совокупности вышеизложенные положения и явились основанием для планирования и проведения данного исследования.

Степень изученности проблемы. Несмотря на наличие большого количества литературных источников, посвященных изучению аллергического ринита, среди них нет работ, описывающих клинико-генетические аспекты АР в Узбекистане. До сих пор не проводились работы по изучению роли генных мутаций в патогенезе АР и, нет данных о распространенности по республике этих генов-кандидатов. Также не разработана схема обследования пациентов на наличие наследственной предрасположенности к развитию АР.

В то же время такие клинико-генетические исследования помогут приблизиться к пониманию роли генетического полиморфизма в патогенезе АР, позволят разработать новые эффективные методы прогнозирования развития и первичной профилактики и лечения АР.

Связь диссертационной работы с тематическими планами НИР. Диссертационная работа входит в план НИР Республиканского научно-специализированного аллергологического центра МЗ РУз. «Астма и Аллергия в Узбекистане. Разработка современных методов диагностики, лечения и профилактика» (номер Гос. Регистрации 01.080090).

Цель исследования: изучить клинико-генетические особенности проявления аллергического ринита с учетом изучения влияния полиморфных маркеров ключевых генов, участвующих в его формировании, частоты встречаемости и факторов риска развития заболевания, разработать новые подходы комплексного лечения и прогнозирования данной патологии.

Задачи исследования:

1. Изучить клиническое течение, анализ частоты выявления АР и провести оценку состояния лечебно-диагностической помощи больным с данным заболеванием.

2. Изучить частоты аллелей и распределение функциональных и «нулевых» генотипов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков

второй фазы GSTT1 и GSTM1 и их ассоциативную связь с формированием и клиническим течением аллергического ринита.

3. Изучить распределение аллельных вариантов полиморфизма генов противовоспалительных цитокинов – TNF-α, RANTES, и гена цитотоксических Т-лимфоцитов – CTLA4, а также, оценить их взаимосвязь с развитием и клиническим течением аллергического ринита.

4. Провести сравнительный анализ частот аллелей и распределения генотипов генов GSTT1, GSTM1, TNF-α, RANTES и CTLA4 в контрольных группах и группах больных АР.

5. Провести анализ ген-генных взаимодействий и изучить корреляции генотипических вариантов генов-кандидатов с уровнем общего сывороточного IgE (МЕ/мл) у больных АР.

6. Разработать схему комплексной и дифференцированной терапии аллергического ринита путем воздействия на различные звенья его развития с учетом генетической предрасположенности к заболеванию.

Объект и предмет исследования: больные АР, 161 образец ДНК больных, а также здоровых доноров, полиморфизмы генов GSTT1, GSTM1, TNF-α, RANTES и CTLA4.

Методы исследования: клинико-лабораторные, иммуноферментный метод, молекулярно-генетический (ПЦР), статистические.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. За период наблюдения с 2003 по 2010 гг. ежегодного достоверного колебания выявления больных АР не наблюдалось. Выявлено, что в клинической практике часто имеется тенденция на не адекватное и не обоснованное использование существующих методов диагностики и лечения.

2. Генетические маркеры GSTM0/0, GSTT0/0 и 49A/G гена CTLA4 не являются самостоятельно значимыми генетическими факторами риска развития АР. Однако сочетание нулевых генотипов GSTM 0/0+GSTT0/0 достоверно повышает риск развития заболевания, особенно КГ формы АР, более чем в 4.9 раза. При этом риск развития АР у лиц женского пола выше более чем в 2.5 раза, по сравнению с контролем.

3. Аллельные варианты генов TNF-α и RANTES могут являться самостоятельными генетическими факторами подверженности сезонной и КГ форме АР, соответственно. При этом ген-генные комбинации “TNF308+RANTES” и “TNF308+CTLA4” также имеют сильную положительную ассоциацию между сезонной формой АР и контролем. Наличие функционально ослабленного генотипа RANTES также достоверно повышает риск развития АР у женщин более чем в 2 раза.

4. Сочетание «неблагоприятных» аллелей генов TNF-α, RANTES, CTLA4, GSTT1 и GSTM1, является важной генетической составляющей структуры подверженности к развитию АР, особенно КГ формы заболевания. При этом уровень общего сывороточного IgE в крови имеет прямую коррелятивную связь не только с этими комбинационными вариантами, но и

с индивидуальными генотипическими вариантами «генов-кандидатов» предрасположенности к АР.

5. Неспецифическую гипосенсибилизирующую терапию АР целесообразно планировать и проводить индивидуально, с учетом наличия у больного «функционально неблагоприятного» набора генотипа.

Научная новизна. Впервые охарактеризованы клинические и молекулярно-генетические параллели АР. Полученные данные показали течение АР в более выраженной клинической форме и инертность проводимой терапии у лиц с наличием наследственной предрасположенности к атопии. Проведен сравнительный анализ патогенетически значимых для формирования атопии полиморфизмов генов TNF-α, RANTES, CTLA4, GSTT1 и GSTM1, среди условно здоровых доноров и больных АР различного генеза. Полученные результаты свидетельствуют о различной степени генетической предрасположенности к формированию АР у больных с атопическим и смешанным генезом заболевания.

Впервые выявлена достоверная ассоциация полиморфизма 308G>A гена TNF-α с развитием САР (X^2=3.3; P=0.03; OR=3.12) и полиморфизма A403G гена RANTES с развитием КАР (X^2=4.45; P=0.02; OR=2.26). Эти данные позволяют рассматривать генетические маркеры TNF-α и RANTES в качестве ключевых генетических факторов формирования наследственной предрасположенности к развитию САР и КАР, соответственно. Установлена недостаточно выраженная ассоциативная (самостоятельная) связь полиморфизма 49A/G гена CTLA4 (X^2=0.036; P=0.4; OR=1.1), а также нулевых генотипов генов GSTT1 и GSTM1 по отдельности с развитием АР. Однако, частота сочетанных «нулевых» генотипов генов GSTT1 и GSTM1 у больных с КАР статистически значимо превышает уровень группы контроля (X^2=5.6; P=0.008; OR=4.9).

Впервые установлены ключевые межгенные взаимодействия, детерминирующие риск развития АР с высокой вероятностью. Показано, что комбинация полиморфных вариантов генов TNF-α, RANTES, CTLA4, GSTT1 и GSTM1 участвуют в формировании генетической структуры предрасположенности к аллергическому риниту. Выявлены достоверные отличия распределения сочетания полиморфного варианта гена RANTES и сочетания нулевых генотипов GSTT1+GSTM1 между пациентами мужского и женского пола.

Установлены генотипические варианты ДНК-маркеров, самостоятельно или в комбинации, ассоциированные с высоким уровнем общего сывороточного IgE в крови, предрасполагающие к развитию аллергического ринита.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Данные, касающиеся частоты выявления АР, будут служить основой для внесения конкретных предложений по планированию организационных и лечебных мероприятия в системе здравоохранения по отношению к данному

заболеванию. Выявленные аллельные варианты генов-кандидатов, ассоциированные с высоким уровнем общего сывороточного IgE и обуславливающие повышенный генетический риск развития аллергического ринита, создают базу для разработки эффективных критериев раннего выявления, прогнозирования течения и лечения аллергического ринита.

Разработанные положения дифференцированного применения ступенчатой фармакотерапии у больных АР с наследственной отягощенностью являются основанием для проведения адекватного и целенаправленного лечения данной группы пациентов. Предложенный алгоритм применения молекулярно-генетических исследований, позволяет, дифференцированно в клиническом и экономическом аспектах, применять данный метод у больных АР.

Полученные результаты исследования расширят представления об этиологии, факторах риска, механизме развития, разнообразии клинических проявлений аллергического ринита.

Реализация результатов. Разработанные в диссертации научные и практические положения применяются в клинической практике Республиканского научно-специализированного аллергологического центра, и в лаборатории медицинской генетики Научно-исследовательского института гематологии и переливания крови МЗ РУз.

Апробация результатов. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на международных конгрессах: II съезд терапевтов (Казахстан, 2009), XIV Международный конгресс по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Тель-Авив, 2009), VII Съезд аллергологов и иммунологов СНГ II Всемирный форум по астме и респираторной аллергии (Санкт-Петербург, 2009), XV Международный конгресс по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Дубай, 2010), на съездах VIII Аллергологов и иммунологов СНГ (Москва, 2011), VI Международный симпозиум по молекулярной аллергологии (Германия, 2011), VI-конференции аллергологов Узбекистана «Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики аллергических заболеваний» (Ташкент, 2011). Апробация работы проведена на межкафедральном собрании при кафедре ЛОР ТМА (Ташкент, 2011) и апробационном совете при Институте иммунологии (Ташкент, 2012).

Опубликованность результатов. По материалам диссертации напечатано 29 работ, в том числе 13 статей, из них 3 зарубежные (США, Италия и Чехия), 6 – СНГ (Россия и Украина), 15 тезисов, методические рекомендации – 1.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 4 глав результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, и списка литературы, содержащего 103 источников на

русском и 150 – на английском языке. Работа изложена на 212 страницах машинописного текста, иллюстрирована 66 таблицами и 14 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность темы, сформулированы цели и задачи исследования, приведены научная новизна и практическая значимость результатов, основные положения, выносимые на защиту, сведения об апробации и публикации результатов работы, а также краткое содержание работы.

В обзоре литературы рассмотрены проблема АР в Узбекистане, общая характеристика, коротко описаны распространённость, этиология, патогенез, клиника, лечение этого заболевания. Описаны молекулярно-генетическая характеристика атопического состояния, мутации и патогенетически значимые для формирования атопии полиморфизмы генов, участвующих в регуляции иммунной системы (в том числе полиморфизмы генов GSTT1, GSTM1, TNF-α, RANTES и CTLA4), описаны методы молекулярного тестирования этих мутаций.

Спектр и удельный вес этих мутаций, а также особенности молекулярных маркеров генов атопии, в том числе АР, в Узбекистане до сих пор совершенно не изучены. Между тем, только при наличии достоверных данных популяционных и молекулярно-генетических исследований можно будет разработать эффективную схему прогнозирования развития, клинического течения и индивидуальной терапии заболевании в Республике. Кроме этого, исследование вклада полиморфизмов некоторых генов, участвующих в регуляции развития аутоиммунного процесса, на клиническое проявление АР в виде генетико-компенсаторного механизма, также представляет большой научный интерес. Все это является логическим обоснованием для проведения, предложенного исследования.

Вторая глава посвящена описанию материалов и методов исследования.

Для детального анализа данных, полученных от больных АР и оценки состояния качества оказания им квалифицированной помощи, в ходе выполнения работы нами были использованы специальные анкеты.

Клиническое обследование состояло из: оценки состояния кожи, видимых слизистых оболочек, опорно-двигательного аппарата, нервной системы, внутренних органов, а также ЛОР-органов – проведение отоскопии, риноскопии и фарингоскопии.

Клинико-лабораторное обследование больных включало оценку общих анализов крови и мочи, проведение аллергических тестов, определение функции внешнего дыхания и носа, клеточного состава носового секрета.

Исследование уровня иммуноглобулина Е (IgE) в сыворотке крови проведены методом ИФА.

Молекулярно-генетическое обследование биоматериалов больных АР и здоровых доноров выполняли на базе лабораторий медицинской генетики НИИГ и ПК МЗ РУз*. Тестирование этих мутаций проводилось с использованием тест-систем компании «Литех» и «MedLab» (Россия) методом ПЦР-анализа.

Перечень последовательностей олигонуклеотидных праймеров, использованных для проведения ПЦР, приведён в таблице 1.

Для изучения генетических маркеров (полиморфизмов) генов GSTT1, GSTM1 TNF-α, RANTES и CTLA4, проведено исследование 140 образцов ДНК, выделенных из лимфоцитов периферической крови неродственных здоровых доноров узбекской национальности (70 образцов), больных АР (70 образцов). Группа больных включала 31 пациента с сезонной и 39 с круглогодичной формой АР. Кроме того, при исследовании гена RANTES группа условно здоровых лиц была увеличена дополнительно на 21 человека. Статистический анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ «Microsoft Excel 2003» и «OpenEpi 2009, Version 2.3». Определение достоверности различий между сравниваемыми группами или подгруппами по частотам генотипов и аллелей производили с помощью критерия – χ^2 по стандартной формуле. Величина критерия достоверности различий (P) проверялась с применением t-критерия Стьюдента.

Таблица 1

Список олигонуклеотидных праймеров, использованных для проведения ПЦР.

№	Ген, локализация	Полимор физм	Структура олигопраймеров
1	*TNF-α* (6p21.3)	Замена – 308G>A	F: 5’-AATAGGTTTTGAGGGCCATG-3’ R: 5’-ATCTGGAGGAAGCGGTAGTG-3’
2	CTLA4 (2q33)	Замена T49A	F:5′-GCT CTA CTT CCT GAA GAC CT-3 R:5′-AGT CTC ACT CAC CTT TGC AG-3′
3	RANTES (17q11-q12)	Замена G403A	F: 5’GCC TCA ATT TAC AGT GTG 3’ R: 5’TGC TTA TTC ATT ACA GAT GTT 3’
4	GSTM1 (1p13.3)	делеция	F 5-’GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3’ R 5’-GTTGGGCTCAAATATAGGGTGG -3’
5	GSTT1 (22q11.2)	делеция	F 5’-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3’ R 5’-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3’

Третья глава посвящена анализу частоты встречаемости аллергического ринита, оценке состояния его диагностики и лечения.

Для выявления встречаемости АР был проведен анализ обращения больных в Республиканский аллергологический центр МЗ РУз за период с 2003 по 2010 год. В разработку были включены те больные, которым аллергические заболевания были верифицированы в условиях Центра.

Всего за анализируемый период в Центр обратились 7844 больных и из них у 6680 (85,2%) была установлена аллергическая природа заболевания. За 8 лет наблюдения всего 5791 больных были направлены в Центр с диагнозом АР, что составило 73,3% от общего количества больных. Из них у 4820 больных в ходе обследования в Центре был подтвержден диагноз АР, т.е. это составило 83,2%, от больных с направительным диагнозом АР. По отношению к общему количеству больных (6680 лиц) это составило 72,3% Расхождение у 1/6 части больных направительного и окончательного диагноза является значимым и при увеличении количества больных в масштабе республики с большей долей вероятности возрастёт в несколько раз. Распределение больных по анализируемым годам представлено на рис. 1.

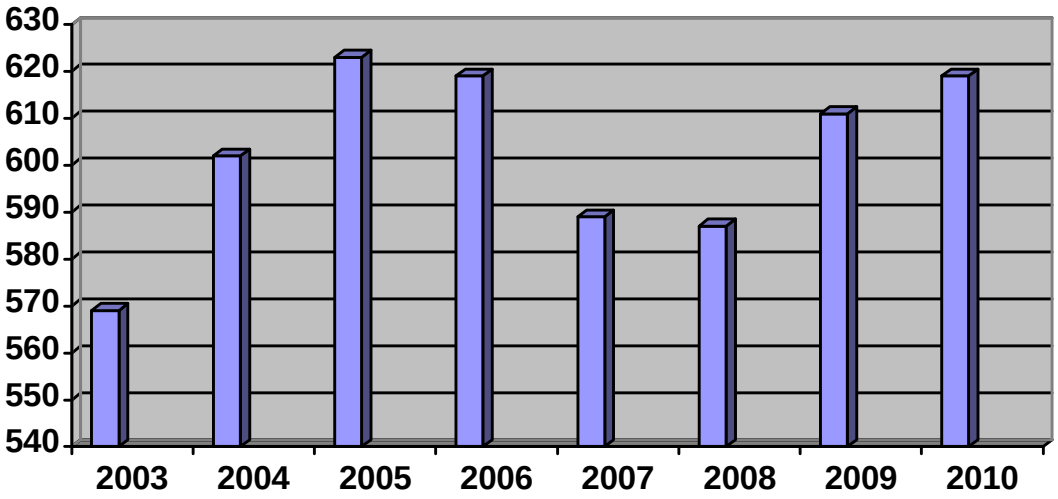

Рис.1. Выявление аллергического ринита за 2003-2010 гг.

Как видно из диаграммы достоверного колебания показателей выявления заболевания за этот период не наблюдается. За все годы наблюдения превалировали больные КАР (59,8%) относительно САР (40,2%), их соотношение составило 1,49:1.

Возраст больных колебался от 15 до 89 лет. Средний возраст больных 2003 году составил 33,1±1,1 в 2002 году – 31,3±1,2, тогда как в 2009 и 2010гг соответственно 29,2±1,0 и 29,0±0,9 т.е. имелась тенденция к омоложению состава больных. Это может быть обусловлено встречаемостью заболевания в более раннем возрасте или улучшением качества диагностики АР.

Все месяцы наблюдения количество обращений больных достоверно по сравнению с другими периодами года, когда данный показатель увеличивался в период с марта по июнь, а также с августа по ноябрь месяц года (рис.2).

Как видно из рис. 2 эти колебания формировались в основном за счет больных САР, тогда как при КАР амплитуда колебаний была менее значимой.

Проведенные исследования показали, что АР встречается в 73,2% случаев по отношению к общему количеству больных с аллергическими заболеваниями, удерживая при этом лидирующую позицию за все годы наблюдения в данной нозологической группе. Имелась тенденция к омоложению состава пациентов АР во временном аспекте и превалирование лиц женского пола в составе больных КАР.

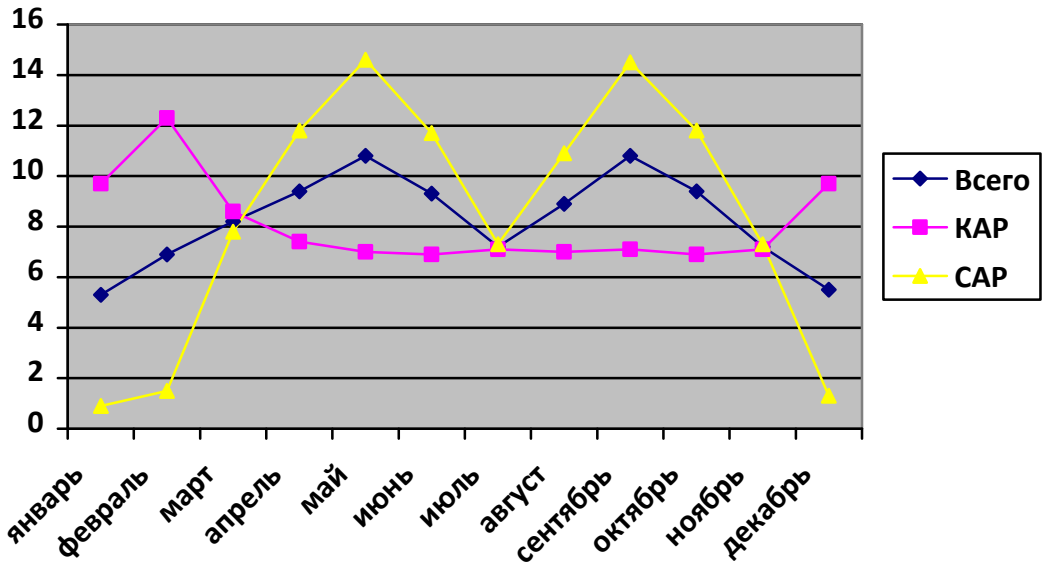

Рис. 2. Колебание встречаемости аллергического ринита в течение года (%).

Суммируя полученные данные по анализу состояния диагностики и лечения аллергического ринита в практическом звене здравоохранения, можно сделать вывод о том, что в полной мере остаются невостребованными многие существующие информативные методы диагностики АР, в большом числе случаев установлено не адекватное и несвоевременное использование различных методов лечения (например, назначение антигистаминных препаратов, деконгестантов применение хирургического метода лечения). В результате происходит прогрессирование заболевания, формируются различные осложнения, что увеличивает расходы здравоохранения на лечение и госпитализацию таких пациентов.

Четвертая глава посвящена описанию результатов молекулярного анализа ассоциации полиморфизма исследуемых генов с развитием аллергического ринита.

Анализ ассоциации делеционного полиморфизма гена GSTM1 и GSTT1 с аллергическим ринитом.

Как видно из таблицы 2, в группе больных наблюдалась тенденция к незначительному увеличению частоты нефункционального генотипа GSTM1 0/0 по сравнению с контролем (48,6% против 41,4%,

соответственно). Риск развития АР у носителей делеционного генотипа GSTM1 0/0 оказался в 1,3 раза выше по сравнению с индивидами, имеющими функциональный GSTM1+/+ генотип (OR=1.3; 95 % CI 0.68-2.6). Однако расчет частот распределения нулевых генотипов гена GSTM1 между больными АР (общая группа) и контролем показал статистически не значимые различия (X^2=0.7; P=0.2). Эти данные практически согласуются с литературными данными, где частота делеционного варианта гена GSTM1 сходна у азиатов и европеоидов (52,9% и 53,1%, соответственно) и отличается от африканцев (26,7%) (Garte S. et al., 2001).

Таблица 2

Частота распределения генотипов GSTM1 и GSTT1.

Формы заболеваний	*n	Частота распределения генотипов							
		GSTM1 «+»		GSTM1 (0/0)		GSTT1 «+»		GSTT1 (0/0)	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Основная группа больных Из них:	70	36	51,4	34	48,6	55	78,6	15	21,4
CAP	31	16	51,6	15	48,4	26	83,9	5	16,1
KAP	39	20	51,3	19	48,7	29	74,4	10	25,6
Контрольная группа	70	41	58,6	29	41,4	54	77,1	16	22,9

*n- количество обследованных пациентов

При сравнении подгруппы (сезонной и контрольной) больных АР с контрольной группой также выявлены недостоверные различия (табл.1). Частота генотипа GSTM1 0/0 в этих подгруппах пациентов незначительно превышала таковую в контрольной (X^2=0.42; P=0.3; OR=1.3).

Как и в случае гена GSTM1, при анализе частоты генотипов GSTT1 в группе больных АР и в контрольной группе не были выявлены статистически значимые различия (табл.2.). При этом интересно отметить, что в общей группе больных частота функционального GSTT1+/+ генотипа оказалась намного выше, чем у здоровых доноров и составила 78,6% и 58,6%, соответственно. Однако такие различия также не достигли уровня статистической значимости (X^2=0.04; P=0.4).

Необходимо подчеркнуть что между подгруппами мужчин и женщин, больных АР, также не обнаружено статистически значимых различий в распределении частот генотипов гена GSTM1 и GSTT1 (P>0,05), также как и между соответствующими контрольными группами.

Эти данные свидетельствует о том, что делеционные полиморфизмы генов GSTM1 и GSTT1 не могут являться самостоятельными маркерами повышенного риска развития АР в Узбекистане.

Для выявления специфических ген-генных комбинаций GSTM1 и GSTT1**,** способных влиять на риск развития АР, все индивидуумы (как пациенты, так и контрольная группа) по генотипу были разделены на 4 группы:

1 – генотипы GSTT1 0/0 и GSTM1 0/0; 2 – генотипы GST T10/0 и GSTM1 +/+; 3 – генотипы GSTT1 +/+ и GSTM1 0/0; 4 – генотипы GSTT1 +/+ и GSTM1+/+. Результаты сравнительного анализа сочетанных генотипов представлены в таблице 3.

Таблица 3

Распределение частот сочетанных генотипов делеционных полиморфизмов генов GSTM1 и GSTT1 в исследованных группах.

Группы	***n**	**Частота распределения генотипов**							
		GSTM 0/0 + GSTT0/0		GSTM 0/0 + GSTT «+»		GSTT 0/0 + GSTM «+»		GSTM «+» + GSTT «+»	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Основная группа	70	8	11,4	26	37,1	7	10,0	29	41,4
CAP	31	1	3,2	14	45,2	5	16,1	11	35,5
KAP	39	7	18,0	12	30,8	2	5,1	18	46,2
Контроль	70	3	4,3	26	37,1	13	18,6	28	40,0

*****n- количество обследованных пациентов

Как следует из полученных данных, среди больных аллергическим ринитом, индивидуумы с функционально неполноценным генотипом (GST M1 0/0+GSTT1 0/0) встречались чаще, чем в группе контроля (11,4% и 4,3%, соответственно). Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов риск развития АР более чем в 2,8 раза выше при генотипе GSTT1 0/0+GSTM1 0/0 (X^2=2.7; P=0.06; OR=2.8; 95% CI 0.7315-11.35). Такое различие оказалось ближе к достоверным значениям.

При анализе распределения сочетаний генотипов GSTT1 и GSTM1 генов в группах больных АР в зависимости от формы заболевания (табл.2), нами было выявлено, что делеции в двух генах GSTT1 и GSTM1 преобладали в подгруппе с KAP, по сравнению с группой контроля (18,0% против 4,3%, соответственно). Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов риск развития KAP формы заболевании повышается почти в 5 раз при носительстве GSTM 0/0+GSTT 0/0 (X^2=5.6; P=0.008; OR=4.9; 95% CI 1.185-20.14). Кроме того, у больных с KAP также чаще встречается генотип GSTT1 0/0+GSTM1 0/0, чем в у больных с CAP (18,0% и 3,2%, соответственно, X^2=3.7; P=0.03). Необходимо подчеркнуть, что при анализе

распределения сочетаний генотипов по генам GSTT1 и GSTM1 в подгруппе больных с САР и контроле не было выявлено достоверных отличий (P>0,05).

В результате проведенного исследования по половому признаку функционально ослабленный генотип GSTT1 0/0+GSTM1 0/0 незначительно чаще встречался у женщин с АР по сравнению с пациентами мужского пола (13,4% и 8,3%, соответственно; X^2=0.11; P=0.4) и достоверно отличался от контрольной группы (4,3%) (X^2=3.0; P=0.04; OR=3.35; 95% CI 0.794-14.14).

У мужчин с АР более чем в 5 раз чаще, чем у женщин с АР идентифицирован генотип GSTT 0/0 + GSTM «+/+» (25,0% и 4,3%, соответственно). При сравнении с контрольной группой такие различия оказались статистически достоверными (25,0% и 14,3%; X^2=6.6; P=0.004).

Таким образом, нами выявлены значимые различия в частотах сочетанных нулевых генотипов по генам GSTT1 и GSTM1 в общей группе (особенно в подгруппе больных с КАР) в сравнении с контрольной группой. Возможно, это объясняется тем, что фермент GST участвует в реакциях перехода простагландина (Pg) H2 в биологически активные PgD_2, PgE_2 и PgF_{2a}, осуществляющие превращение лейкотриена А в лейкотриен С (Wang W. et al., 1998). При наличии «функционально ослабленного» генотипа, происходит эффективный синтез медиаторов воспаления – простагландинов и лейкотриенов, что и приводит к дальнейшему развитию воспаления слизистой оболочки и аллергической реакции.

Анализ ассоциации полиморфного варианта 308G>A гена TNF-α с аллергическим ринитом.

Методом ПЦР-анализа нами исследованы особенности распределения полиморфизма 308G>A гена TNF-α.

Всего нами исследовано 140 образцов ДНК больных (70 образцов) и здоровых доноров (70 образцов). При сравнительном анализе частот распределения генотипов и аллелей – 308G>A полиморфизма гена TNF-α между общей группой больных с АР и контрольной группой не было выявлено статистически значимых различий. Частота встречаемости мутантного аллеля 308A в основной и контрольной группах составила 7,1% и 6,4 %, соответственно (табл.4). Частота распределения генотипов G/G, A/G и AA в основной группе больных составила 81,1%, 11,4% и 1,4% (в сумме не дают 100%), тогда как в контрольной группе 90%, 7,1% и 2,9% соответственно. Согласно коэффициенту соотношения шансов, риск развития АР в основной группе при наличии полиморфизма 308G>A гена TNF-α в 1.3 раза выше (OR=1.3; 95% CI 0.4654-3.789). Такое различие в исследованных группах имело статистически недостоверный характер (X^2=0.3; P=0.3).

При сравнении частот генотипов и аллелей -308G>A гена TNF-α между подгруппами больных с АР и контрольной группой было показано, что частота аллели –308A была в 2,2 раз выше в подгруппе больных с САР по сравнению с контролем (12,9% против 6,4%; X^2=2.3; P=0.06; OR=2.2; 95% CI 0.7904-5.883) (табл.3). При этом частота A/G генотипа в этой подгруппе

больных была достоверно выше в сравнении с контрольной группой (19,35% против 7,1%, соответственно). Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов наличие аллели –308A гена TNF-α достоверно увеличивало риск развития CAP в более чем 3 раза (X^2=3.3; P=0.03; OR=3.12; 95% CI 0.87-11.15). При этом различия между CAP и KAP также оказались статистически достоверными в пользу CAP (X^2=3.5; P=0.03; OR=4.4 95% CI 0.828-23.79). Исходя из этого, был сделан вывод об ассоциации аллельного варианта –308G>A гена TNF-α только с сезонной формой заболевания.

Таблица 4

Распределение частот аллелей и генотипов –308G>A полиморфизма гена TNF-α в основной и контрольной группах.

Группа	*n	Частота аллелей		Частота распределения генотипов TNF-α					
		A	G	G/G		A/G		A/A	
		%	%	n	%	n	%	n	%
Основная группа Из них:	70	7,1	92,9	61	87,1	8	11,4	1	1,4
CAP	31	12,9	87,1	24	77,4	6	19,3	1	3,2
KAP	39	2,6	97,4	37	94,1	2	5,1	0	0,0
Контрольная группа	70	6,4	93,6	63	90,0	5	7,1	2	2,9

*n- количество обследованных пациентов

Анализ распределения аллелей (48 и 92 аллеля мужчин и женщин соответственно) и генотипов полиморфного варианта -308G>A гена TNF-α в зависимости от пола больных не позволил выявить существенных различий. Преобладание носителей аллеля “308A” гена TNF-α среди мужчин с АР в сравнении с женщинами (10,4% против 4,3% у женщин) оказалось статистически незначимым (X^2=1.9; P=0.08; OR=2.5; 95% CI 0.65-10.01).

Таким образом, анализ распределения изученного –308G>A полиморфизма гена TNF-α в общей группе и подгруппе больных с КГ формой АР, а также с учетом пола пациентов, не обнаружил существенных особенностей. Однако подтверждается роль данного полиморфизма ДНК в развитии, лишь CAP. Этот факт хорошо согласуется с ранее известными представлениями о патогенезе заболевания, в том числе с данными биохимических, генетических и клинических исследований. На генетическом уровне показана ассоциация аллели –308A с усиленной экспрессией гена TNF-α. Кроме того, на биохимическом уровне выявлено увеличение содержания данного цитокина у больных с атопическими состояниями по сравнению с условно здоровыми лицами.

Полученные результаты свидетельствуют о возможной роли –308G>A полиморфизма гена TNF-α в развитии и прогрессе только САР.

Анализ ассоциации полиморфного маркера 49A/G гена CTLA4 у больных аллергическим ринитом.

При исследовании распределения аллелей (“A” и “G”) полиморфного маркера 49A/G гена CTLA4 в основной группе больных и в контрольной группе, не были выявлены статистически значимые различия (табл.5).

Таблица 5

Частота аллелей и распределение генотипов 49A/G гена CTLA4 среди больных с АР и в контрольной группе.

Форма АР	*n	Частота распределения аллелей		Частота распределения генотипов 49A/G гена CTLA4					
		A	G	A/A		A/G		G/G	
		%	%	n	%	n	%	n	%
Общая группа, из них:	70	49,3	50,7	18	25,7	33	47,2	19	27,1
САР	31	53,2	46,8	11	35,5	11	35,5	9	29,0
КАР	39	46,2	53,8	7	18,0	22	56,4	10	25,6
Контрольная группа	70	50,7	49,3	19	27,1	33	47,2	18	25,7

*n- количество обследованных пациентов

В обеих группах отмечено увеличение частоты встречаемости аллеля “G” и гетерозиготного генотипа G/A с одновременным снижением частоты встречаемости аллеля A и гомозиготных генотипов A/A и G/G в этих же группах. Частоты встречаемости “A” и “G” аллелей в исследованных основной и контрольной группах составляли 49,3 % и 50,7% против 50,7% и 49.3% соответственно (X^2=0.06; P=0.4; OR=1.1; 95% CI 0.66-1.69).

Анализ распределения генотипов показал (табл.5), что наиболее распространенным генотипом среди обследованных групп оказалась гетерозиготная аллель A/G (47,2 % в группе больных и 47,2% в контрольной группе). Гомозиготный генотип A/A, встречался почти с одинаковой частотой 25,7 % и 27,1 %, соответственно (X^2=0.04; P=0.4).

Сравнительный анализ распределения частот редкого G/G генотипа гена CTLA4 также не показал статистически достоверных различий в группе больных и контроля (54,3% и 52,9% соответственно; X^2=0.036; P=0.4; OR=1.1; 95% CI 0.51-2.28).

Анализ распределения генотипических вариантов гена CTLA4 показал, что среди больных с КАР, доля лиц с суммарными гетеро и гомозиготными мутантными генотипами почти в 1,3 раза превышала таковую в группе с САР

(82,0% против 74,0%), и незначительно (1,12 раза) в контрольной группе (82,0% против 72,9%). Однако эти различия не достигли уровня статистической значимости (X^2=1.2; P=0.1; OR=1.7; 95% CI 0.65-4.50).

Различия аллелей и генотипов полиморфного маркера 49A/G гена CTLA4 в подгруппах мужчин, женщин и контрольной группе также оказались статистически незначимыми.

Литературные данные по ассоциации полиморфного маркера 49A/G гена-CTLA4 с развитием атопических состояний противоречивы. В работах, где изучались польская, японская и корейская популяции, также не было найдено ассоциации данного маркера с атопической БА (Nakao et al., 2000; Yasek et al., 2006; Lee et al., 2002). Однако корейскими учеными была найдена ассоциация гаплотипа C–Ala полиморфизма A(+49)G с атопической БА (Sohn M.H. et al., 2007). Это можно объяснить тем, что частоты встречаемости аллелей и генотипов маркера A(+49)G широко варьируют в различных популяциях. Такая разница в частотах может влиять на различный вклад полиморфного маркера в генетическую предрасположенность к атопическим состояниям в зависимости от популяции.

Суммируя полученные результаты, можно заключить, что, несмотря на хорошо документированную роль генетического детерминанта 49A/G CTLA4 в патогенезе воспалительных процессов и в развитии целого ряда аллергических, аутоиммунных заболеваний, полученные нами данные не позволяют говорить о том, что данный полиморфизм является значимым генетическим фактором риска формирования аллергического ринита.

Исследование ассоциации полиморфного варианта A403G гена RANTES (CCL5) с аллергическим ринитом.

Общая частота гетеро- или гомозиготного (AG+AA) варианта носительства мутантных генотипов гена RANTES у больных с АР составила 47.1%, а в группе условно здоровых – 34.0%, что соответствовало 1.7-кратному достоверному увеличению риска развития АР у его носителей (X^2=2.83; P=0.04; OR=1.73; 95% CI 0.9-3.3). С целью повышения достоверности результатов по частоте распространённости полиморфного варианта A403G гена RANTES среди условно здоровых доноров нами было увеличено их количество до 91 человека, что на 21 человека больше, чем в остальных исследованиях (табл.6).

Интересно отметить, что несмотря на 1.3-кратное увеличение в распределении частот гетерозиготного генотипа G/A среди больных, статистически значимых различий при этом не было обнаружено (X^2=0.6; P=0.2; OR=1.3; 95% CI 0.68-2.5). Возможно, это связано тем, что АР не развивается у гетерозиготного носителя данного деффектного гена.

Гомозиготный генотип AA встречался как в группе больных, так и в контрольной группе (11,4% и 4,4% соответственно). При этом можно заметить снижение частоты встречаемости аллеля A и генотипа AA с одновременным возрастанием в группе больных доли аллеля G и генотипа

GG по сравнению с группой здорового контроля. Такие различия в частоте АА генотипа между двумя группами оказались статистически достоверными (X^2=2.84; P=0.04; OR=2.8; 95% CI 0.81-9.7), что свидетельствует о наличии ассоциации данного генотипа с развитием АР.

Таблица 6

Распределение аллелей и генотипов полиморфного маркера A403G гена RANTES (CCL5) в основной и контрольной группах.

Группа	*n	Частота аллелей		Частота распределения генотипов гена RANTES					
		G	A	G/G		G/A		A/A	
		%	%	n	%	n	%	n	%
Основная группа Из них:	70	70,7	29,3	37	52,9	25	35,7	8	11,4
САР	31	77,4	22,6	19	61,3	10	32,3	2	6,4
КАР	39	66,7	33,3	18	46,1	15	38,5	6	15,4
Контрольная группа	91	80,8	19,2	60	66,0	27	29,6	4	4,4

*n- количество обследованных пациентов

В мировой литературе мы не встретили работ, касающихся анализа ассоциации полиморфизма A403G гена RANTES с АР. Однако имеется несколько работ, где исследована степень детерминации данного маркера с некоторыми атопическими заболеваниями. Так н-р, в работах, исследующих маркер A(–403)G гена RANTES, не было обнаружено ассоциации данного маркера с бронхиальной астмой (БА) и атопией (Yao et al., 2003; Moissidis et al., 2005; Muro et al., 2007). Так, в исследовании Yao et al было установлено отсутствие ассоциации маркера A(–403)G с БА с атопией у азиатских детей. В Великобритании были проведены два исследования, где была показана ассоциация данного маркера с атопической БА и атопией (Fryer et al., 2000; Al-Abdulhadi et al., 2005). Вполне возможно, такую разницу в результатах можно объяснить различиями в выборках, воздействием окружающей среды и аллергенов, которые могут быть вовлечены в патогенные механизмы.

Интересно отметить, что при сравнении больных с САР и контрольной группой, ассоциации описываемого полиморфного варианта с АР не было выявлено (табл.6). Мутантный А аллель в подгруппе больных встречался чаще, чем у контроля (22,6% и 19,2%, соответственно). Однако такие различия оказались статистически незначимыми (X^2=0.3; P=0.3; OR=1.2; 95% CI 0.61-2.47). Суммарная частота гетеро- и гомозиготных генотипов в подгруппе больных с КАР в сравнении с контролем составила 53,9% против 34,0% (табл.6). Такие

различия оказалась статистически достоверными (X^2=4.45; P=0.02; OR=2.26; 95% CI 1.051- 4.849).

При анализе частот аллелей A403G гена RANTES в группе больных АР в зависимости от пола пациентов, было показано, что среди мужчин частота А аллеля составляет 18,7%, что ниже, чем у женщин (33,7%) и в контрольной группе (19,2%). Частот аллелей – A403G гена RANTES в подгруппе больных женщин частота А-аллеля составляла 33,7%, что достоверно выше, чем в контрольной группе – 19,2% (X^2=5.85; P=0.01; OR=2.0; 95% CI 1.13-3.50). При этом распределение генотипов среди больных женщин также достоверно отличалось от такового в контрольной группе. В этой подгруппе суммарный генотип AG+AA, выявленный в 56,5% случаев, встречался чаще, чем в группе контроля – 34,0% случаев, при этом различия также оказались статистически значимыми (X^2=6.34; P=0.006; OR=2.5; 95% CI 1.22-5.2).

Таким образом, установленная в нашей работе ассоциация маркера A403G гена CCL5 с АР подтверждает предположение о важности RANTES в прогрессии аллергического воспаления, повышенной обструктивности и развитии заболевания. Показана ассоциация данного маркера, с развитием АР преимущественно с КАР и у лиц женского пола.

Глава пятая посвящена описанию ген-генных взаимодействий и оценке корреляции генотипических вариантов исследованных генов с уровнем общего сывороточного IgE у больных с АР и в контроле.

Оценка роли межгенных взаимодействий изученных нами полиморфных локусов в детерминации риска развития аллергического ринита.

В результате исследования ген-генных взаимодействий аллельных вариантов TNF308, CTLA4, RANTES, GSTM1 и GSTT1 были выявлены неслучайные ассоциации «функционально неблагоприятных» генотипов и аллелей с развитием АР и его клинической формой. Кроме того, были выявлены определенные тенденции в распределении генотипов в группах и подгруппах пациентов, которые являлись статистически значимыми при анализе отдельных аллельных вариантов.

Как видно из таблицы 7, из обнаруженных сложных (более трех генов) неслучайных ген-генных комбинаций у 4 больных с АР (3 САР и 1 КАР) была обнаружена комбинация из 4 генотипов, т.е. одновременное носительство варианта TNF308+CTLA4+RANTES+GSTT1 маркеров, тогда как в контрольной группе такая комбинация не была выявлена (5,7% и 0% соответственно). Рассчитанный коэффициент соотношения шансов показал достоверное увеличение риска развития АР у носителей данной комбинации (X^2=4.2; P=0.02).

Таблица 7.

Частота встречаемости сложных генетических комбинаций среди больных АР и контроля.

Генетический вариант	Контрольная группа		Основная группа		САР		КАР	
	*n	%	n	%	n	%	n	%
TNF308+CTLA4+RANTES +GSTT1	0	0	4	5,7	3	9,7	1	2,6
CTLA4+RANTES +GSTM1+GSTT1	0	0	4	5,7	0	0	4	10,2
TNF308+CTLA4+RANTES	1	1,4	2	2,8	0	0	2	5,1
CTLA4+RANTES+GSTM1	1	1,4	5	7,1	1	3,2	4	10,2
CTLA4+GSTM1+GSTT1	0	0	3	4,3	1	3,2	2	5,1

*n-количество обследованных пациентов

Точно такая же частота встречаемости в изученных общей группе больных и контроле (5,7% и 0%, соответственно) имела одновременное носительство 4 генотипов варианта “CTLA4+RANTES+GSTM1+GSTT1”. Однако при этом интересно отметить, что все 4 носителя данной комбинации оказались больными с КАР. При этом одновременное гетерозиготное носительство аллелей “CTLA4+RANTES+GSTM1+GSTT1” наблюдалось в 10 раз чаще среди больных с КАР (10,2% против 0,0% в контроле; X^2=7.4; P=0.003).

Комбинация генотипов TNF308+CTLA4+RANTES выявлялась примерно в 2 раза чаще, чем в контроле (2,8% против 1,8%, соответственно, OR=1.7, 95% CI 1.1-2.8; P=0.028). Тем не менее, указанные ассоциативные связи не обладали достаточно выраженной статистической значимостью (X^2=0.34; P=0.2). Сравнительный анализ частоты встречаемости в исследуемой группе и в контроле “тройного” генотипического сочетания, включающего варианты “CTLA4+RANTES+GSTM1”, выявил более чем 5-кратное увеличение доли лиц с указанной комбинацией среди больных (7,1% против 1,4%, соответственно, X^2=2.8; P=0.047; OR=5.3; 95% CI 0.60-46.65). При этом среди больных из 5 выявленных с таким генотипическим вариантом 4 пациентов имели КАР (10,2%).

Наконец, значимый со статистической точки зрения результат был получен и при рассмотрении сочетания трех генотипов, а именно, “CTLA4+GSTM1+GSTT1”. Одновременное носительство этих вариантов обнаруживалось почти в 4 раз чаще среди больных, чем в здоровой выборке (4,3% против 0%, соответственно; X^2=3.06; P=0.04).

Таким образом, анализ сложных комбинаций (более трех генотипов) “ген-генных взаимодействий” у больных с АР не только подтвердил значимость обнаруженных ранее в общей группе пациентов генотипических сочетаний, но и позволил выявить специфические для подгруппы

комбинации, частоты встречаемости которых статистически значимо отличались от таковых в контроле. Наиболее интересным результатом представляется увеличение частоты встречаемости в исследуемой группе, включающей генотипы комбинации четырех генов “CTLA4+RANTES +GSTM1+GSTT1” и “тройной” комбинации “CTLA4+RANTES+GSTM1”. Анализ генотипических сочетаний, содержащих вариант с “основным эффектом”, обнаружил ассоциативные связи, возможно, отражающие приоритетный вклад той или иной комбинации в патогенез АР у больных, особенно с КАР. Это может свидетельствовать о сложном и гетерогенном характере “ген-генных взаимодействий” в патогенезе АР.

Проведенный анализ межгенных взаимодействий изученных локусов дал возможность установить основные ДНК-локусы, взаимодействующие при формировании наследственной предрасположенности к аллергическому риниту. Вероятно, для столь сложного заболевания как АР, большую роль играют как отдельные аллели генов, так и их сочетания. Такие сочетания могут различаться в популяциях, обусловливая различия в подверженности к атопии у разных этнических групп. Накопление знаний о генетических основах атопии, изучение вкладов конкретных сочетаний аллелей в подверженность к болезни, поможет в создании комплексной программы по индивидуальной первичной профилактике атопического АР с учетом генетических характеристик.

Оценка уровня иммуноглобулина Е (IgE) в сыворотке крови больных с АР и лиц контрольной группы

В зависимости от уровня общего IgE (МЕ/мл) в сыворотке крови выборка больных АР была разделена на следующие группы: 1) с очень низким уровнем (до 60 МЕ/мл); 2) низким (60-150 МЕ/мл); 3) умеренным (150-400 МЕ/мл); 4) высоким (более 400 МЕ/мл).

В качестве контроля исследована группа здоровых лиц без каких-либо признаков атопических заболеваний, с очень низким или низким уровнем IgE (91 человек).

Из обследованных пациентов очень низкий и низкий уровень IgE в сыворотке крови достоверно реже встречался в группе больных АР – 1,4% и 14,1%, чем в контроле – 77,0% и 23,0% соответственно (табл.8).

Как и ожидалось, в контрольной группе пациенты с умеренным и высоким уровнем IgE в сыворотке крови не были обнаружены, тогда как среди больных эти показатели были равны 77,2% и 7,1%, соответственно. При этом такое различие между обследованными группами оказалось статистически достоверным.

Таблица 8.

Характеристика групп больных АР и контроля

Признак <		**Больные АР (n=70)**	**Контроль (N=91)**
Уровень общего сывороточного IgE (МЕ/мл)	До 60	1 (1,4%)*	70 (77,0%)*
	60-150	10 (14,1%)**	21 (23,0%)**
	150-400	54 (77,2%)***	0
	Более 400	5 (7,1%)****	0

*X^2= 91.47; P= 0.0000001; OR=0.004; 95% CI 0.00057- 0.033;
**X^2= 1.967; P= 0.08; OR=0.56; 95% CI 0.2427 - 1.27;
***X^2= 101.7; P= 0.0000001;
****X^2= 6.7; P= 0.004.

Оценка корреляции генотипических вариантов генов-кандидатов с уровнем общего сывороточного IgE (МЕ/мл) у больных АР.

Учитывая ведущую роль ферментов биотрансформации ксенобиотиков (GSTT1, GSTM1), противовоспалительных цитокинов (TNF-α, RANTES) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA4) в развитии аллергической воспалительной реакции при АР, мы провели анализ корреляции изученных нами аллельных и генотипических вариантов этих маркеров с уровнем общего сывороточного IgE (МЕ/мл) у больных АР.

При анализе групп больных АР, у больных с умеренно высоким и высоким уровнем общего IgE (табл.8) выявлена тенденция к увеличению частоты гомозиготного по нулевым аллелям GSTT1+GSTM1 (7/59) по сравнению с группой больных – с низким или очень низким уровнем общего IgE (1/11). Согласно коэффициенту соотношения шансов, риск увеличения синтеза IgE в основной группе при наличии GSTT1 0/0+GSTM1 0/0 в 1.2 раза выше, чем в контроле с низким уровнем IgE (11,8% против 9,1%, соответственно). Однако такое различие в исследованных группах имело статистически недостоверный характер (X^2=0.07; P=0.4; OR=1.3; 95% CI 0.148-12.17).

Необходимо подчеркнуть, что функционально нормальные генотипы этих маркеров, как и ожидалось, недостоверно реже встречаются в группе больных АР с высоким уровнем общего IgE(%), чем в контроле (53,4% против 67,8%; P<0,05). Данные пациентов с очень низким уровнем общего IgE, при наличии отягощенной атопии, статистически не отличались по распределению частот нулевых генотипов изученного полиморфного варианта гена GSTT1+GSTM1 от группы контроля (P>0,05).

Оценка прямой корреляции мутантных генотипов с уровнем общего IgE в группах больных по половому признаку показала, что гомозиготный

генотип, ассоциированный с повышением синтеза IgE, незначительно чаще встречался у женщин по сравнению с мужчинами (8,5% против 5,1% соответственно; X^2=0.5; P=0.2; OR=1.7; 95% CI 0.3937-7.587).

Эти результаты не согласуются с полученными нами данными о тенденции к повышению частоты генотипа GSTT1 0/0+GSTM1 0/0 у больных АР, а также с версией об ассоциациях функционально неполноценного генотипа с повышенным уровнем общего IgE и отягощенного анамнеза по аллергическим заболеваниям. Возможно, такое расхождение связано с низким уровнем частоты сочетанных гомозиготных форм этих маркеров среди больных с низким или очень низким уровнем общего IgE.

При анализе корреляции между различными генотипами полиморфизма 308G>A гена TNF-α с уровнем общего IgE в сыворотке крови лиц общей группы больных с АР и контрольной группы также не было выявлено статистически значимых различий.

Однако при оценке коррелятивной связи «генотип-фенотип» у больных с сезонной формой АР и контрольной группой выявлено, что функционально неблагоприятные генотипы достоверно чаще встречались в группе больных с умеренно высоким и высоким уровнем общего IgE – 13,5%, чем в контроле – 1,5% (X^2=10.4; P=0.0006; OR=10.2; 95% CI 1.85-56.74).

Эти результаты также согласуются с полученными нами данными о тенденции к повышению частоты гетеро- и гомозиготных мутантных генотипов полиморфизма 308G>A гена TNF-α у больных только с САР.

Не были выявлены ассоциативные связи мутантных генотипов с повышенным уровнем общего IgE в группах больных по половому признаку.

Проведенный анализ полиморфного варианта 49A/G гена CTLA4 не позволил обнаружить достоверную ассоциацию мутантных генотипов данного маркера с высоким уровнем общего IgE у больных АР (75% против 67%; X^2=1.5; P=0.1; OR=1.4; 95% CI 0.798-2.734). Незначительная коррелятивная связь между повышенным уровнем общего IgE с мутантными генотипами выявлена в подгруппе больных с КАР (72,1% против 64,7%). Однако эти различия не достигли уровня статистической значимости (X^2=1.2; P=0.1; OR=1.4; 95% CI 0.774-2.567).

Различия в коррелятивной связи повышенного уровня общего IgE в крови с гетеро- и гомозиготными генотипами полиморфизма 49A/G гена CTLA4 в подгруппах мужчин, женщин и контрольной группе также оказались статистически незначимыми (P>0,05).

Таким образом, полученные результаты также подтверждают наш вывод о том, что данный полиморфизм является значимым генетическим фактором риска формирования аллергического ринита.

При проведении оценки коррелятивной связи полиморфизма A(–403)G RANTES выявлено, что функционально неблагоприятные генотипы достоверно чаще встречаются в группе больных с КАР с умеренно высоким и высоким уровнем общего сывороточного IgE (25/59) по сравнению

контрольной группой с низким уровнем общего IgE в сыворотке крови – 2/11 (42,4% против 18,2%; X^2=13.9; P=0.0001; OR=3.3; 95% CI 1.7-6.30). Однако при сравнении частот генотипов полиморфизма A(–403)G RANTES между сезонной формой АР и контролем не было выявлено значимых различий (P>0,05).

При анализе «генотип-фенотип» в зависимости от пола пациентов, было выявлено, что среди больных женщин с умеренно высоким и высоким уровнем в сыворотке крови общего IgE частота мутантных генотипов недостоверно выше, чем среди больных мужчин (P>0,05).

Таким образом, выявленная ассоциация между высоким уровнем общего IgE в сыворотке крови с мутантными генотипами маркера RANTES доказывает, что данный маркер играет важную роль в развитии АР (преимущественно КАР).

Выявлены сочетания изученных нами полиморфных маркеров, наиболее достоверно ассоциированных с высоким уровнем общего сывороточного IgE. Такими оказались комбинации полиморфных вариантов генов цитокинов и генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, предрасполагающие к развитию аллергического ринита (комбинации «CTLA4+RANTES+GSTM1+GSTT1» и «CTLA4+RANTES+GSTM1»). Достоверная ассоциация данных комбинаций генотипов в подгруппе больных с умеренно высоким и высоким уровнем по сравнению с группой очень низкого и низкого уровня общего IgE в сыворотке крови составила – OR=3.7 (95% CI 1.39-3.67).

Также обнаружены статистически достоверные различия между данными больных АР с высоким уровнем общего сывороточного IgE в распределении сочетаний генотипов по другим изученным генам.

Таким образом, при исследовании межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов цитокинов и ферментов биотрансформации ксенобиотиков были определены ДНК-локусы, взаимодействие которых ассоциировано с высоким уровнем IgE (>400 МЕ/мл) в сыворотке крови.

Глава шестая посвящена оценке эффективности дифференцированной фармакотерапии АР, с учетом анализа клинико-генетических параллелей заболевания.

В разработку был включен 141 больной АР в возрасте от 16 до 57 лет. Среди них лиц мужского пола было 57 (40,4%), женского – 84 (59,6%), с КАР – 69 (48,9%), САР – 72 (51,1%). Больные КАР были разделены на 2 аналогичные группы: первую группу составили 39 (56,5%) больных с установленной молекулярно-генетическими исследованиями наследственной предрасположенностью к атопии и среди них интермитирующая форма заболевания была в 37,5%, персистирующая – у 62,5% случаев. У 30 (43,5%) наследственная предрасположенность к атопии отсутствовало (вторая группа). Среди них интермитирующая форма АР было у 35,1%, персистирующая – у 64,9% пациентов. По аналогичному принципу были

разделены больные САР, т.е. 31 (43,1%) и 41 (56,9%) соответственно. В первой группе с интермитирующей формой было 43,8%, с персистирующей – 54,2%, а во второй – 45,3% и 54,7% пациентов, соответственно.

В процессе лечения мы придерживались ступенчатой фармакотерапии АР. У больных первой группы на начальном этапе придерживались рекомендуемой схемы. В случае отсутствия эффекта от проводимой терапии применяли модифицированную нами схему, суть которой состоит в следующем:

1. При легком течении интермиттирующей формы АР на первом этапе применяются Н1-блокаторы и/или интраназальные кромоны в среднетерапевтических дозах.

При отсутствии эффекта лечения в течение одной недели доза оральных Н1-блокаторов, интраназальных Н1-блокаторов и/или интраназальных кромонов увеличивается до максимальных суточных значений.

При отсутствии эффекта рекомендовано применение среднетерапевтических доз оральных Н1-блокаторов и интраназальных кортикостероидов.

2. При легком течении персистирующей формы АР: на первом этапе применяется ступенчатая фармакотерапия в классическом варианте – оральные Н1-блокаторы, кромоны. При отсутствии эффекта добавляем в схему лечения интраназальные кортикостероиды.

3. При средней тяжести течения персистирующей формы АР: на первом этапе применяется ступенчатая фармакотерапия в классическом варианте – оральные Н1-блокаторы, интраназальные кортикостероиды.

При отсутствии эффекта в течение первой недели эти препараты назанчаются в максимально терапевтических дозах и в течение двух недель лечение дополняется применением короткого курса пероральных кортикостероидов (до 3-5 дней).

4. Тяжелое течение персистирующей формы АР: применение в максимально терапевтических дозах оральных Н1-блокаторов и интраназальных кортикостероидов.

При отсутствии эффекта в течение первой недели: короткий курс пероральных кортикостероидов (до 14 дней).

При отсутствии улучшения возможно рассмотрение применения хирургических методов лечения.

При всех вариантах АР после достижения клинической ремиссии можно вернуться на ступень «вниз» и продолжить лечение в течение 1 месяца.

У пациентов вторых групп во всех случаях придерживались рекомендуемой схемы ступенчатой фармакотерапии АР.

Анализ результатов лечения КАР и САР показал, что наличие у больных наследственной предрасположенности к развитию атопии

неблагоприятно отражается на результатах фармакотерапии данного заболевания. Наличие мутаций в генах GSTT1, GSTM1 приводит к нарушению биотрансформации и изменению фармакологического эффекта применяемых лекарственных препаратов. С другой стороны мутации генов TNF-α, RANTES, CTLA4 способствуют более упорному проявлению клинических проявлений заболевания. Исходя из вышеизложенного, нами было определено:

- при легком течении КАР и САР разница в достигнутых результатах лечения и его среднем сроке у больных первой и вторых группы существенных различий не имела (P>0,01). Лишь у двух больных КАР и у одного САР с наличием наследственной предрасположенности к атопии была применена модифицированная схема лечения. Это указывает на равноценную эффективность неспецифической терапии АР с легким течением, независимо от наличия или отсутствия наследственной предрасположенности к заболеванию.

- у больных со среднетяжелой степенью как КАР, так САР конечные показатели полного клинического выздоровления в сравниваемых группах статистически достоверно отличались друг от друга (P<0,01). 21,4% больным первой группы КАР и 19,7% первой группы САР для достижения клинического выздоровления потребовалось проведение модифицированной схемы ступенчатой терапии. Во вторых группах ограничивались применением классической схемы лечения.

- у больных с тяжелой формой КАР (N=10) первой группы полное клиническое выздоровление отмечено в 60,0%, клиническое улучшение в 30,0% и 10,0% случаев состояние осталось без изменения на фоне классической схемы лечения. В 40,4% случаях для достижения клинического выздоровления потребовалось проведение модифицированной схемы ступенчатой терапии АР. Продолжительность курса лечения составила 35,1±0,4 дней. У всех больных второй группы клиническое выздоровление достигнуто применением классической ступенчатой фармакотерапии. Продолжительность курса лечения составило 26,1±0,2 дней (P<0,01).

- при тяжелой форме САР модифицированная схема ступенчатой терапии использована в 38.1% и во всех случаях это были больные первой группы. Продолжительность курса лечения составила в первой группе 25,1±0,3 дней, во второй 18,9±0,4 дней (P<0,01).

- в целом полное клиническое выздоровление у больных интермиттирующей формой достигалось раньше, чем при персистирующей форме КАР (P<0,05). При интермиттирующей форме КАР (N=29) модифицированная схема ступенчатой терапии применена в 27,6%, при персистирующей форме (N=40) в 45,0% случаях.

- как при КАР модифицированная схема ступенчатой терапии реже применена при интермиттирующей форме САР (23,3%), по сравнению с персистирующей формой (38,0%).

У больных сравниваемых групп, включенных в разработку, в течение двух лет наблюдения имелась достоверная разница по следующим критериям: количество ухудшений клинического течения КАР в год (основная группа – 4,2±0,4; группа сравнения – 2,1±0,2; P<0,01); случаи, требующие медикаментозного лечения (основная группа – 3,9±0,5; группа сравнения – 1,6±0,2; P<0,005); средняя продолжительность обострений (основная группа – 22,2±1,3; группа сравнения – 17,2±1,0; P<0,01).

Только по одному критерию из четырех, т.е. средней продолжительности обострений (основная группа – 22,2±1,3; группа сравнения – 17,2±1,0; P<0,01) в процессе наблюдения в течение двух лет имелась достоверная разница. По количеству обострений САР в год случаев, требовавших медикаментозного лечения, по усредненному показателю степени проявления симптомов обострения относительно исходного состояния, по оценке самих больных, достоверного различия не наблюдалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выводы:

1. По данным обращаемости больных в Республиканский научно-специализированный аллергологический центр МЗ РУз АР является наиболее часто встречающимся заболеванием. В клинической практике часто не соблюдаются международные стандарты диагностики АР, выявлена тенденция на не адекватное использование существующих способов лечения.

2. Частота сочетанных генотипов GSTT1 0/0+GSTM1 0/0 достоверно выше, особенно у больных с КАР (X^2=5.6; P=0.008; OR=4.9) по сравнению с таковой в контрольной группе. Носительство сочетания GSTT1 0/0+GSTM1 0/0 генотипов в этих генах может свидетельствовать о предрасположенности к такому заболеванию как АР. Анализ нулевого генотипа генов GSTM1 и GSTT1 по отдельности не выявил статистически достоверных различий. Функционально ослабленные генотипы GSTM1 0/0+GSTT1 0/0 и GSTM1 0/0+GSTT1 «+/+» более характерны для больных АР женского пола.

3. Полиморфный маркер 308G>A гена TNF-α возможно ассоциирован с развитием только с САР. Носительства гетерозиготного G/A генотипа увеличивает риск развития данной формы АР в сравнение с контрольной группой более чем в 3.1 раза (X^2=3.3; P=0.03; OR=3.12). Одновременное наличие в генотипе пациентов комбинации противовоспалительных цитокинов “TNF-α+RANTES” достоверно также увеличивает риск развития САР более чем в 5,1 раза (X^2=3.9; P=0.02; OR=5.1).

4. Наличие функционального ослабленного варианта гена – RANTES достоверно увеличивает риск развития АР, как в общей группе, так и КАР (X^2=4.45; P=0.02; OR=2.26). Функционально ослабленные генотипы RANTES более характерны для женщин.

5. Частота «функционально неблагоприятного» генотипа 49A/G CTLA4 у больных с АР в 1.1 раза превышала таковую в контрольной группе (74,3% и 72,9%). При этом вероятность развития АР среди носителей данного генетического маркера оказалась статистически незначимой (X^2=0.036; P=0.4; R=1.1; 95% CI 0.51-2.28), что свидетельствует об отсутствии самостоятельной значимости данного полиморфизма, как генетического фактора риска формирования АР.

6. Определены полиморфные варианты генов цитокинов и ферментов биотрансформации ксенобиотиков, самостоятельно или в сочетании, достоверно предрасполагающие к умеренно-высоким и высоким уровням общего сывороточного IgE.

7. У больных САР с «функционально неблагоприятным» набором генотипа для достижения клинической ремиссии потребовалось проведение неспецефической гипосенсибилизируюшей терапии достоверно более продолжительное время, чем у пациентов с отсутствием наследственной предрасположенности к развитию атопии. У больных КАР кроме того, для этого необходимо было повторение двух и более курсов лечения. При постоянном диспансерном наблюдении и проведении адекватной своевременной неспецифической терапии у больных с наследственной предрасположенностью к аллергическим заболеваниям в отдаленном периоде отмечается неблагоприятное течение КАР, что не прослеживается при САР.

Практические рекомендации:

1. При формировании групп риска развития аллергического ринита целесообразно тестирование генов-кандидатов TNF308 (сезонная форма), RANTES (круглогодичная форма) и GSTT1+GSTM1 (круглогодичная форма), как в отдельности, так и в сочетании генотипов. Полиморфизм CTLA4 уместно использовать только в комбинации с вышеперечисленными генами, т.к. он не являться самостоятельным маркером повышенного риска развития АР.

2. При наблюдении за больными АР необходимо учитывать у них более продолжительный период обострения и тяжелое клиническое течение обеих форм заболевания, особенно персистирующего течения при наличии «функционально неблагоприятного» набора генотипа в отношении развития атопии.

3. У больных обеими формами АР для достижения клинической ремиссии в большинстве случаев требуется применение препаратов используемых для неспецифической гипосенсибилизирующей терапии в высших терапевтических дозах с неоднократным повторением курса лечения.

4. При каждой спорной клинической ситуации целесообразно проводить исследование на наличие генетических маркеров, характеризующих формирование аллергической реакции организма, что способствует своевременному определению относительного риска развития

аллергического ринита, разработке и внедрению мероприятий по его первичной профилактике (рациональная профориентация, безаллергенная диета, ограничение контакта с повреждающими факторами внешней среды и т.п.).

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах:

1. Алиева В.Ш. Анализ ген-генных взаимодействий генов ферментов глутатион-s-трасферазы М1 и Т1 с риском развития аллергического ринита // Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2009. – №4. – С.19-21.
2. Алиева В.Ш., Арифов С.С. Анализ результатов лечения больных сезонной формой аллергического ринита // Российская отоларингология. – Санкт-Петербург, 2009. – №3. – С.9-13.
3. Алиева В.Ш., Арифов С.С. Анализ результатов обследования и лечения больных аллергическим ринитом (первое сообщение) // Журнал теоретический и клинической медицины. –Ташкент, 2009. – №2. –С.63-65.
4. Алиева В.Ш., Арифов С.С. Влияние наследственного фактора на эффективность фармакотерапии при круглогодичной форме аллергического ринита // Журнал Ринология. –Украина, 2009. –№2. – С.18-21.
5. Алиева В.Ш., Назаров А.А., Арифов С.С., Каримов Х.Я. Взаимосвязь риска развития аллергического ринита с различными вариантами распределения генов 308 G>A TNF-a и 49 A/G CTLA4 // Журнал Ринология. – Украина, 2009. – №1. – С.1-5.
6. Алиева В.Ш., Назаров А.А., Арифов С.С., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Анализ ассоциаций полиморфизмов генов ферментов биотрансформации с различными формами аллергического ринита // Журнал Ринология. – Украина, 2009. – №3 – С.9-12.
7. Алиева В.Ш., Назаров А.А., Арифов С.С., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Анализ генов противовоспалительных цитокинов, ассоциированных с риском развития атопического аллергического ринита // Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2009. – №3. – С.29-31.
8. Алиева В.Ш. Исследование молекулярно-генетического механизма развития аллергического ринита в Узбекистане // Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2010. – №1. – С.32-36.
9. Alieva V.Sh. Association analysis of anti-inflammatory cytokine genes with the development of atopic allergic rhinitis // Medical and Health Science journal. – Prague, 2010. – V.3. – P.1-4.
10. Алиева В.Ш., Назаров А.А., Арифов С.С., Каримов Х.Ш., Бобоев К.Т. Анализ ассоциации полиморфизма 49A/G гена CTLA4 с развитием

аллергического ринита // Журнал Цитология и генетика. – Украина, 2010. – №3. – С.16-20.
11. Alieva V.Sh., Karimov H.Y., Nazarov A.A., Arifov S.S., Boboyev K.T. Analysis of association of polymorphism CTLA4 gene 49A with allergic rhinitis in Uzbekistan // Cytology and genetics. – USA, New York, 2010. – V.44. – №3. – P.140-143.
12. Алиева В.Ш. Анализ сочетаний генотипов генов TNF-308, CTLA4, RANTES, GSTM1 и GSTT1 у больных аллергическим ринитом // Журнал Теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2011. – №5. – С.16-18.
13. Алиева В.Ш., Назаров А.А., Арифов С.С., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Сочетания генотипов генов TNF 308, CTLA4, RANTES, GSTM1 и GSTT1 у больных с аллергическим ринитом // Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2011. – №2. – С.6-8.
14. Назаров Ж.А., Алиева В.Ш., Дустбабаева Н.Д., Ирсалиева Ф.Х., Абдуллаева М.А. Возможности использования нового назального спрея «Авамис» в лечении и профилактике аллергического ринита // Журнал Теоретической и клинической медицины. –Ташкент, 2011. –№2. – С.13-15.

Статьи в сборниках и тезисы.

15. Алиева В.Ш. Исследование ассоциации полиморфизма гена кандидата CTLA4 49A/G с аутоиммунным состоянием организма // Сб. «Современная диагностика, лечение заболеваний системы крови и проблемы трансфузиологии». – Ташкент, 2008. –С.27.
16. Алиева В.Ш., Назаров А.А., .Арифов С.С., Бобоев К.Т. Роль аллельных вариантов 308 G>A гена TNF-α в патогенезе и клиническом течении аллергического ринита // Сб. «Современная диагностика, лечение заболеваний системы крови и проблемы трансфузиологии». – Ташкент, 2008. – С.28.
17. Алиева В.Ш. Анализ ассоциации полиморфизма 308G>A ГЕНА TNF-α с аллергическим ринитом в Узбекистане // Аллергология и Иммунология. – Дубай, 2009. – Т.10. – №1. – С.33.
18. Алиева В.Ш. Анализ полиморфизма гена хемокина RANTES и оценка его роли в развитии аллергического ринита // Терапевтический вестник II съезда терапевтов Республики Казахстан. -Алма-ата, 2009. – С.1.
19. Алиева В.Ш. Анализ сочетаний «Функционально неблагоприятных» генотипов генов ферментов биотрансформации GSTM1 и GSTT1 с развитием аллергического ринита // II Съезд гематологов и трансфузиологов Узбекистана «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии». – Ташкент, 2009. – С.9-10.
20. Алиева В.Ш. Анализ сочетаний «Функционально неблагоприятных» аллелей генов GSTM1 и GSTT1 у больных с аллергическим ринитом в

Узбекистане // Журнал Аллергология и иммунология. – Санкт-Петербург, 2009. – Т.10. – №2. – С.181.
21. Алиева В.Ш. Молекулярный анализ полиморфизма генов GSTM1 и GSTT1 у больных с аллергическим ринитом // Международный журнал по Иммунореабилитации. – Тель-Авив, 2009. – Т.11. – №1. – С.31.
22. Алиева В.Ш. Анализ ассоциации полиморфизма гена RANTES с развитием аллергического ринита // Международный журнал по иммунореабилитации. – Дубай, 2010. – Т.12. – №2. – С.107.
23. Aliyeva V.Sh., Karimov H.Y., Nazarov A.A., Arifov S.S., Boboyev K.T. Analysis of association of polymorphism 308G>A TNF-α gene with allergic rhinitis in Uzbekistan // III World asthma & copd forum and world forum of pediatrics. – (Bologna, Italy) April 24-27, 2010. – P.53-57.
24. Алиева В.Ш. Анализ взаимодействия «двойного» генотипического сочетания генов «TNF308+CTL4» в формировании аллергического ринита // VI Республиканская науч.-практ. конф. – Ташкент, 2011. – С. 15-16.
25. Алиева В.Ш. Анализ сочетаний генотипов генов TNF-308, CTLA4, RANTES, GSTM1 и GSTT1 у больных аллергическим ринитом // Журнал Аллергология и иммунология. – Москва, 2011. – Т.12. – №2. – С.2015.
26. Алиева В.Ш. Взаимодействия генотипов RANTES+GST при аллергическом рините // VI Республиканская науч.-практ. конф. – Ташкент, 2011. – С.11-13.
27. Алиева В.Ш. Изучение эффективности препаратов с учетом генетической предрасположенности у больных аллергическим ринитом // VI Республиканская науч.-практ. конф. – Ташкент, 2011. – С.18-19.
28. Алиева В.Ш. Сравнительный анализ аллельного полиморфизма 308G>A TNF-α среди больных с аллергическим ринитом в зависимости от пола // Всероссийская медико-биологическая конф. молодых исследователей 18 апреля 2009. – Санкт-Петербург, 2009, – С.16.

Методические рекомендации.

29. Назаров А.А., Алиева В.Ш., Ирсалиева Ф.Х., Абдуллаева М.А., Дустбабаева Н.Д. Клинические рекомендации по диагностике и лечению аллергических заболеваний // Методические рекомендации. – Ташкент, 2010. – 47с.

Тиббиёт фанлари доктори илмий даражасига талабгор Алиева Васила Шукруллаевнанинг 14.00.36 – Аллергология ва иммунология ихтисослиги бўйича «Ўзбекистонда аллергик ринитнинг клиник ва молекуляр генетик хусусиятлари» мавзусидаги диссертациясининг»

Р Е З Ю М Е С И

Таянч сўзлар: аллергик ринит (АР), мавсумий ва йил давомидаги шакли, GSTT1, GSTM1, TNF-α, RANTES ва CTLA4 генлар полиморфизми.

Тадқиқот объектлари: АР билан оғриган беморлар, 161 беморлар ва соғлом донорларнинг ДНКлари, GSTT1, GSTM1, TNF-α, RANTES ва CTLA4 генлари полиморфизми.

Ишнинг мақсади: АР пайдо бўлишининг клиник-генетик хусусиятларини, уни шаклланишида иштирок этадиган муҳим полиморфик маркерларнинг таъсирини ўрганган холда касаллик ривожланиши хавф факторлари ва учраш тезлиги, ушбу патологияни даволаш комплекси хамда башоратлашнинг янги ёндошувини ишлаб чиқиш.

Тадқиқот методлари: клиник-лаборатория, иммунофермент усул, молекуляр-генетика (ПЦР ва бошқалар), статистик.

Олинган натижалар ва уларнинг янгилиги: биринчи маротаба АР нинг клиник ва молекуляр – генетик параллели ўрганилди. Атопиянинг ривожланишида муҳим генлар полиморфизми TNF-α, RANTES, CTLA4, GSTT1, GSTM1 шартли соғлом донор ва АР билан касалланган беморларда ўрганилди. TNF-α гени 308G>A ҳамда RANTES гени A403G полиморфизмларининг мавсумий ва йил давомидаги АР га чалинишидаги мустақил омиллари аниқланган. CTLA4 гени 49A/G полиморфизми ва GSTT1, GSTM1 нол генотиплари мустақил шаклда АР пайдо бўлишидаги генетик омили эмаслиги аниқланган. Биринчи маротаба АР келиб чиқишида ўрганилган муҳим генлар комбинацияси аҳамияти аниқланди.

Амалий аҳамияти: олинган натижалар жаҳон бўйича аллергик ринитнинг молекуляр генетик маълумотларини тўлдириб, касалликни тарқалишини олдини олиш учун махсус дастурни ишлаб чиқариш ва яратишга асос бўлади.

Татбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги: ишлаб чиқилган натижалар РИИАМда, ТМА 2-клиникаси ЛОР бўлимида, ЎзР ССВ Гематология ва қон қуйиш ИТИ тиббий генетика лабораториясида қўлланилмоқда.

Қўлланиш соҳаси: тиббиёт

Р Е З Ю М Е

диссертации Алиевой Васили Шукруллаевны на тему: «Клинические и молекулярно-генетические аспекты аллергического ринита в Узбекистане», на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.00.36 – Аллергология и иммунология.

Ключевые слова: аллергический ринит (АР), сезонная и круглогодичная форма, полиморфизмы генов GSTT1, GSTM1, TNF-α, RANTES и CTLA4.

Объекты исследования: больные АР, 161 образец ДНК больных, а также здоровых доноров, полиморфизмы генов GSTT1, GSTM1, TNF-α, RANTES и CTLA4.

Цель работы: изучить клинико-генетические особенности проявления аллергического ринита с учетом изучения влияния полиморфных маркеров ключевых генов, участвующих в его формировании, частоты встречаемости и факторов риска развития заболевания, разработать новые подходы комплексного лечения и прогнозирования данной патологии.

Методы исследования: клинико-лабораторные, иммуноферментный метод, молекулярно-генетические (ПЦР и т.д.), статистические.

Полученные результаты и их новизна: впервые охарактеризованы клинические и молекулярно-генетические параллели АР. Проведен сравнительный анализ патогенетически значимых для формирования атопии полиморфизмов генов TNF-α, RANTES, CTLA4, GSTT1 и GSTM1, среди условно здоровых доноров и больных АР различного генеза. Впервые выявлена достоверная ассоциация полиморфизма 308G>A гена TNF-α с развитием с сезонной формы АР и полиморфизма A403G гена RANTES с развитием круглогодичной формой формы АР. Установлена недостаточно выраженная ассоциативная связь полиморфизма 49A/G гена CTLA4, а также нулевых генотипов генов GSTT1 и GSTM1 по отдельности с развитием АР. Впервые установлены ключевые межгенные взаимодействия, детерминирующие риск развития АР с высокой вероятностью.

Практическая значимость: полученные результаты дополняют мировую базу данных молекулярной генетике АР, а также, послужат основой для создания и реализации специальных профилактических программ.

Степень внедрения и экономическая эффективность: разработанные результаты применяются в клинической практике РНСАЦ, ЛОР отделении 2-клиники ТМА и в лаборатории медицинской генетики НИИ гематологии и переливания крови МЗ РУз.

Область применения: медицина.

R E S U M E

Thesis of Alieva Vasila Shukrullaevna on the scientific degree competition of the doctor of medical sciences on specialty 14.00.36 - Allergology and immunology, subject: "Clinical and molecular-genetic aspects of allergic rhinitis in Uzbekistan".

Keywords: allergic rhinitis, seasonal and year-round form, polymorphisms, GSTT1 genes, GSTM1, TNF-α, RANTES and CTLA4.

Sabjects of research: AR patients, 161 - DNA samples of patients, also from healthy donors, polymorphism in GSTT1 genes, GSTM1, TNF-α, RANTES and CTLA4.

Purpose of work: To study the clinical and genetic features of manifestation of allergic rhinitis in view of studying the influence of the polymorphic markers of key genes involved in its formation, the frequency of occurrence and risk factors for disease, new approaches and forecasting of complex treatment of this disease.

Methods of research: clinical-laboratory, immunoenzyme method and molecular genetic (PCR etc.), statistical.

The results obtained and their novelty: first described the clinical and molecular genetic parallels AR. A comparative analysis ofpathogenetically important for the formation of atopy gene polymorphisms TNF-α, RANTES, CTLA4, GSTT1 and GSTM1, among apparently healthy donors and patients with RA of various origins. For the first time revealed significant association of polymorphisms 308G> A TNF-α gene with the development of seasonal forms of AR and RANTES gene polymorphism A403G with the development of year-round form of the form AR. Set associative connection is not enough pronounced polymorphism 49A / Ggene CTLA4, and GSTT1 null genotype and GSTM1 genes individually with the development of AR. For the first time set key intergenic interactions that determine the risk of developing RA with high probability.

Practical value: The obtained results complement the global database of molecular genetics of AR, as well as serve as a basis for the creation and implementation of special prevention programs.

Degree of embed and economic effectivity: developed results are used in clinical practice of the Republican scientific center of the specialized allergy, ENT Department Clinic TMA-2 and in the laboratory of Medical Genetics, Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Ministry of Health Uzbekistan.

Field of application: medicine.

Талабгор_____

Автор выражает искреннюю благодарность директору НИИ Гематологии и переливания крови МЗ РУз д.м.н., профессору Х.Я.Каримову и заведующему лабораторией медицинской генетики д.м.н. Бобоеву К.Т. за консультативно-методическую помощь при выполнении молекулярно-генетической части данной работы.