

**ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФНЫХ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ АУТОИММУННОЙ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ**

*Жахонов А.Х., Маткаримова Д.С.,*

*Ташкентская медицинская академия (г. Ташкент, Узбекистан)*

*Алфраганус Университет (г. Ташкент, Узбекистан)*

**Аннотация**

**Цель.** Изучить особенности распределения полиморфных локусов гена IL17A (rs2275913) у больных с АИГА, а также определить его значимость в развитии заболевания и тяжелого его течения.

**Материал и методы.** В исследование включено 93 взрослых (основная группа) пациентов с диагнозом аутоиммунная гемолитическая анемия и 97 - здоровых доноров (контрольная группа сравнения) без аутоиммунных заболеваний в анамнезе, соответствовавших по полу и возрасту основной группе больных. Детекция генетических полиморфизмов IL17A (rs2275913) осуществлялась методом SNP-ПЦР с помощью программируемого термоциклера фирмы «Applied Biosystems» 2720 (США), с использованием тест-систем компании «Литех» (Россия) и «Syntol» (Россия).

Статистический анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ «OpenEpi 2009, Version 9.3».

**Результаты.** Оценивая характер различий в распределении аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL17A (rs2275913) в основной группе больных с АИГА по сравнению со здоровыми установлено, что носительство ослабленными аллелем (А) и генотипами (G/A и A/A) ассоциируется с повышенным риском формирования АИГА в 2.1 раза ( $\chi^2=7.9$ ; P=0.01), 1.8 раз ( $\chi^2=3.1$ ; P=0.1) и 6.6 раз ( $\chi^2=3.9$ ; P=0.05) соответственно, а также с повышенным риском формирования этой формы АИГА в 3.0 раза ( $\chi^2=12.0$ ; P=0.01), 2.2 раз ( $\chi^2=3.9$ ; P=0.05) и 11.3 раз ( $\chi^2=6.9$ ; P=0.01) соответственно.

Таким образом, результаты показывают возможный вклад полиморфного гена IL17A (rs2275913) в механизмы развития АИГА и формировании тяжелого течения заболевания.

**Ключевые слова:** IL17A (rs2275913), аутоиммунная гемолитическая анемия, носительство, частота, аллель, генотип, риск развития, тяжелое течение.

**Актуальность.** Аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА), являясь приобретенной и относительно редкой патологией среди всей группы гематологических заболеваний, характеризуется образованием аутоантител

приводящих к преждевременному в большинстве случаев внутриклеточному гемолизу эритроцитов [1, 3, 12].

АИГА имеет высокое медико-социальное значение, обусловленное ростом числа тяжелым и осложненных форм заболевания [1, 3].

На сегодня многие аспекты механизмов гемолиза эритроцитов при АИГА достаточно хорошо изучены и доказывают их сложность [9]. В частности, что в патогенезе заболевания участвуют аутоантитела, моноцитарно-макрофагальная система, системы комплемента, гуморального и клеточного иммунитета [6]. Во взаимодействии всех этих звеньев изменяется активность ряда провоспалительных цитокинов, что приводит в общей сложности к нарушениям иммунологической толерантности [14]. Между тем, точные инициальные механизмы, приводящие к запуску этого сложного процесса, до сих пор остаются до конца не раскрытыми.

В этой связи, наибольший интерес исследователей направлен к изучению возможного участия генетического компонента принимающего играющего роль в регуляции цитокинов [4, 16, 17]. Одними из ярких представителей регуляторов аутоиммунных процессов являются интерлейкин 17А [2].

На сегодняшний день отсутствуют сведения по изучению особенностей распределения и роли полиморфизма гена IL17A (rs2275913) при АИГА в узбекской популяции, что и послужило основой для проведения исследований.

**Цель.** Изучить особенности распределения полиморфных локусов гена IL17A (rs2275913) у больных с АИГА, а также определить их значимость в развитии заболевания и тяжелого его течения.

**Материал и методы.** В исследование включено 93 взрослых (основная группа) пациентов с диагнозом аутоиммунная гемолитическая анемия (медиана возраста - медиана возраста  $41,2 \pm 3,9$  лет), установленным на основе клинических и лабораторных изменений, включая результаты антиглобулиновой пробы, а также и 97 - здоровых доноров (контрольная группа сравнения) без аутоиммунных заболеваний в анамнезе, соответствовавших по полу и возрасту основной группе больных.

Методом случайной выборки производился отбор пациентов, обратившихся для диагностического обследования и лечения в республиканский специализированный научно-практический медицинский центр Гематологии (РСНПМЦГ, г. Ташкент, Узбекистан) в период с 2018 по 2022 гг.

Все обследованные распределены по группам: I -я группа – основная группа больных с АИГА (n=93); II -я группа –больные с легкой степенью тяжести АИГА (n=93); III -я группа – больные со средней степенью тяжести АИГА (n=93); IV -я группа – больные с тяжелой степенью тяжести с АИГА (n=93); V - я группа – контрольная группа сравнения (n=97).

От всех участников исследования получено информированное согласие.

Для молекулярно-генетических исследований ДНК выделяли из лейкоцитов венозной крови в соответствии со стандартным протоколом выделения ДНК. Детекция генетического полиморфизма IL17A (rs2275913) осуществлялась методом SNP-ПЦР с помощью программируемого термоциклера фирмы «Applied Biosystems» 2720 (США), с использованием тест-систем компании «Литех» (Россия) и «Syntol» (Россия), согласно инструкции производителей. Специфичность и количество амплифицированных фрагментов проверяли методом электрофореза в агарозном геле.

Статистический анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ «OpenEpi 2009, Version 9.3». Для оценки ассоциативной связи между полиморфными аллельными и генотипическими вариантами гена IL17A (rs2275913) с развитием АИГА и тяжелым его течением были рассчитаны показатели точного критерия Фишера ( $\chi^2$ ), достоверности (P), отношения шансов (OR) и доверительные интервалы (95%CI) в группах больных и здоровых.

**Результаты и обсуждение.** Изучая распространенность полиморфного гена IL17A (rs2275913) нами проведен сравнительный анализ соответствия наблюдавшихся ( $H_o$ ) частот к их ожидаемым ( $H_e$ ) частотам в группах больных с АИГА и здоровых, при равновесии Харди-Вайнберга (РХВ). Результаты показали отсутствие между частотами генотипов значимых различий по двум исследованным полиморфным генам, что свидетельствовало о соответствии  $H_o$  и  $H_e$  частот каноническому распределению ( $p>0.05$ ).

Результаты распределения полиморфного гена IL17A (rs2275913) представлены в таблице 1 (Таблица 1).

**Таблица 1**

**Характер распределения полиморфных локусов полиморфизма провоспалительного цитокинового гена интерлейкина IL17A (rs2275913) в группах больных с АИГА и здоровых**

Обследованные группы	Встречаемость аллелей				Встречаемость генотипов					
	G		A		G/G		G/A		A/A	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I-я основная группа АИГА, (n=93)	140	75.3	46	24.7	53	57.0	34	36.6	6	6.4
II – я группа АИГА со среднетяжелым течением, (n=55)	88	80.0	22	20.0	35	63.6	18	32.7	2	3.7
III-я группа АИГА с тяжелым течением, (n=38)	52	68.4	24	31.6	18	47.4	16	42.1	4	10.5
IV – я сравниваемая группа здоровых, (n=97)	168	86.6	26	13.4	72	74.2	24	24.7	1	1.1

Оценивая значимость различий в носительстве аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL17A (rs2275913) между основной и здоровой групп выявлено среди больных наличие статистически достоверное увеличения доли ослабленного А аллеля в 2.1 раза (24.7% против 13.4%;  $\chi^2=7.9$ ; P=0.01; OR=2.1; ДИ: 1.26-3.58).

Более того, статистически значимые различия определялись и в носительстве ослабленного гомозиготного А/А генотипа, частота которого среди больных с АИГА превышала аналогичную среди здоровых в 6.6 раз (6.5% против 1.0%;  $\chi^2=3.9$ ; P=0.05; OR=6.6; ДИ: 1.02-42.9).

К тому же, несмотря на то, что различия между группами для основного генотипа G/G оказались менее единицы (57.0% против 74.2%;  $\chi^2=6.3$ ; P=0.03; OR=0.5; ДИ: 0.25-0.84), однако, в отношении гетерозиготы G/A среди больных наблюдалась явная тенденция к её повышению в 1.8 раз (36.6% против 24.7%;  $\chi^2=3.1$ ; P=0.1; OR=1.8; ДИ: 0.94-3.27).

Оценивая характер различий полиморфных локусов цитокинового гена интерлейкина IL17A (rs2275913) между группами больных АИГА со среднетяжелым течением и здоровыми установлена слабая тенденция к повышению частоты встречаемости ослабленного А аллеля в 1.6 раза (20.0% против 13.4%;  $\chi^2=2.3$ ; P=0.2; OR=1.6; ДИ: 0.87-3.0).

Параллельно, в распределении основного G/G (63.6% против 74.2%;  $\chi^2=1.9$ ; P=0.2; OR=0.6; ДИ: 0.3-1.24), а также ослабленных G/A (32.7% против 24.7%;  $\chi^2=1.1$ ; P=0.3; OR=1.5; ДИ: 0.72-3.06) и А/А (3.6% против 1.0%;  $\chi^2=1.2$ ; P=0.3; OR=3.6; ДИ: 0.37-35.2) генотипов между исследованными группами не наблюдалось статистически значимых различий.

Анализируя степень значимости различий в носительстве аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL17A (rs2275913) в группе больных АИГА с тяжелым течением по сравнению со здоровыми установлено наличие статистически высоко достоверное увеличения частоты ослабленного А аллеля в 3.0 раза (31.6% против 13.4%;  $\chi^2=12.0$ ; P=0.01; OR=3.0; ДИ: 1.61-5.54).

Помимо этого, выявлены статистически значимые различия и в носительстве обоих ослабленных генотипов G/A (42.1% против 24.7%;  $\chi^2=3.9$ ; P=0.05; OR=2.2; ДИ: 1.01-4.84) и А/А (10.5% против 1.0%;  $\chi^2=6.9$ ; P=0.01; OR=11.3; ДИ: 1.85-68.9), носительство которых достоверно повышали риск формирования тяжелого течения АИГА в 2.2 и 11.3 раза соответственно.

**Заключение.** Аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) относится к редким патологиям, заболеваемость в общей популяции составляет 1–3 случая на 100 тыс. населения [5, 7]. АИГА встречается в любой возрастной группе,

вместе с тем установлено, что заболеваемость растет с увеличением возраста [10,13].

В соответствии с современными концепциями о патогенезе АИГА, развитие аутоиммунных заболеваний является результатом сложного взаимодействия факторов генетической предрасположенности и окружающей среды [5]. В частности, при АИГА, как и при других аутоиммунных заболеваниях обнаружена связь с генетическими факторами [7, 8, 11, 14, 15].

Между тем отсутствие данных о роли IL17A (rs2275913) в повышении риска развития заболевания и формирования тяжелого его течения в узбекской популяции послужило основой для проведения настоящего исследования.

В результате данного исследования мы оценивая характер различий в распределении аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL17A (rs2275913) в основной группе больных с АИГА по сравнению со здоровыми установили, что носительство ослабленными аллелем (A) и генотипами (G/A и A/A) ассоциируется с повышенным риском формирования АИГА в 2.1 раза ( $\chi^2=7.9$ ;  $P=0.01$ ), 1.8 раз ( $\chi^2=3.1$ ;  $P=0.1$ ) и 6.6 раз ( $\chi^2=3.9$ ;  $P=0.05$ ) соответственно.

В распределении аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL17A (rs2275913) в группе больных с АИГА с тяжелым течением по сравнению со здоровыми установлено, что ослабленный аллель (A) и генотипы (G/A и A/A) статистически достоверно ассоциируются с повышенным риском формирования этой формы АИГА в 3.0 раза ( $\chi^2=12.0$ ;  $P=0.01$ ), 2.2 раз ( $\chi^2=3.9$ ;  $P=0.05$ ) и 11.3 раз ( $\chi^2=6.9$ ;  $P=0.01$ ) соответственно.

Следовательно, полиморфный ген интерлейкина IL17A (rs2275913) статистически достоверно ассоциируются с повышенным риском формирования АИГА и тяжелого её течения.

Таким образом, результаты показывают возможный вклад полиморфного гена IL17A (rs2275913) в механизмы развития АИГА и формирования тяжелого течения заболевания.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Васильченкова П.И., Гальцева И.В., Лукина Е.А. Аутоиммунная гемолитическая анемия: современное состояние вопроса // ОГ. 2023. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/autoimmunnaya-gemoliticheskaya-anemiya-sovremennoe-sostoyanie-voprosa>.
2. Жахонов А. Х., Саидов А. Б., Маткаримова Д. С. Вклад полиморфного гена IL17A (rs2275913) в механизмы формирования аутоиммунной гемолитической анемии //Наука и инновация. – 2023. – Т. 1. – №. 15. – С. 77-78.

3. Жахонов А. Х., Саидов А. Б., Маткаримова Д. С. Лабораторные проявления у больных с аутоиммунной гемолитической анемией //Евразийский журнал медицинских и естественных наук. – 2023. – Т. 3. – №. 12. – С. 28-34.
4. Маткаримова Д.С., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Связь некоторых генов провоспалительных цитокинов с риском развития иммунного микротромбоваскулита // Вестник гематологии. 2022. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/svyaz-nekotoryh-genov-provospalitelnyh-tsitokinov-s-riskom-razvitiya-immunnogo-mikrotrombovaskulita>.
5. Barcellini W. New insights in the pathogenesis of autoimmune hemolytic anemia //Transfusion medicine and hemotherapy. – 2015. – Т. 42. – №. 5. – С. 287-293.
6. Barcellini W., Giannotta J., Fattizzo B. Autoimmune hemolytic anemia in adults: primary risk factors and diagnostic procedures //Expert Review of Hematology. – 2020. – Т. 13. – №. 6. – С. 585-597
7. Berentsen S., Barcellini W. Autoimmune hemolytic anemias //New England Journal of Medicine. – 2021. – Т. 385. – №. 15. – С. 1407-1419.
8. Elkoumi M. A. et al. Association of interleukin-17A gene polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus in Egyptian children and adolescents: a multi-centre study //Lupus. – 2020. – Т. 29. – №. 7. – С. 767-775.
9. Fattizzo B., Barcellini W. Autoimmune hemolytic anemia: causes and consequences //Expert Review of Clinical Immunology. – 2022. – Т. 18. – №. 7. – С. 731-745.
10. Kandinata S. G., Soelistijo S. A., Amrita P. N. A. Graves' disease presenting as autoimmune hemolytic anemia //The American Journal of Case Reports. – 2021. – Т. 22. – С. e930705-1.
11. Karimov H. Y., Matkarimova D. S., Boboev K. T. Allelic polymorphism of the IL-1 $\beta$  (rs1143627) gene in patients with immune thrombocytopenia. – 2021.
12. Karki P. et al. Autoimmune Hemolytic Anemia with Autoimmune Hypothyroidism: A Case Report //JNMA: Journal of the Nepal Medical Association. – 2023. – Т. 61. – №. 263. – С. 614.
13. Khanmohammadi S. et al. Lymphoma in the setting of autoimmune diseases: a review of association and mechanisms //Critical Reviews in Oncology/Hematology. – 2020. – Т. 150. – С. 102945.
14. Michalak S. S. et al. Autoimmune hemolytic anemia: current knowledge and perspectives //Immunity & Ageing. – 2020. – Т. 17. – №. 1. – С. 1-16.
15. Sirianni M. F. M. et al. HLA-DRB1 and cytokine polymorphisms in Brazilian patients with myelodysplastic syndromes and its association with red blood cell alloimmunization //Transfusion Medicine. – 2022. – Т. 32. – №. 5. – С. 394-401.
16. Zaninoni A. et al. Cytokine polymorphisms in patients with autoimmune hemolytic anemia //Frontiers in Immunology. – 2023. – Т. 14.
17. Zaninoni A. et al. Single Nucleotide Polymorphisms of Cytokine Genes in Warm Autoimmune Hemolytic Anemias: Relationship with Clinical and Hematological Parameters //Blood. – 2021. – Т. 138. – С. 4142.