

И.А. Николаева, Н.Р. Максимова, Т.Я. Николаева, В.П. Пузырев

ДЕЛЕЦИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ХЕМОКИНА 5 И РИСК РАЗВИТИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА В ЯКУТИИ

Целью исследования явился анализ ассоциации $\Delta 32$ полиморфизма гена *CCR5* с риском развития рассеянного склероза у русских и якутов, проживающих на территории Республики Саха (Якутия).

Материалы и методы. Обследованы 63 больных с достоверным диагнозом рассеянный склероз в соответствии с критериями Мак-Дональда и неродственные здоровые лица, отобранные на основании сходства с больными по признакам возраста, пола и национальности (253 чел.). Генотипирование по полиморфному варианту $\Delta 32$ гена *CCR5* проводили с помощью полимеразной цепной реакции.

Результаты. В популяции якутов не выявлено носителей делеции в гене *CCR5*. У русских, проживающих на территории Якутии, частота аллеля *CCR5* $\Delta 32$ составляет 9,1%. Показано увеличение скорости прогрессирования у *CCR5* $\Delta 32$ -позитивных больных в сравнении с *CCR5* $\Delta 32$ -негативными больными ($0,61 \pm 0,13$ против $0,48 \pm 0,04$).

Ключевые слова: рассеянный склероз, генетическая предрасположенность, рецептор хемокина 5.

The purpose of the research work was the analysis of the $\Delta 32$ association of the gene *CCR5* polymorphism with the risk of the multiple sclerosis development in the Russian and the Yakut population living on the territory of the Yakutia.

Materials and methods: 63 patients with the reliable diagnosis of multiple sclerosis were examined according to the McDonald's criteria and 253 unallied healthy people selected on the basis of similarity to patients by age, sex and nationality characteristics were also surveyed. The polymorphic version $\Delta 32$ of *CCR5* gene genotyping was carried out by polymerized chain reaction.

Results: The Yakut population has no carriers of gene *CCR5* deletion. The Russian population living on the territory of the republic has the frequency of *CCR5* $\Delta 32$ allelic gene of 9,1%. There is a progressing speed increase in *CCR5* $\Delta 32$ - positive patients in comparison with *CCR5* $\Delta 32$ - negative ones (0.61 ± 0.13 versus 0.48 ± 0.04).

Key words: multiple sclerosis, genetic predilection, hemokin 5 receptor.

Введение

Рассеянный склероз (РС) – хроническое демиелинизирующее заболевание с множественными очагами поражения преимущественно в центральной нервной системе, протекающее с гетерогенной клинической картиной и непредсказуемым течением. Поражая лиц молодого возраста, болезнь почти неизбежно приводит к необратимым неврологическим нарушениям, а в последующем к стойкой инвалидизации. Клиническая диагностика РС нередко представляет большие трудности, особенно при дебюте заболевания [3,4,8]. Несмотря на разработанные различные варианты клинических шкал и совершенствующиеся методы нейровизуализации и иммунологической диагностики [2,7], иногда до момента постановки диагноза проходит значительный срок. Решение проблемы ранней диагностики и целе-

направленного лечения этих больных представляет большую практическую и социальную значимость.

В результате многочисленных эпидемиологических исследований было выявлено, что существенное влияние на риск развития заболевания оказывает место проживания или принадлежность к определенной этнической группе. Наиболее высокая распространенность РС отмечена среди европеоидов, выходцев из Центральной и Северной Европы, Скандинавии. В последние годы в связи с интенсивным развитием молекулярно-генетических механизмов мультифакториальных заболеваний (МФЗ) особое внимание уделяется поиску «генов предрасположенности», которые совместимы с рождением и жизнью в постнатальном периоде, но при определенных неблагоприятных условиях способствующих развитию того или иного заболевания. [1]. Общепринятым подходом к изучению вклада наследственной компоненты в проявлении МФЗ является поиск ассоциации аллельных вариантов исследуемых генов с определенным заболеванием с использованием метода «случай-контроль». В настоящий момент известно более 150 «генов предрасположенности» к РС.

Хемокины – это группа небольших белков плазмы, основной функцией которых является хемотаксис и активация лейкоцитов и других клеток к очагу воспаления. Доказана важная роль хемокинов, в том числе белок-1 макрофагального воспаления (MIP-1 α), MIP-1 β и RANTES, рецептор хемокина 5 (*CCR5*) в патогенезе рассеянного склероза и экспериментального аллергического энцефаломиелита [9]. Ген *CCR5* локализуется на хромосоме 3p21, в регионе, выявленном как потенциальный при полном геномном сканировании у больных РС в Англии и Канаде. Делеционный полиморфизм размером 32 п.н. находится в кодирующем регионе гена *CCR5*, данная делеция препятствует взаимодействию рецептора хемокина с вирусом, либо другим инфекционным агентом и проникновению последнего в клетку. В нескольких публикациях ассоциация между *CCR5* $\Delta 32$ и предрасположенностью к РС не была выявлена [11,12]. Вместе с тем установлено, что он ассоциирован с риском развития РС в финской [13] и русской [9] популяциях, в других исследованиях с медленным клиническим прогрессированием заболевания, поздним началом заболевания, ранней смертностью [11].

НИКОЛАЕВА Ирина Аверьевна – н.с. ОМГ ЯНЦ СО РАМН; **МАКСИМОВА Надежда Романовна** – к.м.н., начальник ОМГ ЯНЦ СО РАМН; **НИКОЛАЕВА Татьяна Яковлевна** – д.м.н., зав. кафедрой Медицинского института ЯГУ; **ПУЗЫРЕВ Валерий Павлович** – акад. РАМН, директор НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН.

Целью исследования явился анализ ассоциации делеционного полиморфизма гена рецептора хемокина 5 с риском развития рассеянного склероза у русских и якутов, проживающих на территории Республики Саха (Якутия).

Материал и методы

Обследованы 63 больных с достоверным диагнозом рассеянный склероз в соответствии с критериями Мак-Дональда [4] и неродственные здоровые лица, отобранные на основании сходства с больными по признакам возраста, пола и национальности (253 чел.). Для участия в исследовании у всех пациентов и у здорового контроля было получено информированное согласие. Средний возраст больных в общей группе составил $38,39 \pm 1,41$ года. Всех больных РС распределили на две группы по этнической принадлежности. Первая группа включала 49 чел. русских (33 женщины, 16 мужчин), средний возраст $39,9 \pm 1,8$ года. Возраст к началу заболевания $29,11 \pm 1,46$ года, продолжительность болезни к моменту исследования $10,61 \pm 2,59$ года, длительность первой ремиссии – $2,32 \pm 0,42$. Степень инвалидизации по шкале Куртцке (EDSS) соответствовала $3,9 \pm 0,23$ балла. Коэффициент прогрессирования (КП) (балл EDSS/продолжительность болезни, годы) составил $0,59 \pm 0,07$. Во вторую группу вошли якуты – 14 чел. (11 женщин и трое мужчин), средний возраст $33,93 \pm 2,18$. Возраст начала заболевания $23,5 \pm 2,09$ года, длительность болезни к моменту исследования $9,0 \pm 1,81$ года, продолжительность первой ремиссии $3,46 \pm 1,07$. Балл по EDSS составил $3,78 \pm 0,34$, КП – $0,71 \pm 0,13$.

В качестве контрольной группы использовали также две популяционные выборки. Первую группу составили русские – 126 чел. (средний возраст $36,24 \pm 0,95$). Вторая группа включала 127 якутов (средний возраст $38,12 \pm 0,92$). Все исследованные контрольные группы не имеют по результатам клинического и параклинического обследования неврологической патологии.

ДНК выделяли из венозной крови больных методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование по полиморфному варианту $\Delta 32$ гена *CCR5* проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанные в литературе [12].

Наблюдаемое распределение генотипов проверяли на отклонение от

Частоты аллелей и генотипов $\Delta 32$ полиморфизма гена *CCR5* у больных РС и в группе здорового контроля

Аллели и генотипы	Больные РС - русские (n=49)	Здоровые русские (n=126)	Больные РС - якуты (n=14)	Здоровые якуты (n=127)
генотипы n (%)				
wt/wt	40 (81,6)	106 (84,1)	14 (100,0)	127 (100,0)
wt/ $\Delta 32$	8 (16,3)	17 (13,5)	-	-
$\Delta 32/\Delta 32$	1 (2,0)	3 (2,4)	-	-
аллели n (%)				
wt	88 (89,8)	229 (90,9)	28 (100,0)	254 (100,0)
$\Delta 32$	10 (10,2)	23 (9,1)	-	-

Примечание. wt- аллель дикого типа, $\Delta 32$ – аллель с делецией размером в 32 п.н.

равновесия Харди-Вайнберга (ХВБ). Для сравнения частот аллелей и генотипов в исследуемых группах проводили попарное сравнение по критерию Фишера. Достоверными считали различия при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Анализ аллеля $\Delta 32$ гена *CCR5* у 18 европейских популяций показал, что он имеет уникальное, сравнительно недавнее происхождение и связывают его с распространением ВИЧ-1 инфекции. Доказано, что при наличии данной мутации, люди, гомозиготные по этой делеции, не могут заболеть СПИДом, связанным с инфекцией ВИЧ-1, даже если они входят в группы высокого риска. В европейских популяциях его частота составляет от 2 до 15%, у коренного населения Азии в отдельных популяциях не превышает 5%, а в популяциях коренного населения Африки и Японии не выявляется. Результаты генотипирования по полиморфному варианту $\Delta 32$ гена *CCR5* у больных РС и контрольных групп представлены в табл.1. Из нее видно, что при сравнении частот генотипов и аллелей в группах русских, больных РС и контрольной, достоверных различий не выявлено. Как в группе больных, так и контрольной группе выявлена высокая частота аллеля *CCR5*wt. Ал-

лель *CCR5* $\Delta 32$ встречается в популяции русских, проживающих в Якутии, с частотой 9,1%. В группе больных РС русских частота данного аллеля несколько выше и составляет 10,2% за счет увеличения числа гетерозигот.

До середины 80-х годов прошлого столетия в работах посвященных эпидемиологии рассеянного склероза не упоминались случаи РС среди коренных жителей Якутии (якутов, эвенков, эвенов, юкагиров) [6]. В последующих публикациях отмечались зарегистрированные единичные случаи рассеянного склероза у якутов [5]. В настоящее время, используя методы магнитно-резонансной томографии, можно провести более всестороннее и углубленное исследование больных. Так, в настоящее исследование включены больные якуты с достоверным диагнозом РС, подтвержденным данными МРТ головного и спинного мозга. При генотипировании по полиморфизму $\Delta 32$ гена *CCR5* в группе якутов – больных РС и контрольной – аллеля *CCR5* $\Delta 32$ не выявлено. Данный полиморфизм, даже учитывая его значительное селекционное преимущество, не распространился в якутской популяции, что еще раз подтверждает генетическую гомогенность и территориальную изолированность якутов. По-видимому, *CCR5* $\Delta 32$ не имеет па-

Таблица 2

Клиническая характеристика русских больных с рассеянным склерозом (n=49) в зависимости от наличия (+) или отсутствия (–) аллеля $\Delta 32$ гена *CCR5*

Показатель	$\Delta 32$ (–)	$\Delta 32$ (+)
Количество больных РС	40	9
Возраст, годы (mean $\pm$ S.E.)	$40,42 \pm 1,91$	$38,1 \pm 2,85$
Возраст к началу заболевания, годы (mean $\pm$ S.E.)	$28,82 \pm 1,55$	$28,55 \pm 2,49$
Женщин, %	60,0	100
Продолжительность болезни, годы (mean $\pm$ S.E.)	$11,37 \pm 1,13$	$8,94 \pm 3,48$
Балл по EDSS (mean $\pm$ S.E.)	$3,87 \pm 0,22$	$4,0 \pm 0,61$
Длительность первой ремиссии, годы (mean $\pm$ S.E.)	$2,73 \pm 0,42$	$2,16 \pm 0,61$
Коэффициент прогрессирования, (mean $\pm$ S.E.)	$0,48 \pm 0,05$	$0,61 \pm 0,14$

Примечание. mean $\pm$ S.E. – среднее арифметическое значение с ошибкой.

тогенетической значимости в развитии рассеянного склероза у якутов.

В нашем исследовании мы также провели сравнение клинических характеристик групп больных РС - русских позитивных и негативных по аллелю CCR5Δ32 (табл.2). При этом не выявлено различий между сравниваемыми группами больных РС в возрасте начала заболевания, длительности заболевания, среднему баллу по EDSS, продолжительности первой ремиссии, но выявлено увеличение скорости прогрессирования у CCR5Δ32-позитивных больных в сравнении с CCR5Δ32-негативными больными ($0,61 \pm 0,13$ против $0,48 \pm 0,04$), причем все больные РС в этой группе женщины.

Выводы

В популяции якутов не выявлено носителей делеции в гене CCR5. У русских, проживающих на территории Республики Саха (Якутия), частота аллеля CCR5Δ32 составляет 9,1%. Показано увеличение скорости прогрессирования у CCR5Δ32 - позитивных больных в сравнении с CCR5Δ32 - негативными больными ($0,61 \pm 0,13$ против $0,48 \pm 0,04$). Таким образом, имеются значительные межпопуляционные различия по полиморфизму CCR5Δ32

у якутов и русских в Якутии. Показано, что CCR5 может иметь значение для последующего течения рассеянного склероза у русских в Якутии, а анализ его аллельного полиморфизма - прогностическую ценность.

Литература

1. Баранов В.С. Генетические основы предрасположенности к некоторым частым мультифакториальным заболеваниям / В.С.Баранов // Медицинская генетика.-2004.-№3.-С.102-112.
2. Бринар В.В. Лабораторные методы в диагностике рассеянного склероза/ В.В.Бринар, Ч.М.Позер // Журнал неврологии и психиатрии. Приложение: Рассеянный склероз. -2002.-№1.-С.7-14.
3. Гузева В.И. Рассеянный склероз. Диагностика и лечение (Возрастные аспекты) / В.И. Гузева, М.Л. Чухловина. - СПб: Фолиант, 2003.-174 с.
4. Макдональд В.Я. Диагностика рассеянного склероза/ В.Я. Макдональд //Журнал неврологии и психиатрии. Приложение: Рассеянный склероз.- 2003.-№2.-С.4-9.
5. Николаева Т.Я. Рассеянный склероз в Якутии / Т.Я.Николаева, В.С. Попов, Л.И. Бабенко // Материалы VII всероссийского съезда невропатологов. - Нижний Новгород, 1995.-С.135.
6. Попов В.С. О клинике и эпидемиологии рассеянного склероза / В.С. Попов // Журнал неврологии и психиатрии. -1983.-№9.- С.1330-1334.

7. Тотолян Н.А. Возможности методов магнитно-резонансной визуализации в диагностике рассеянного склероза / Н.А. Тотолян, Т.Н. Трофимова и др. // Журнал неврологии и психиатрии. Приложение: Рассеянный склероз.-2002.-№1.- С.32-41.

8. Шмидт Т.Е. Рассеянный склероз/ Т.Е. Шмидт, Н.Н. Яхно - М.: Медицина, 2003.-160 с.

9. Favorova O.O. The chemokine receptor CCR5 deletion mutation is associated with MS in HLA-DR4-positive Russians / O.O. Favorova [et al.] // Neurology.-V.59.-P.1652-1655.

10. Mahad D.J. Expression of chemokines in the CSF and correlation with clinical disease activity in patients with multiple sclerosis / D.J. Mahad, S.J. Howell, M.N. Woodroffe // J Neurol Neurosurg Psychiatry. -2002. -V. 72. -P. 498-502.

11. Ristic S. No association of CCR5Δ32 gene mutation with multiple sclerosis in Croatian and Slovenian patients / S. Ristic [et al.] // Multiple Sclerosis.-2006.-V.12.-P.360-362.

12. Silversides J.A. Influence of CCR5 Δ32 polymorphism on multiple sclerosis susceptibility and disease course / J.A. Silversides [et al.] // Multiple Sclerosis.-2004.-V.10.-P.149-152.

13. Pulkkinen K. Increase in CCR5 Delta32/Delta32 genotype in multiple sclerosis / K. Pulkkinen [et al.] //Acta Neurol Scand.-2004.-V.109.-P.342-347.

К.С.Лоскутова, В.А. Аргунов

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА ПРИ НР-АССОЦИИРОВАННОМ ГАСТРИТЕ У НАСЕЛЕНИЯ ЯКУТИИ

Цель исследования. Установить морфологические особенности изменений структурных компонентов СОЖ у больных НР-ассоциированным гастритом в зависимости от этнической принадлежности, пола и возраста.

Материалы и методы. Морфометрическим методом исследованы биоптаты антрального отдела 400 больных с диагнозом НР-ассоциированный гастрит, подтвержденным гистологическим, цитологическим и бактериологическим методами, никогда ранее не получавших антихеликобактерную терапию.

Результаты. Морфологической особенностью НР-ассоциированного гастрита у населения Якутии является развитие атрофических процессов у коренного населения в более раннем возрасте, чем у некоренного, что подтверждается достоверным снижением высоты покровно-ямочного эпителия и СОЖ, уменьшением слизееобразования, углублением и уменьшением количества желудочных ямок и снижением количества желез ($p < 0,05$). Рассматривается роль покровно-ямочного эпителия в раннем развитии структурной перестройки слизистой оболочки желудка.

Заключение. У больных коренной национальности изменения структурных компонентов слизистой оболочки желудка развиваются в более раннем возрасте, чем у некоренных. Группой риска раннего развития атрофических изменений СОЖ при НР-ассоциированных гастритах у населения Якутии являются лица коренной национальности и мужского пола.

Ключевые слова: НР-ассоциированный гастрит, биоптаты, морфометрия.

Purpose. To establish morphological features of the changes of structural components of mucous membrane of stomach (MMS) in patients with HP-associated gastritis depending on an ethnos, sex and age.

Materials and methods. By morphometric method we examined tissue sampling of antral part of 400 patients with HP-associated gastritis diagnosis confirmed by histologic, cytologic and bacteriological methods, never earlier received antichelicobacterial therapy.

ЛОСКУТОВА Кюньняй Саввична – зав. отделением биопсий патологоанатомического отдела РБ №1-НЦМ, с.н.с. ЯНЦ СО РАМН; АРГУНОВ Валерий Архипович –д.м.н., проф., зав. лаб. ЯНЦ СО РАМН.