

***Степанкова Дарья Андреевна***

аспирант, младший научный сотрудник  
 ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»  
 г. Казань, Республика Татарстан

***Елбоева Полина Игоревна***

аспирант, младший научный сотрудник  
 ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»  
 г. Казань, Республика Татарстан

***Мартынова Екатерина Владимировна***

канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник  
 ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»  
 г. Казань, Республика Татарстан

***Давидюк Юрий Николаевич***

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник  
 Научно-клинический центр прецизионной и регенеративной медицины  
 ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»  
 г. Казань, Республика Татарстан  
 ведущий научный сотрудник

Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных про-  
 блем биоэкологии и биотехнологии  
 ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный  
 педагогический университет им. И.Н. Ульянова»  
 г. Ульяновск, Ульяновская область

***Кабве Эммануэль***

канд. биол. наук, старший научный сотрудник  
 ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»  
 г. Казань, Республика Татарстан

***Андреева Наталья Юрьевна***

аспирант, младший научный сотрудник  
 ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

г. Казань, Республика Татарстан

**Хайбуллина Светлана Францевна**

д-р мед. наук, главный научный сотрудник

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

г. Казань, Республика Татарстан

DOI 10.31483/r-167109

## **АНАЛИЗ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РАННЕГО ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ГЛПС**

**Аннотация:** *геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) остаётся одной из ведущих природно-очаговых инфекций в России, которая отличается выраженной клинической вариабельностью. Клинические проявления ГЛПС, в частности, могут быть обусловлены однонуклеотидными полиморфизмами (ОНП) в генах раннего иммунного ответа у пациентов. Нами было проведено определение частот аллелей и генотипов по ОНП в генах CASP1 (rs580253) и IL-6 (rs1800795). При этом CASP1 кодирует каспазу-1 – фермент, являющийся продуктом активированной инфламмосомы, а IL-6 кодирует интерлейкин 6 – цитокин острого иммунного ответа. Установлено, что частоты генотипов в контрольной группе соответствовали закону Харди-Вайнберга, в то время как у пациентов с ГЛПС выявлено статистически значимое отклонение от ожидаемого равновесия, что позволяет выдвинуть предположение о существовании корреляций между генотипами по исследуемым ОНП и клиническими проявлениями заболевания.*

**Ключевые слова:** *геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, однонуклеотидные полиморфизмы, NLRP3-инфламмосома, CASP1, IL-6, аллель-специфичная ПЦР.*

*Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (Приоритет 2030).*

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – ежегодно регистрируемая в Российской Федерации ортохантавирусная инфекция, сохраняющая статус одной из ведущих природно-очаговых инфекций [8]. Заболевание характеризуется выраженной клинической вариабельностью, а риск тяжёлого течения может быть ассоциирован с однонуклеотидными полиморфизмами (ОНП) в генах, обеспечивающих ранний иммунный ответ [3]. В частности, большое значение могут иметь ОНП в генах, принимающих участие в формировании и функционировании NLRP3-инфламмасом, таких как *CASP-1* [2; 4]. Наличие полиморфизмов, ассоциированных с гиперэкспрессией основных медиаторов воспаления при ГЛПС (*IL-6*, *CASP1*, *CCL5*), может потенцировать повреждение тканей, главным образом в почках, печени и ЦНС [2; 7]. Ранее нами были получены данные о корреляциях ряда ОНП в генах воспалительных цитокинов с некоторыми клиническими проявлениями у пациентов с ГЛПС. В частности, была обнаружена корреляция между геном *CCL5* (rs2107538) и с гиперактивным воспалением, вовлечением ЖКТ и ЦНС в патогенез ГЛПС. Кроме того, ОНП в гене *IL-6* (rs1800796) коррелировал с повреждением почек, системным воспалением и лихорадкой, а гена *TLR3* (rs5743305) – с печеночной дисфункцией. Так же, варианты гена *TNF-α* (rs1799724 C, rs361525 G, rs1800629 G) ассоциировались с модуляцией продукции цитокинов, тяжёлым течением заболевания [7; 9]. В данной работе было проведено генотипирование пациентов с установленным диагнозом ГЛПС и в контрольной группе по двум ОНП в генах пути NLRP3-инфламмасом, как первый этап исследования корреляций между ОНП в генах раннего иммунного ответа и клинико-биохимическими показателями у больных ГЛПС.

Суммарную ДНК выделяли из крови 160 пациентов с ГЛПС и 70 лиц контрольной группы с помощью набора ExtractDNA Blood & Cells (Евроген, РФ) по методике производителя. Однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) выявляли методом АС-ПЦР (аллель-специфической полимеразной цепной реакции). Амплификацию выполняли на термоциклере С1000 Thermo Cycler (Bio-Rad, США) по программам ПЦР, оптимизированным для каждого ОНП. Продукты

амплификации разделяли в 1,5% агарозном геле и окрашивали бромистым этидием. Результаты визуализировали с помощью системы GelDoc XR + (Bio-Rad, США).

В контрольной группе частота аллеля С по ОНП в гене *CASP1* составила 0,791 (79,1%), а аллеля Т – 0,208 (20,8%), что несущественно отличается от частот этих аллелей в европейской популяции: С = 0,8301 (83,01%), Т = 0,1699 (16,99%) (рис. 1).

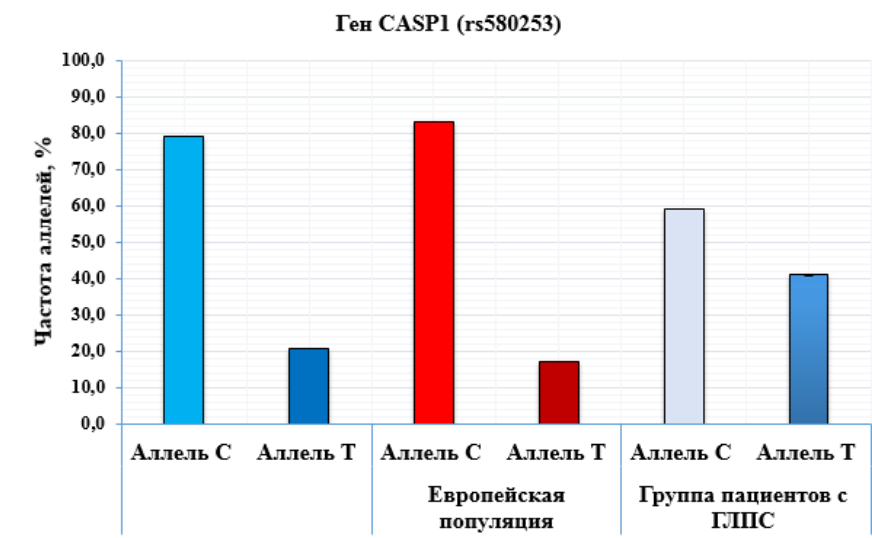


Рис. 1. Частота аллелей по ОНП rs580253 в гене *CASP1*

В то же время в группе пациентов с ГЛПС частота аллеля С равнялась 0,591 (59,1%), а аллеля Т – 0,409 (40,9%). Частоты генотипов в контрольной группе равнялись: СС – 62,25%, СТ – 33,82%, ТТ – 3,92%, а в группе пациентов с ГЛПС: СС – 40,50%, СТ – 37,19%, ТТ – 22,31% (рис. 2). Распределение генотипов в контрольной группе соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2 = 0,13$ ), в то время как у больных ГЛПС выявлено статистически значимое отклонение от ожидаемого равновесия ( $\chi^2 = 6,44$ ).

Полученные данные позволяют предположить существование ассоциации аллеля Т с активностью иммунного ответа у больных ГЛПС. Известно, что ген *CASP1* кодирует каспазу 1 – центральный компонент инфламмасом, который активирует гены интерлейкинов *IL-1 $\beta$*  и *IL-18* и запускает механизм иммунного ответа на инфицирование вирусами, поэтому наличие варианта Т может способствовать избыточной экспрессии этого гена и, как следствие, развитию

«цитокинового шторма» – реакции, характерной для выраженного системного воспаления и органных повреждений при ортохантавирусной инфекции [1; 7; 9]. Таким образом, ОНП rs580253 в гене *CASP1* может служить потенциальным прогностическим маркером и объектом для поиска корреляций между генотипом пациентов и клинико-биохимическими показателями при ГЛПС на следующем этапе исследований.

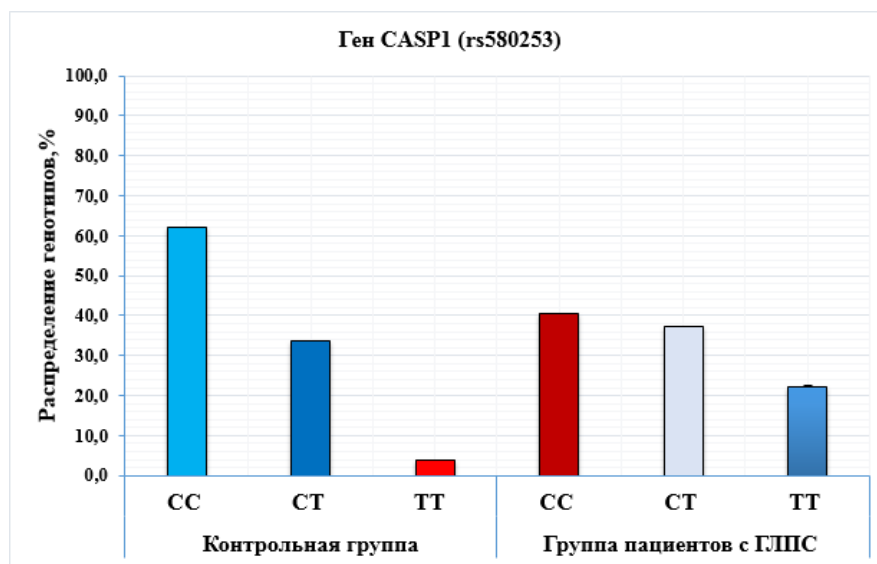


Рис. 2. Распределение генотипов по ОНП rs580253 в гене *CASP1*

Для ОНП rs1800795 в гене *IL-6* частота аллеля С в контрольной группе равнялась 43,6%, а аллеля G – 56,4%. В Европейской популяции частота аллелей гена составила: 44% и 55% для аллелей С и G соответственно, в то время как в группе пациентов с ГЛПС частота аллеля С равнялась 31,7%, а аллеля G – 68,3%.

Частота генотипов поэтому ОНП в гене *IL-6* в контрольной группе составила: CC – 19,26%, CG – 48,77%, CG – 31,97%, а в группе пациентов с ГЛПС CC – 16,26%, CG – 30,89%, GG – 52,85% (табл. 1). Распределение генотипов в контрольной группе полностью соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ( $\chi^2 = 0,02$ ), тогда как у пациентов с ГЛПС отмечено статистически значимое отклонение от ожидаемых частот ( $\chi^2 = 10,11$ ).

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов по ОНП rs1800795 в гене *IL-6*

Частота аллелей гена <i>IL-6</i> (rs1800795),%					
		Европейская популяция		Группа пациентов с ГЛПС	
Аллель С	Аллель G	Аллель С	Аллель G	Аллель С	Аллель G
43,6	56,4	44	55	31,7	68,3
Распределение генотипов для гена <i>IL-6</i> (rs1800795),%					
Контрольная группа			Группа пациентов с ГЛПС		
Генотип CC	Генотип CG	Генотип GG	Генотип CC	Генотип CG	Генотип GG
19,26	48,77	31,97	16,26	30,89	52,85

Полученные данные свидетельствуют о статистически значимой разнице в частотах аллеля G и генотипа GG у больных ГЛПС по сравнению со здоровыми лицами. Аллель G традиционно ассоциирован с повышенной транскрипционной активностью гена *IL-6* (rs1800795) и гиперпродукцией провоспалительного интерлейкина-6, что может способствовать более выраженному системному воспалению, лихорадке, наблюдаемой при тяжёлом течении ГЛПС. Таким образом, носительство аллеля G можно рассматривать как фактор риска неблагоприятного клинического исхода при ГЛПС.

Таким образом, выявленные отклонения от закона Харди – Вайнберга в частотах генотипов по исследованным ОНП в генах *CASP1* и *IL-6* у больных ГЛПС могут быть связаны с активностью иммунного ответа на вирусную инфекцию. Это позволяет использовать данные ОНП в качестве объектов для поиска корреляций между генотипом пациентов с ГЛПС и клинико-биохимическими показателями заболевания на следующем этапе исследований.

### **Список литературы**

1. Cytokine storm combined with humoral immune response defect in fatal hemorrhagic fever with renal syndrome case, Tatarstan, Russia / E. Garanina, E. Martynova, Y. Davidiyuk [et al.] // *Viruses*. – 2019. – Vol. 11, No. 7. – P. 601. DOI:10.3390/v11070601. EDN RJDEIB

2. ΔCCR5 Genotype Is Associated with Mild Form of Nephropathia Epidemica / K. Kletenkov, E. Martynova, Y. Davidyuk [et al.] // *Viruses*. – 2019. – Vol. 11, No. 7. – P. 675. DOI: 10.3390/v11070675. EDN HQURIS

3. Immunogenetics of hantavirus infections: current knowledge and future perspectives / J. Mustonen, N.P. Huttunen, T. Partanen [et al.] // *Reviews in Medical Virology*. – 2020. – Vol. 30, No. 5. – e2121. DOI: 10.1002/rmv.2121

4. Shaw P.J. Inflammasomes and autoimmunity / P.J. Shaw, M.F. McDermott, T.D. Kanneganti // *Trends Mol Med*. – 2011. – Vol. 17, No. 2. – P. 576–4. DOI: 10.1016/j.molmed.2010.11.001

5. Heterozygous TLR3 mutation in a patient with hantavirus encephalitis / T. Partanen, J.Chen, J.Lehtonen [et al.] // *Journal of Clinical Virology*. – 2020. – Vol. 125. – Art. 104306. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104306

6. Hantaan virus infection induces CXCL10 expression through TLR3-mediated RIG-I signaling / Y. Zhang, B. Liu, Y.Ma [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, No. 7. - e102970. DOI: 10.1371/journal.pone.0102970

7. Молекулярно-генетическая характеристика гемостаза пациентов при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / К.М. Манахов, Д.С. Сарксян, М.В. Дударев [и др.] // *Казанский медицинский журнал*. – 2020. – Т. 101, №6. – С. 812–819. DOI 10.17816/KMJ2020-812. EDN UMNNWC

8. Хантавирусные болезни: обзор эпидемиологической ситуации в мире. Анализ эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2023 г. и прогноз на 2024 г. / Т.А. Савицкая, А.В. Иванова, А.А. Зубова [и др.] // *Проблемы особо опасных инфекций*. – 2023. – №1. – С. 113–124.

9. Генетические факторы, определяющие индивидуальные особенности течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом / Е.А. Тюгаева, В.И. Корчагин, К.О. Миронов, А.Е. Платонов // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2019. – Т. 18, №2. – С. 113–122. DOI 10.31631/2073-3046-2019-18-2-113-122. EDN VZMNMU

10. Прогностическая значимость полиморфизма генов ферментов детоксикации у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / Г.М. Хасанова, А.В. Тутельян, Д.А. Валишин, А.Н. Хасанова // Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8, №1. – С. 737–8. EDN VTNSLR