

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ
ORIGINAL ARTICLES

АСОЦИАТИВНО ПРОУЧВАНЕ НА ФУНКЦИОНАЛЕН ПОЛИМОРФИЗЪМ
В ГЕНА ЗА ТРАНСФОРМИРАЦИЯ РАСТЕЖЕН ФАКТОР- β 1
ПРИ СИСТЕМЕН ЛУПУС ЕРИТЕМАТОДЕС В БЪЛГАРСКАТА ПОПУЛАЦИЯ

И. Манолова¹, М. Иванова², Е. Александрова³, Л. Митева⁴, Р. Стоилов², Р. Рашков²,
С. Станилова⁴ и М. Гълъбова³

¹Катедра „Здравни грижи“, МФ, ТУ – Стара Загора

²Клиника по ревматология, УМБАЛ „Св. Ив. Рилски“ – София

³Катедра „Молекулярна биология, имунология и медицинска генетика“, МФ, ТУ – Стара Загора

⁴Катедра „Обща и клинична патология“, МФ, ТУ – Стара Загора

ASSOCIATION OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR PROMOTER
POLYMORPHISM WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

I. Manolova¹, M. Ivanova², E. Aleksandrova³, L. Miteva⁴, R. Stoilov², R. Rashkov²,
S. Stanilova⁴ and M. Gulubova³

¹Department “Hearth Care”, Medical Faculty, Trakia University – St. Zagora

²Clinic of Rheumatology, UMHAT “Sv. Iv. Rilski” – Sofia

³Department “Molecular Biology, Immunology and Medical Genetics, Medical Faculty, Trakia University – St. Zagora

⁴Department “General and Clinical Patology”, Medical Faculty, Trakia University – St. Zagora

Резюме. Целта на проучването беше да изследваме ролята на промоторен полиморфизъм –509C/T в TGF β 1 гена за предразположението към системен лупус еритематодес (СЛЕ) и конкретните клинични прояви на заболяването в българската популация. 149 лупусно болни и 134 здрави контроли бяха генотипирани по този полиморфен маркер чрез анализ на полиморфизъм по дължината на рестрикционните фрагменти след PCR реакция (RFLP-PCR). Макар установените алелни честоти по полиморфизма –509C/T сред пациенти със СЛЕ и при здравите контроли да бяха сходни, при пациентите беше наблюдавана по-висока честота на хетерозиготния генотип (53%) с близка до статистическата значимост в сравнение със здравите контроли (42%) с OR = 1.52; 95% CI, 0.96÷2.59, P = 0.059. При болните с хематологични прояви беше установена значимо по-висока честота на хетерозиготния генотип (60%) в сравнение с тези без хематологични прояви (38%) с OR = 2.41; 95%CI: 1.1÷5.32; p = 0.016. Носителството на хетерозиготния генотип бе асоциирано и с наличие на анти-двДНК (OR = 2.108; 95%CI: 1.033÷4.295; p = 0.04). В заключение, –509C/T полиморфизмът в TGF- β 1 гена влияе върху генетичното предразположение към СЛЕ и клиничните изяви на заболяването в българската популация, което го определя като един от генетичните фактори, допринасящи за клиничното разнообразие на заболяването.

Ключови думи: генен полиморфизъм, СЛЕ, TGF- β 1

Summary. The aim of this study was to evaluate the association of –509C/T promoter polymorphism of TGF- β 1 gene with systemic lupus erythematosus (SLE) and clinical features in Bulgarian population. A total of 149 patients with SLE and 134 healthy controls were genotyped for the –509C/T polymorphism of TGF- β 1 by restriction fragment length polymorphism (RFLP)–PCR assay. There were no significant differences in allele frequencies of –509C>T polymorphism of TGF β 1 gene between the SLE patients and healthy controls. However, the frequency of heterozygous genotype among the SLE patients (53%) was higher compared to healthy controls (42%) with borderline significance and OR = 1.52; 95% CI, 0.96÷2.59, P = 0.059. In addition, heterozygous genotype was significantly higher in the SLE patients with haematological disorders (60%) compared to patients without these clinical features (38%) with OR = 2.41; 95%CI: 1.1÷5.32; p = 0.016. The heterozygous genotype was also found to be slightly associated with anti-DNA positivity (OR = 2.0; 95%CI: 0.96÷4.2; p = 0.045). In conclusion, our results suggest that –509C > T polymorphism of TGF β 1 may play a role in the susceptibility to SLE in the Bulgarian population. Also, TGF- β 1 polymorphism was related to specific clinical manifestations of the disease pointing TGF β 1 polymorphism as one of the genetic factors that explain the heterogeneity seen in/with SLE.

Key words: gene polymorphism, SLE, TGF- β 1

Увод

Системният лупус еритематодес (СЛЕ) е хронично аутоимунно заболяване, засягащо много органи и системи и протичащо с разнообразни клинични симптоми. Характерни имунологични отклонения за заболяването са поликлоналната В-клетъчна активация, присъствието на автореактивни клонове лимфоцити и продукцията на широк спектър автоантитела срещу различни клетъчни антигени, в това число и ядрени [2]. Причините за загубата на толерантност към собствените антигени остават неясни, но вероятен дефект в механизмите, контролиращи имунологичната толерантност, е причина за персистиращата активация на автореактивните лимфоцити. Нарушената регулация в продукцията на трансформиращия растежен фактор- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) – ключов имунорегулаторен цитокин с изразено противовъзпалително и имносупресивно действие, се свързва с имунната дисрегулация, продукция на автоантитела и развитие на системно аутоимунно заболяване при опитни модели мишки [10, 25]. В литературата има единични съобщения за намалена *in vitro* продукция на TGF- $\beta 1$ при пациенти със СЛЕ и е изказано предположение, че редукцията в циркулиращите нива на този цитокин е свързана с предразположение към развитие на системно аутоимунно заболяване [20]. Известно е, че върху конституционалната или индуцируемата цитокинова продукция значима роля играят функционалните генни полиморфизми, особено локализираните в промоторната секвенция на гена. В човешкия ген за TGF- $\beta 1$, картиран в 19 хромозома (19q13.2), са идентифицирани няколко полиморфни алела – в промоторната област на гена, в нетранслиращ се район и няколко кодиращи единични нуклеотидни полиморфизма (SNPs) [7]. Един от тези молекулни варианти в промотора на гена за TGF- $\beta 1$, за които се съобщава функционална значимост (асоциация със серумното ниво), е единичната нуклеотидна замяна на цитозин (С) с тимин (Т) на позиция –509 (rs2229765) от транскрипционното стартово място на гена. Носителството на алел –509Т се свързва с повишена продукция на TGF- $\beta 1$ [13]. Данните в литературата, касаещи значението на молекулните варианти в гена за TGF- $\beta 1$ за генетичното предразположение към системен лупус, са оскъдни [8, 18, 29]. Публикувани са две научни съобщения, в които авторите не намират значима асоциация на –509С/Т полиморфизма със СЛЕ, въпреки че пациентите със СЛЕ притежават значимо по-ниско серумно ниво на TGF- $\beta 1$ [8, 18].

Целта на проучването беше да се установи разпределението на алелните и генотипните честоти на –509С/Т полиморфизма в *TGFB1* при български пациенти и контроли и да се изследва тяхната асоциация със системния лупус еритематодес.

ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

Пациенти

В проучването бяха включени 149 пациенти със СЛЕ, покриващи 4 и повече класификационни критерия на ACR от 1982 г. [27]. Пациентите са диагностицирани и лекувани в два университетски центъра – Клиниката по ревматология на Медицинския университет – София, и Университетската болница – Стара Загора. Болните бяха оценени по предварително възприет протокол, включващ клинични прояви на болестта, дефинирани съобразно показателите в индекса SLEDAI [4]. Регистрирани бяха всички органични локализации, разгърнати в еволюцията на заболяването, на общо 124 от пациентите. На случаен принцип бяха избрани и 134 здрави контроли от същите региони на страната както пациентите, които сформираха контролната група на настоящото проучване.

Изолиране на геномна ДНК: Геномна ДНК беше изолирана от 2 ml венозна кръв с антикоагулант EDTA и с помощта на ДНК екстрахиращи китове на колонния принцип на екстракция (NucleoSpin Blood L, Macherey-Nagel, Duren, Germany). Концентрацията и чистотата на изолирана ДНК беше определена спектрофотометрично чрез NanoVuetm спектрофотометър (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK).

Генотипизиране по –509С/Т полиморфизма в *TGFB1* гена:

За генотипиране на SNP –509С/Т в промоторната област (rs2229765) на *TGFB1* използвахме RFLP-PCR метод (полиморфизъм по дължината на рестрикционните фрагменти/restriction fragment length polymorphism-RFLP), като използвахме следната двойка праймери: 5'–CAG TAA ATG TAT GGG GTC GCA G–3' и 5'– GGT GTC AGT GGG AGG AGG G–3' за амплификация на фрагмент с дължина 153 bp. Амплификационните продукти се подложиха на въздействието на рестриктазен ензим Eco81I (Fermentas, Latvia) и получените рестрикционни фрагменти бяха разделени чрез 2.5% агарозна електрофореза и визуализирани с етидиев бромид (0.5 mg/ml). При наличието на –509С алел в промоторната област на *TGFB1* се

създава рестрикционно място за Eco81I ензима и той разкъсва 153 bp ампликона на два по-малки с дължина 115 bp и 38 bp. В хомозиготно състояние по алел Т, т.е. при генотип ТТ, не се наблюдава разкъсване и се отчита само един фрагмент с дължина на амплификационния продукт – 153 bp, при хетерозитоген генотип ТС, се получават три фрагмента с дължина 153 bp, 115 bp и 38 bp, а при генотип СС – два фрагмента с дължина 115 bp и 38 bp.

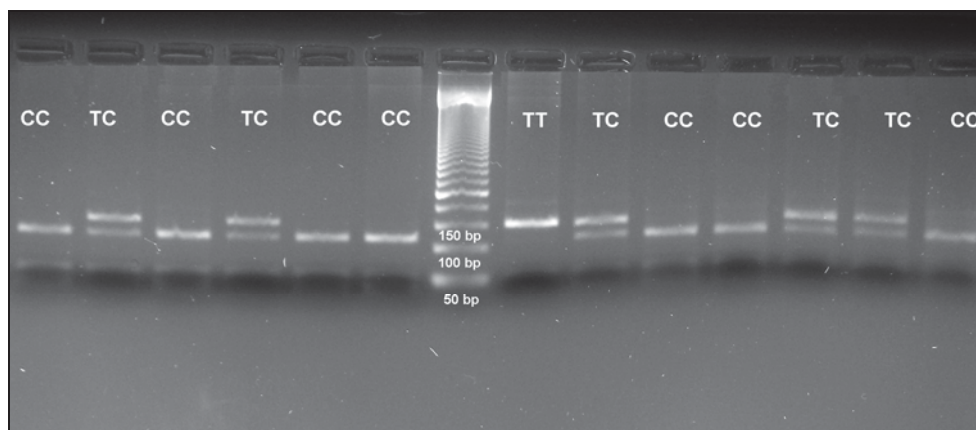
Статистически анализи: Генотипните и алелните честоти бяха изчислени след директно изброяване на носителите на даден генотип в изследваните групи. За сравнение на получените честоти между изследваните групи беше използвана четирикратна (2 x 2) таблица или многократна таблица, в зависимост от това дали наблюдаваните случаи бяха разпределяни по два, или по повече признака, чрез χ^2 -тест на SPSS, версия 16.0 за Windows. Проверка за равновесие по закона на Харди-Вайнберг при изследването на rs2229765 полиморфизма беше извършена сред двете изследвани групи с помощта на on-line достъпен статистически калкулатор <http://graphpad.com/quickcalcs/chisquared1.cfm>. За да установим дали носителството на даден генотип/алел предразполага към развитие на заболяването или някоя негова проява, беше използвано съотношението на шансовете (Odds Ratio, OR). Стойностите на OR са представени със съответния 95% доверителен интервал (95% CI) и бяха изчислени на базата на заключенията за рисков алел чрез интерактивен пакет от статистически програми на страница в интернет: <http://statpages.org/ctab2x2.html>. При всички използвани анализи за статистически достоверни бяха приети различия при ниво на значимост $p < 0.05$.

РЕЗУЛТАТИ

Асоциация на –509С/Т полиморфизъм в TGFB1 гена с генетичното предразположение към СЛЕ

Генотипирани бяха общо 149 лупусно болни и 134 здрави контроли по –509С/Т полиморфизъм в промоторната област на гена за TGF- β 1 чрез RFLP-PCR метод (фиг. 1). Установените генотипни и алелни честоти не се различаваха значимо от очакваните съгласно закона на Харди-Вайнберг сред изследваните пациенти ($\chi^2 = 2.00$; $p = 0.367$) и здрави индивиди ($\chi^2 = 2.237$; $p = 0.326$).

От изследваните 134 здрави индивиди 36% бяха хомозиготи по алел С, 42% – хетерозиготи и 22% бяха хомозиготи по алел Т. Генотипните честоти при лупусно болните бяха: 32% – носители на дивия алел С в хомозиготно състояние (генотип СС), 53% – хетерозиготи (генотип СТ), а останалите 15% бяха хомозиготи по вариантни алел (генотип ТТ). Установените генотипни и алелни честоти сред изследваните от нас пациенти и здрави контроли са представени на табл. 1. Алелните честоти на –509С/Т полиморфизма в TGFB1 гена сред пациенти и контроли бяха много сходни и не установихме значими разлики ($p = 0.721$). В генотипното разпределение бяха наблюдавани известни разлики между пациенти и контроли, но те не достигат статистически значима разлика ($\chi^2 = 0.092$; $df = 2$; $p = 0.761$). Трябва да отбележим, че хетерозиготният генотип (СТ) беше с по-голяма честота сред пациентите – 53%, в сравнение с 42% от индивидите в контролната група с OR = 1.52; 95% CI, 0.96–2.59, като статистическата значимост на разликата е гранична ($p = 0.059$).



Фиг. 1. 2.5% агарозна електрофореза на рестрикционните фрагменти след амплификация на генен фрагмент от TGFB1. Генотип ТТ се идентифицира по наличие на един фрагмент с дължина на амплификационния продукт 153 bp, при хетерозитоген генотип ТС се наблюдават два фрагмента с дължина от 153 bp и 115 bp, а при генотип СС се наблюдава фрагмент с дължина 115 bp

Таблица 1. Генотипни и алелни честоти на -509С/Т промоторния полиморфизъм в гена за TGF-β1 при пациенти със СЛЕ и здрави контроли

	Пациенти (n = 149)		Контроли (n = 134)		OR (95% CI)	p
	n	честота	n	честота		
Генотипи						
СС	48	0.32	49	0.36	0.82(0.49÷1.39)	0.441
СТ	79	0.53	56	0.42	1.57 (0.96÷2.59)	0.059
ТТ	22	0.15	29	0.22	0.63 (0.33÷1.21)	0.133
Алели						
С	175	0.59	154	0.57	1.05 (0.74÷1.49)	0.761
Т	123	0.41	114	0.43	0.94 (0.67÷1.35)	

Асоциация на -509С/Т полиморфизъм в TGFB1 гена с клиничните прояви при СЛЕ

Болните бяха разпределени по клинични прояви въз основа на показателите в индекса SLEDAI [4]. Съобразно проследените от нас прояви получихме следните честоти: с най-висока честота бяха ставно-мускулни (94.5%) и кожно-лигавични прояви (89%) на болестта, следвани от хематологични отклонения (66%), анти-двДНК позитивност (47%), серозит (44.5%)

лупусен нефрит (40%) и васкулит (23%). Нервно-психиатричните прояви и антифосфолипидният синдром (АФЛС) бяха с най-ниска честота (19%) от изследваните от нас клинични прояви на системния лупус.

Не установихме значими асоциации на алелните честоти на -509С/Т полиморфизма в TGFB1 с изследваните от нас клинични прояви. Генотипното разпределение по този полиморфизъм при пациенти със СЛЕ в зависимост от клиничните прояви на болестта е представено на табл. 2.

Таблица 2. Асоциация на генотиповете на -509С/Т полиморфизма в TGFB1 с клиничните прояви на заболяването

Клинични прояви	Генотипни честоти			p
	СС n (%)	СТ n (%)	ТТ n (%)	
Нервно-психиатрични прояви				
да (n = 26)	10 (39)	13 (50)	3 (11)	0.758
не (n = 111)	35 (32)	59 (53)	17 (15)	
Васкулити				
да (n = 32)	10 (31)	18 (56)	4 (13)	0.875
не (n = 102)	35 (33)	54 (52)	16 (15)	
Лупусен нефрит				
да (n = 55)	13 (24)	32 (59)	9 (17)	0.211
не (n = 88)	32 (39)	40 (48)	11 (13)	
Ставно-мускулни прояви				
да (n = 130)	42 (32)	71 (55)	17 (13)	0.043
не (n = 7)	3 (43)	1 (14)	3 (43)	
Серозни прояви				
да (n = 61)	17 (28)	33 (54)	11 (18)	0.413
не (n = 76)	28 (37)	39 (51)	9 (12)	
Кожно-лигавични прояви				
да (n = 122)	39 (32)	63 (52)	20 (16)	0.235
не (n = 15)	6 (40)	9 (60)	-	
Хематологични прояви				
да (n = 90)	24 (27) ^a	54 (60) ^b	12 (13)	0.047
не (n = 47)	21 (45)	18 (38)	8 (17)	
Анти-двДНК позитивност				
да (n = 65)	15 (23) ^b	40 (62) ^г	10 (15)	0.062
не (n = 72)	30 (42)	32 (44)	10 (14)	
АФС				
да (n = 26)	6 (23)	15 (58)	5 (19)	0.457
не (n = 111)	39 (35)	57 (51)	15 (14)	

^a P = 0.033 (CC vs. CT+TT), OR = 0.45 с 95%CI: 0.20÷1.01; генотип СС протективен фактор за хематологични усложнения

^b P = 0.016 (CT vs. CC+TT), OR = 2.417 с 95%CI: 1.104÷5.324; генотип СТ рисков фактор за хематологични усложнения

^б P = 0.021 (CC vs. CT+TT), OR = 0.42 с 95%CI: 0.186÷0.939; генотип СС протективен фактор за появата на анти-двДНК антитела

^г P = 0.045 (CT vs. CC+TT), OR = 2.0 с 95%CI: 0.956÷4.199; генотип СТ рисков фактор за появата на анти-двДНК антитела

При наличие на хематологични прояви беше установена значимо по-ниска честота на генотип СС (27%) в сравнение с пациентите без хематологични прояви (45%) с $OR = 0.345$ (95% CI: 0.20–1.01, $p = 0.033$). Едновременно с това установихме значимо по-висока честота на хетерозиготния генотип СТ (спрямо хомозиготите) при болните с хематологични прояви (60%) в сравнение с тези без хематологични отклонения (38%). Носителството на хетерозиготния генотип беше асоциирано с повишен риск от хематологични усложнения ($OR = 2.41$; 95% CI: 1.10–5.32; $p = 0.016$).

Хетерозиготният генотип СТ беше наблюдаван с по-голяма честота и при болните с автоантитела към двДНК (62%), в сравнение с болните без тези автоантитела (44%) с $OR = 2.0$ (95% CI: 0.96–4.2, $p = 0.045$). 23% от болните, положителни за анти-двДНК антитела, бяха хомозиготни носители на дивия алел С, в сравнение с 42% при контролите ($p = 0.021$).

Ставно-мускулните прояви, които са едни от най-често срещаните изяви на системния лупус, също показва слаба асоциация с генотипите на *TGFB1* –509С/Т ($p = 0.043$), като 55% от случаите със ставно-мускулна симптоматика са носители на хетерозиготния генотип (СТ) в сравнение с 14% при болните без тези прояви ($OR = 7.22$; 95% CI: 0.82–163.73, $p = 0.09$). Поради малкия брой болни без ставно-мускулни прояви ($n = 7$) този резултат трябва да бъде верифициран при по-голяма група болни.

Не бяха установени значими асоциации между носителството на даден генотип или алел и редица други клинични показатели, като възраст, на която се манифестира болестта, нервно-психиатрични прояви, васкулит, лупусен нефрит, серозит, антифосфолипиден синдром.

Обсъждане

TGF- β 1 е важен за поддържането на нормалната имунна хомеостаза регулаторен цитокин с плейотропно действие [17]. Той има силно изявено имunosупресорно въздействие, което се реализира чрез контрол върху активацията, пролиферацията, диференциацията и преживяемостта на всички ефекторни клетки на имунната система, включително Th1, Th2, цитотоксични лимфоцити, макрофаги, NK клетки и В-лимфоцити [17, 22, 28]. TGF- β 1 потиска също съзряването на дендритните клетки [11] и играе есенциална роля в развитието и функционирането на регулаторните Т-клетки [21, 24, 32].

Доказателства за изключително голямото значение на този цитокин в контрола на аутоимунитета ни предоставят проучвания с опитни мишки с генна делеция на TGF- β 1 или генно манипулиране на неговите рецептори в Т-клетките. TGF- β 1 дефицитните мишки, както и тези с нарушена TGF- β 1 сигнализация в Т-клетките развиват аутоимунен синдром с полиорганно засягане и летален изход [10, 12, 19, 25]. Този синдром наподобява системния лупус и синдрома на Sjögren при човека [10] и се характеризира с мултифокален възпалителен процес, засягащ сърцето, мозъка, белите дробове, скелетната мускулатура, черния дроб, стомаха, панкреаса, слюнчените жлези и други органи, лимфопролиферация, спонтанна активация на автореактивните Т-лимфоцити и продукция на автоантитела [12, 25].

Според наскоро публикувано проучване, най-изразената и константна аномалия в цитокиновите нива при болните от системен лупус е намалението на серумния TGF- β 1 [5]. Данните в литературата посочват влиянието на алелните варианти на –509С/Т полиморфизма в гена за *TGFB1* и хомозиготното им носителство върху степента на генна експресия и белтъчна продукция, повлиявайки по този начин развитието и тежестта на TGF- β 1-свързаните заболявания [3, 14]. Ниското серумно ниво на TGF- β 1 се свързва както с предразположението към системен лупус, така и с активността и развитието на органа увреда при заболяването [16, 18].

В тази връзка ние изследвахме влиянието на биалелния полиморфизъм в промоторната област на гена за TGF- β 1 в позиция –509 С/Т върху генетичното предразположение към развитие на СЛЕ и клиничните прояви, разгърнати в хода на болестта. Това е първото асоциативно проучване на този полиморфен маркер сред българската популация и обхваща 149 лупусно болни и 134 здрави индивиди.

Установените от нас генотипни и алелни честоти на –509С/Т полиморфизма в *TGFB1* бяха сравнени с установените при други популации. От достъпните в литературата данни се открояват междуетническите различия в честотата на алелните варианти на този полиморфен маркер (табл. 3). С-алелът е по-често срещаният алел сред здравите индивиди от европеидната раса в проучванията на френски [7], германски [30] и британски [3] автори с честота от 65 до 76%, докато сред здравите лица от различни азиатски етноси Т-алелът се среща по-често или почти наравно с С алела [1, 9, 31]. По отно-

шение на генните честоти българската популация заема междинно положение. При това С-алелът е с по-ниска честота от тази в европейците и малко по-често срещан от азиатските етноси и беше установен при 57% от здравите индивиди и при 59% от случаите със системен лупус. Носителството на даден алел от този полиморфизъм

не беше асоциирано с повишен риск от развитие на СЛЕ в българската популация. Анализът на генотипното разпределение на промоторния полиморфизъм –509С/Т в *TGFB1* гена показва по-висока честота на хетерозиготния генотип СТ, като носителството му беше асоциирано с 1.5 пъти по-висок риск за развитие на системен лупус.

Таблица 3. Междуетнически различия в алелната честота на –509С/Т полиморфизма в *TGFB1* при здрави контроли

Локус	Алел	Честота (%) в здравите контроли				
		Българско проучване ^а	Френско проучване ^б	Английско проучване ^в	Германско проучване ^г	Тайванско проучване ^д
–509	С	57	66	76	70	48
	Т	43	34	24	30	52

^аДанни от това проучване; ^бCambien et al., 1996; ^вAwad et al., 1998; ^гWu et al., 2009; ^дLing-Ying et al., 2004

Системният лупус е хетерогенно заболяване с разнообразни клинични прояви, чието разнообразие би могло да се дължи на генетични фактори. Ето защо анализирахме и ефекта на –509С/Т полиморфизма в *TGFB1* върху клиничните прояви, разгърнати в хода на болестта. Резултатите от нашето проучване показаха, че носителството на хетерозиготния генотип се свързва с около 2 пъти по-висок риск за появата на хематологични прояви и антитела срещу двДНК при лупусно болните, докато хомозиготния генотип по С-алела се явява протективен фактор по отношение на тези прояви. Тези резултати не са неочаквани, като се има предвид фактът, че при полигенните заболявания изявата на конкретния алел, свързан със заболяването, е зависима от другите алели, имащи значение за болестта, както и тяхното взаимодействие с определени фактори на средата.

За полиморфните варианти на гена за TGF-β1 са установени асоциации с различни мултифакторни заболявания. В проучване на американски автори от 2007 г. високопродуктивният генотип –509 ТТ се асоциира с повишен риск от развитие на колоректален карцином [6]. Носителството на –509Т алела е свързано с прогресията на ставната деструкция при болни с РА според едно корейско проучване [18]. В литературата има единични научни съобщения за ролята TGF-β1 полиморфизмите, и по-специално на този на –509 място (–509С/Т), за ефекта на полиморфизма за развитието и клиничните изяви на заболяването [8, 15, 18, 29]. Lu и сътр. не намират асоциация между този полиморфен маркер и предразположението към развитие на системен лупус в проучване,

обхващащо 134 болни и 182 здрави лица от тайвански произход [18]. Друго проучване, анализиращо ролята на TGF-β1 кодони 10 (С/Т) и кодони 25 (G/C) полиморфизмите, установява по-висока честота на алел С и на хетерозиготния генотип GC на TGF-β1 кодони 25 при болните със системен лупус [15]. Нашите резултати са по-сходни именно с тези на Guarnizo-Zuccardi и сътр. – авторите изследват друг полиморфизъм на същия ген.

Ключовата роля на TGF-β1 в патогенезата на системния лупус е демонстрирана в експериментални модели с мишки, спонтанно развиващи лупус, и неавтоимунни див тип. При дивия тип мишки нарушаването на В-клетъчния толеранс в отговор на автоантигенни стимули е транзиторно и възстановяването на имунологичния толеранс към собствените антигени корелира с появата на TGF-β1-продуциращи Т-клетки [26]. При мишки, спонтанно развиващи лупус, намалената продукция на TGF-β1 и/или блокирането на неговото действие посредством моноклонални антитела водят до имунна дисрегулация и продукция на автоантитела, които образуват имунни комплекси, предизвикват имуномедирано възпаление в таргетните органи [23]. Това отключва локалната продукция на антиинфламаторни цитокини като TGF-β1, който стимулира процесите на заздравяване, но и е основен профибротичен фактор. Повишената му експресия в тъканите може да доведе до свръхпродукция и отлагане на колаген и матриксни протеини, причиняващи прогресивна тъканна фиброза и органна дисфункция [23]. Тази парадоксална/двойствена и комплексна роля, която играе TGF-β1 в развитието и прог-

ресията на системните автоимунни болести, трябва да се има предвид при анализиране участието му в болестната патогенеза.

В заключение, -509C/T полиморфизмът в *TGFB1* гена влияе върху генетичното предразположение към СЛЕ и клиничните изяви на заболяването в българската популация, което го определя като един от генетичните фактори, допринасящи за клиничното разнообразие на заболяването.

Библиография

1. A m i r g h o f r a n, Z. et al. Genetic polymorphism in the transforming growth factor beta1 gene (-509 C/T and -800 G/A) and colorectal cancer. – *Cancer Genet. Cytogenet.*, **190**, 2009, № 1, 21-55.
2. A m i t a l, H. et Y. Shoenfeld. Autoimmunity and autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus. – In: *Systemic Lupus Erythematosus*. R. G. Lahita. (Ed.). Acad. Press N. Y., 1999, 1-11.
3. A w a d, M. R. et al. Genotypic variation in the transforming growth factor-beta1 gene: association with transforming growth factor-beta1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. – *Transplantation*, **66**, 1998, № 8, 1014-1020.
4. B o m b a r d i e r, C. et al. Derivation of the SLEDAI: A disease activity index for lupus patients. – *Arthritis Rheum.*, **35**, 1992, 630-640.
5. B e c k e r-M e r o k A., G., Ø. Eilertsen et J. C. Nossent. Levels of transforming growth factor-beta are low in systemic lupus erythematosus patients with active disease. – *J. Rheumatol.*, **37**, 2010, № 10, 2039-2045.
6. B e r n d t, S. I. et al. Transforming growth factor beta 1 (TGFB1) gene polymorphisms and risk of advanced colorectal adenoma. – *Carcinogenesis*, **28**, 2007, № 9, 1965-1970.
7. C a m b i e n, F. et al. Polymorphisms of the transforming growth factor-beta 1 gene in relation to myocardial infarction and blood pressure. The Etude Cas-Témoign de l'Infarctus du Myocarde (ECTIM) Study. – *Hypertension*, **28**, 1996, № 5, 881-887.
8. C a s e r t a, T. M. et al. Genotypic analysis of the TGF beta-509 allele in patients with systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. – *Ann. Genet.*, **47**, 2004, № 4, 359-363.
9. C h u n g, S. J. et al. Transforming growth factor-[beta]1 -509T reduces risk of colorectal cancer, but not adenoma in Koreans. – *Cancer Sci.*, **98**, 2007, № 3, 401-404.
10. D a n g, H. et al. SLE-like autoantibodies and Sjogren's syndrome-like lymphoproliferation in TGF-beta knockout mice. – *J. Immunol.*, **155**, 1995, № 6, 3205-3212.
11. F a i n a r u, O. et al. TGFbeta-dependent gene expression profile during maturation of dendritic cells. – *Genes. Immun.*, **8**, 2007, № 3, 239-244.
12. G o r e l i k, L. et R. A. Flavell. Abrogation of TGFbeta signaling in T cells leads to spontaneous T cell differentiation and autoimmune disease. – *Immunity*, **12**, 2000, № 2, 171-181.
13. G r a i n g e r, D. J. et J. C. Metcalfe. A pivotal role for TGF-beta in atherogenesis? – *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, **70**, 1995, № 4, 571-596.
14. G r a i n g e r, D. J. et al. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type beta1. – *Hum. Mol. Genet.*, **8**, 1999, № 1, 93-97.
15. G u a r n i z o-Z u c c a r d i, P. et al. Cytokine gene polymorphisms in Colombian patients with systemic lupus erythematosus. – *Tissue Antigens*, **70**, 2007, № 5, 376-382.
16. J i n, T. et al. Decreased Serum Levels of TGF-β1 are associated with Renal Damages in Female Patients with Systemic Lupus Erythematosus. – *Lupus*, 2011.
17. L i, M. O. et al. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. – *Ann. Rev. Immunol.*, 2006, № 24, 99-146.
18. L u, L. Y. et al. Single-nucleotide polymorphisms of transforming growth factor-beta1 gene in Taiwanese patients with systemic lupus erythematosus. – *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, **37**, 2004, № 3, 145-152.
19. M a r i e, J. C., D. Liggitt et A.Y. Rudensky. Cellular mechanisms of fatal early-onset autoimmunity in mice with the T cell-specific targeting of transforming growth factor-beta receptor. – *Immunity*, **25**, 2006, № 3, 441-454.
20. O h t s u k a, K. et al. The relationship between defects in lymphocyte production of transforming growth factor-beta1 in systemic lupus erythematosus and disease activity or severity. – *Lupus*, **8**, 1999, № 2, 90-94.
21. P y z i k, M., C.A. Piccirillo. TGF-beta1 modulates Foxp3 expression and regulatory activity in distinct CD4+ T cell subsets. – *J. Leukoc. Biol.*, **82**, 2007, № 2, 335-346.
22. R u b t s o v, Y. P. et A.Y. Rudensky. TGFbeta signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity. – *Nat. Rev. Immunol.*, **7**, 2007, № 6, 443-453.
23. S a x e n a, V. et al. Dual roles of immunoregulatory cytokine TGF-beta in the pathogenesis of autoimmunity-mediated organ damage. – *J. Immunol.*, **180**, 2008, № 3, 1903-1912.
24. S e l v a r a j, R. K. et T. L. Geiger. A kinetic and dynamic analysis of Foxp3 induced in T cells by TGF-beta. – *J. Immunol.*, **179**, 2007, № 2, 7667-7677.
25. S h u l l, M. M., et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. – *Nature*, **359**, 1992, № 6397, 693-699.
26. S i n g h, R. R., et al. Induction of autoantibody production is limited in nonautoimmune mice. – *J. Immunol.*, **169**, 2002, № 1, 587-594.
27. T a n, E. M. et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. – *Arthritis Rheum.*, 1982, № 25, 1271-1277.
28. W a h l, S. M. Transforming growth factor-beta: innately bipolar. – *Curr. Opin. Immunol.*, **19**, 2007, № 1, 55-62.
29. W a n g, B. et al. Transforming growth factor beta 1 gene polymorphism in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. – *Kobe J. Med. Sci.*, **53**, 2007, № 1-2, 15-23.
30. W u, G. Y. et al. Association between EGF, TGF-beta1, VEGF gene polymorphism and colorectal cancer. – *World J. Surg.*, **33**, 2009, № 1, 124-129.
31. Z h a n g, Y. et al. Genetic polymorphisms of transforming growth factor-beta1 and its receptors and colorectal cancer susceptibility: a population-based case-control study in China. – *Cancer Lett.*, **275**, 2009, № 1, 102-108.
32. Z h e n g, S. G. et al. IL-2 is essential for TGF-beta to convert naive CD4+CD25- cells to CD25+Foxp3+ regulatory T cells and for expansion of these cells. – *J. Immunol.*, **178**, 2007, № 4, 2018-2027.

Постъпила за печат на 28 март 2012 г.

✉ Адрес за кореспонденция:
Доц. д-р Ирена Манолова
Катедра по здравни грижи
Медицински факултет, Тракийски университет
ул. „Армейска“ № 11
6003 Стара Загора
☎ 042 664 461

✉ Address for correspondence:
Assoc. prof. Irena Manolova, M.D., PhD.
Department "Health Care"
Medical Faculty, Trakia University
11, Armeiska Str.
Bg – 6003 Stara Zagora
☎ 359 42 664 461