



УДК 616.98:578/579:575.113:548.33-053.5

АБАТУРОВ О.Є.<sup>1</sup>, ГЕРАСИМЕНКО О.М.<sup>1</sup>, ШЛИКОВА О.А.<sup>2</sup>, КАЙДАШЕВ І.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпропетровськ

<sup>2</sup>Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики, м. Полтава

## ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ASP299GLY ГЕНА ТОЛ-ПОДІБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 В ДІТЕЙ ІЗ ХЕЛІКОБАКТЕРНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

**Резюме.** Метою дослідження було визначення особливостей хелікобактерної інфекції у дітей із поліморфізмом ASP299GLY гена тол-подібного рецептора 4 (TLR4).

**Методи.** Під наглядом була 31 дитина віком від 9 до 17 років із хронічною гастродуоденальною патологією. Група контролю — 95 здорових осіб.

**Результати.** Серед дітей із хронічною гастродуоденальною патологією гетерозиготний генотип Asp/Gly мали 16,13 % дітей, що є вищим за показники групи контролю ( $P = 0,01$ ). Показано, що в дітей із позитивним *H.pylori*-статусом питома вага гетерозиготного генотипу Asp/Gly була вищою, ніж у пацієнтів із *H.pylori*-негативним статусом (17,4 та 12,5 % відповідно; ВШ = 1,48;  $P = 0,75$ ). Серед *H.pylori*-позитивних дітей гетерозиготний генотип Asp/Gly виявлявся частіше в дітей, інфікованих *SagA*-позитивними штамми *H.pylori*, ніж у пацієнтів із *SagA*-негативним статусом ( $P > 0,5$ ). Доведено, що в дітей із генотипом Asp/Gly поліморфізму гена TLR4 відзначалося зниження експресії TLR4 у біоптаті слизової оболонки шлунка й рівня водорозчинного sCD14 при збереженні виражених запальних змін слизової оболонки ( $P_u < 0,05$ ).

**Висновок.** Серед дітей із хронічними запальними гастродуоденальними захворюваннями вірогідно частіше, ніж у групі здорових осіб, зустрічається генотип Asp/Gly SNP Asp299Gly гена TLR4. Наявність у дітей генотипу Asp/Gly зумовлює схильність до інфікування *H.pylori*.

**Ключові слова:** хелікобактерна інфекція, поліморфізм ASP299GLY гена TLR4, діти.

### Вступ

*Helicobacter pylori* (*H.pylori*) є визнаним збудником захворювань шлунка і викликає одну з найпоширеніших бактеріальних інфекцій людини у всьому світі. Хелікобактерна інфекція викликає імунні і запальні відповіді практично у всіх інфікованих осіб, але вираженість запалення залежить від взаємодії багатьох чинників, перш за все таких як вірулентність бактерій, генетичні детермінанти макроорганізму, особливості імунної відповіді, а також фактори навколишнього середовища [3, 7]. Крім бактеріальних факторів патогенності на прояви хелікобактерної інфекції також впливає імунна відповідь макроорганізму.

Характер перебігу запальної відповіді та специфічних імунологічних реакцій залежить від відмінності в генах, які контролюють захисні реакції організму, насамперед генів регуляторних молекул, що забезпечують перші етапи розвитку запальної реак-

ції: розпізнавання патогену, активація внутрішньоклітинного шляху збудження і синтез медіаторів запалення.

Найбільш частою причиною відмінностей у структурі генів є точкові мутації — заміни одиничних нуклеотидів, або поліморфізм одиничних нуклеотидів (single-nucleotide polymorphism — SNP).

Дослідниками доведено, що саме SNP за рахунок формування специфічних алелей генів роблять важливий внесок у фенотипічні відмінності між людьми, у тому числі в індивідуальні особливості розвитку захисних реакцій, а також схильність до цілого ряду захворювань. Більшість виявлених SNP-замін частіше торкаються 5- або 3-кінцевих регуляторних

© Абатуров О.Є., Герасименко О.М., Шликова О.А., Кайдашев І.П., 2013

© «Здоров'я дитини», 2013

© Заславський О.Ю., 2013

ділянок генів, насамперед ділянки промотора, або розташовуються в некодуючих ділянках (інтрон) і не відображаються на амінокислотній послідовності трансльованого білка. Однак частина з них може впливати на швидкість транскрипції генів, стабільність мРНК і, тим самим, приводити до збільшення або зменшення кількості та рівня біологічної активності синтезованого пептиду [3, 6, 10, 11].

Особливий інтерес на сучасному етапі становлять дані щодо впливу поліморфізму генів, відповідальних за розпізнавання патогену і запуск сигнальних шляхів на початкових етапах запалення, на характер перебігу захисних реакцій дитини та схильність до ряду захворювань. Значною мірою ця варіабельність обумовлена поліморфізмом генів, що детермінують елементи вродженого й адаптивного імунітету, до яких відносяться компоненти сигнальної трансдукції [7, 13].

Сигнальні трансмембранні тол-подібні рецептори (Toll-like receptor — TLR) займають центральне місце в багаторівневій системі розпізнавання консервативних молекулярних структур мікроорганізмів, які були названі патоген-асоційованими молекулярними структурами (pathogen-associated molecular patterns — PAMP). Найбільш відомими PAMP грамнегативних бактерій є структурні компоненти зовнішньої мембрани — ліпополісахариди (LPS). Збудження TLR PAMP призводить до активації декількох груп генів, що беруть участь у регуляції запалення, механізмів захисту від інфекційних агентів. Особливу роль у розвитку інфекційно-запального процесу, викликаного *H.pylori*, відіграє образрозпізнаючий рецептор, такий як TLR4.

Продукція прозапальних цитокінів, хемокінів, активних радикалів кисню та азоту при хелікобактерній інфекції асоційована з дією ліпополісахаридів (LPS) *H.pylori*, які є потужними медіаторами запального процесу слизової оболонки шлунка і зумовлюють перебіг захворювання. Спочатку в екстрацелюлярному просторі LPS зв'язується з ліпополісахаридзв'язуючим білком (LBP), який функціонує як опсонін для солютабного CD14 (sCD14). Комплекс LPS-LBP транспортується до мембранозв'язаного CD14 (mCD14) для активації сигнального шляху. Оскільки mCD14 не має внутрішньоклітинного сигнального домену, то клітинна відповідь на LPS залежить від трансмембранного TLR4. LBP каталізує зв'язування LPS із протеїном MD-2. У подальшому каскаді молекулярних подій комплекс LPS/MD-2 взаємодіє з TLR4, викликаючи його димеризацію, збудження і запуск внутрішньоклітинних молекулярних шляхів, активацію таких факторів транскрипції, як ядерний фактор κВ (NF-κВ), активуючий протеїн 1 (AP-1), інтерферон-регулюючі фактори (IRF), транслокація яких у ядро клітини і взаємодія зі специфічними елементами ДНК обумовлює посилення активності експресії великої сукупності генів, що беруть участь в організації запальної відповіді, призводячи до продукції прозапальних цитокінів, хемокінів,

активованих кисневмісних метаболітів та активних радикалів азоту, формуючи Th<sub>1</sub>-відповідь. Збудження TLR4 призводить до цитодиференціювання Th<sub>1</sub>-клітин, обумовлюючи розвиток макрофагально-нейтрофільного запалення [1, 2, 9].

Таким чином, інтегральними складовими вродженої імунної відповіді на інфекцію *H.pylori* є CD14, LBP, TLR4 і NF-κВ.

Активовані рецептори сімейства TLR запускають каскад адапторних і сигнальних молекул, що призводить до індукції вродженого й адаптивного імунітету. Активація TLRs призводить не тільки до індукції запальної реакції, але й до розвитку антиген-специфічного адаптивного імунітету. TLR регулюють активацію вродженого імунітету, забезпечують взаємозв'язок з адаптивним імунітетом через антиген-презентуючі клітини. Адекватна TLR-асоційована відповідь організму обумовлює ефективну ерадикацію *Helicobacter pylori*, запобігання розвитку хвороби, а в разі захворювання — видужання пацієнта. Однак дефіцитне збудження рецепторів при взаємодії з лігандами може стати основною причиною хронізації запалення, а надмірне — зумовити розвиток гострої системної запальної відповіді або виникнення автоімунного процесу [1, 8].

Аналіз структури гена TLR4 людини виявив 29 різних SNP, із яких більшість розташовані в позаклітинних доменах, що забезпечують розпізнавання LPS, однак тільки два з них пов'язані зі зміною функції відповіді на LPS, насамперед SNP Asp299Gly. Мутація AG в позиції +896 гена, який кодує TLR4, призводить до заміни аспарагіну на гліцин у положенні амінокислоти 299 (Asp299Gly), змінюючи структуру позаклітинного домену TLR4.

**Мета дослідження** — визначення особливостей хелікобактерної інфекції у дітей із поліморфізмом ASP299GLY гена *TLR4*.

## Матеріал і методи

Під наглядом була 31 дитина (21 хлопчик та 10 дівчаток) віком від 9 до 17 років із хронічною гастродуоденальною патологією (ХГДП), які проходили обстеження та лікування в умовах гастроентерологічного відділення Комунального закладу «Дніпропетровська міська дитяча клінічна лікарня № 1» Дніпропетровської ОДА. Пацієнти були розподілені на дві групи залежно від наявності гетерозиготного варіанта поліморфізму ASP299GLY гена *TLR4* — генотипу (Asp/Gly) та «дикого», нормального генотипу (Asp/Asp) гена *TLR4*. Групу контролю становили 95 практично здорових осіб із бази генетичних зразків НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «УМСА».

На участь у науковому дослідженні, яке проводили з дозволу локальної комісії з біоетики ДЗ «ДМА МОЗ України», було отримано інформовану згоду батьків пацієнтів.

**Методи дослідження:** клініко-анамнестичні дані; загальні параклінічні методи дослідження;

фіброезофагогастроуденоскопія за загально-прийнятною методикою з узяттям біоптатів (2) слизової оболонки антрального відділу шлунка. Для ідентифікації *H. pylori*-інфекції використовували: швидкий уреазний «Хелпіл»-тест та дихальний «Хелік»-тест (ТОВ «АМА», Росія, Санкт-Петербург); визначення в сироватці венозної крові сумарних імуноглобулінів (IgM, IgA, IgG) до Ag CagA білка *H. pylori* методом імуноферментного аналізу («Вектор-Бест», Росія).

Визначення поліморфізму гена *TLR4* Asp299Gly проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в НДІ генетичних та імунних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «УМСА» (м. Полтава). Матеріалом для дослідження була периферійна венозна кров. Геномну ДНК виділяли за допомогою комплексу для виділення ДНК/РНК із сироватки або плазми крові («ЛитТех», Росія). Поліморфну ділянку Asp299Gly гена *TLR4* ампліфікували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в 25 мкл реакційної суміші, що містила: 2,5 мкл 10 × Буф для ампліфікації; 2 мМ хлориду магнію; 0,2 мМ кожного dNTP; по 66 нг праймерів для Asp299Gly: F: 5'-GATTAGCATACTTAGACTACTA CCTCCATG-3', R: 5'-GATCAACTTCTGAAAAG CATCCAC-3'; 2,5 од. ДНК-полімерази Tag; 20–50 нг геномної ДНК.

У пробірки нашаровували 25 мкл мінерального масла. Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технология», Москва). Для ідентифікації алелей проводили рестрикційний аналіз ампліконів за допомогою ендонуклеази рестрикції Bsp19 I («СибЭнзим», Росія). У результаті рестрикції були отримані фрагменти розміром 263 bp та 222 bp. Продукти розщеплення поліморфної ділянки гена виявляли за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі в 1 × ТВЕ (50 мМ трис-Н<sub>3</sub>ВО<sub>3</sub> та 2 мМ ЕДТА, рН 8.0) (протягом 2 годин при напрузі 2 V на 1 см гелю). Як маркер молекулярної ваги ДНК використовували pBR322/Alu I. Гелі забарвлювали етидіумом бромідом із наступною візуалізацією результатів в УФ-освітленні.

Рівень експресії гена *TLR4* визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реального часу в НДІ генетичних та імунних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «УМСА». Виділення загальної РНК з клітин слизової оболонки шлунка (СОШ) проводили за допомогою комплексу реагентів «РИБО-золь-В» (AmpliSens, Росія). Для отримання кДНК в реакції оберненої транскрипції використовували праймер оліго(dT)<sub>18</sub>. Аналізували експресію гена *TLR4* методом ПЛР у реальному часі при наявності барвника SYBR Green I, шляхом відносного кількісного аналізу. Як референтний ген використовували ген β-актину. Для аналізу даних застосовували відносний С<sub>р</sub>-метод із розрахунком за формулою  $\Delta C_p = C_p(TLR4) - C_p(\beta\text{-актину})$ .

Рівень NF-κB<sup>+</sup> серед лімфоцитів (%) та максимальний рівень експресії NF-κB<sup>+</sup> визначали з вико-

ристанням відповідних моноклональних антитіл за допомогою проточної цитофлюорометрії в НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «УМСА».

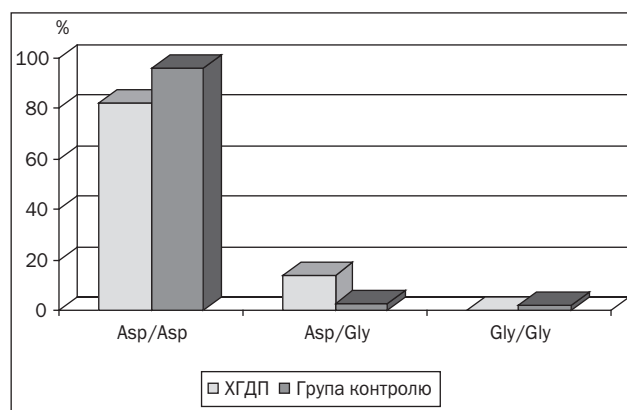
Метод твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) застосовували для оцінки концентрації в сироватці крові sCD14, використовуючи ELISA test kit (Diacclone, Франція) (лабораторія «Діагностичний центр медичної академії», м. Дніпропетровськ).

Статистичну обробку отриманих результатів проведено за допомогою пакетів комп'ютерних статистичних програм Statgraf, Matstat, Statistica 6.0. Вірогідність розбіжностей при розподілі, відмінному від нормального, оцінювалася за допомогою критерію Манна — Уїтні. Оцінку впливу частоти варіантів генотипів поліморфізму проводили за допомогою розрахунку епідеміологічних показників — відносного ризику (ВР) та відношення шансів (ВШ) із визначенням 95% довірчого інтервалу (ДІ). Статистично значущими вважали відмінності при  $p < 0,05$ ;

## Результати та обговорення

Проведені молекулярно-генетичні дослідження показали, що серед здорових осіб 96,85 % (92) мали нормальний варіант (Asp/Asp) гена *TLR4*, гетерозиготний варіант за алеллю Gly поліморфізму гена *TLR4* (Asp299Gly) — генотип Asp/Gly виявлено у 2,1 % (2) осіб, в 1,05 % (1) — гомозиготний генотип Gly/Gly (рис. 1).

Серед дітей із хронічною гастродуоденальною патологією 83,87 % (26) мали «дикий» генотип Asp/Asp, що вірогідно не відрізняється від групи контролю (ВР = 0,86; ВШ = 0,11; P = 0,01). Гетерозиготний генотип Asp/Gly мали 16,13 % (5) дітей, що свідчить про високий ризик наявності такого варіанта несинонімічного нуклеотидного поліморфізму гена *TLR4* в дітей, хворих на хронічні запальні гастродуоденальні захворювання (ВР = 7,92; ВШ = 8,85; P = 0,01). Пацієнти з гомозиготним генотипом за алеллю Gly не виявлені. Можливо, це пов'язано з



**Рисунок 1. Частота генотипів гена *TLR4* та поліморфізму Asp299Gly гена *TLR4* серед дітей із хронічною гастродуоденальною патологією і здорових осіб**

невеликою групою досліджених або свідчить про певне захисне значення наявності такого генотипу в геномі людини і може розглядатися як один із факторів стійкості до розвитку хронічного запалення шлунка. S.B. Moua і співавт. [13] також відмічали низьку частоту зустрічальності генотипу Gly/Gly у хворих на хронічні гастрити дітей (0,6–1,6 %), а в досліджених дітей із наявністю дуоденальної виразки даний варіант нуклеотидного поліморфізму гена *TLR4* не виділявся в жодного пацієнта.

Нами проведено аналіз розподілу варіантів SNP Asp299Gly гена *TLR4* у дітей залежно від *H.pylori*-статусу. Так, при порівнянні в дітей із позитивним *H.pylori*-статусом питома вага гетерозиготного генотипу Asp/Gly була вищою, ніж у пацієнтів із *H.pylori*-негативним статусом (17,4 та 12,5 % відповідно,  $BP = 1,39$ ;  $ВШ = 1,48$ ;  $95\% \text{ ДІ } 1,15\text{--}1,89$ ;  $P = 0,75$ ), що свідчить про тенденцію до зростання ризику інфікування *H.pylori* в дітей, які мали мутантний генотип Asp/Gly (рис. 2).

«Дикий» генотип майже с однаковою частотою виявлявся в обох групах і не залежав від *H.pylori*-статусу (82,6 та 87,5 % відповідно). Мутантний алель Gly також частіше рееструвався в групі дітей із позитивним *H.pylori*-статусом, ніж із негативним (8,7 та 6,25 % відповідно).

Отримані результати вказують на важливу роль генотипу Asp/Gly в розвитку захворювань, викликаних грамнегативними бактеріями, зокрема *H.pylori*, оскільки виявлена висока частота алелі G та генотипу Asp/Gly серед пацієнтів із хелікобактер-асоційованою хронічною гастродуоденальною патологією.

Найбільш вивченим фактором патогенності *H.pylori* є «острівець» патогенності генів (Cag-PAI), вбудований у геном найбільш вірулентних штамів *H.pylori*, та його маркер цитотоксин-асоційований ген A (cytotoxic-associated gene) — CagA. CagA є одним із найбільш відомих маркерів для cag PAI і предиктором патогенності *H.pylori* [12]. У зв'язку з чим нами проаналізовано наявність генотипу та алелей SNP поліморфізму (Asp299Gly) гена *TLR4*

в дітей, інфікованих CagA-позитивними та CagA-негативними штамми *H.pylori*.

Серед *H.pylori*-позитивних дітей CagA-позитивний штам був виявлений у 95,65 % дітей і лише в 4,35 % — CagA-негативний. Частота «дикого» генотипу Asp/Asp домінувала в обох групах дітей, інфікованих як CagA-позитивними, так і CagA-негативними штамми. Гетерозиготний SNP Asp299Gly гена *TLR4* (генотип Asp/Gly) виявлявся частіше в дітей, інфікованих CagA-позитивними штамми *H.pylori* (17,4 %), ніж у пацієнтів із CagA-негативним статусом ( $BP = 1,07$ ;  $P = 0,87$ ;  $ВШ = 0,73$ ;  $95\% \text{ ДІ } 0,05\text{--}21,06$ ;  $P = 0,85$ ;  $\chi^2 = 0,70$ ;  $P = 0,40$ ), але відмінності були статистично незначущими.

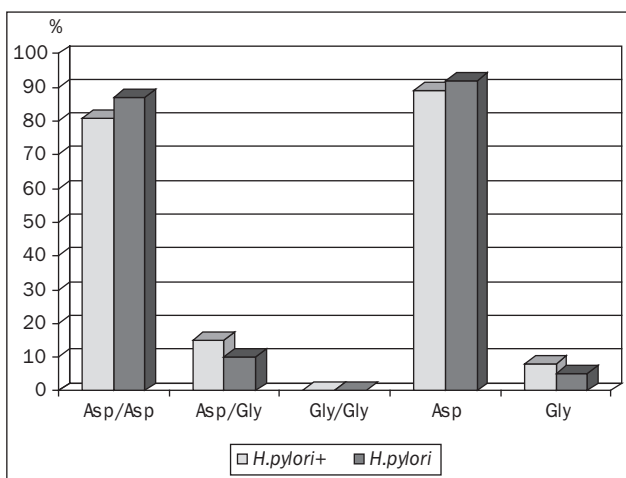
Проаналізовано особливості експресії образрозпізнаючого рецептора *TLR4* у біоптаті слизової оболонки шлунка та ядерного фактора kB (NF- $\kappa$ B<sup>+</sup>) на лімфоцитах, рівня концентрації *TLR4*-аксесуарної молекули розчинного CD14 (sCD14) у сироватці крові залежно від SNP Asp299Gly гена *TLR4*.

Рівень експресії *TLR4* у біоптаті СОШ дітей із гетерозиготним Asp/Gly варіантом SNP Asp299Gly був вірогідно нижчим, ніж із генотипом Asp/Asp, та становив відповідно  $0,57 \pm 0,06$  і  $1,10 \pm 0,09$  ( $P_u < 0,05$ ).

Глікопротеїн CD14 — розчинна форма, локалізований у плазмі і забезпечує взаємодію LPS *H.pylori* з немієлоїдними клітинами (зокрема, епітеліоцитами СОШ). При порівнянні показників рівня концентрації розчинного sCD14 відмічена їх вірогідна відмінність у групах залежно від варіанта SNP Asp299Gly гена *TLR4*. Так, у пацієнтів із генотипом Asp/Gly рееструвалися більш низькі рівні концентрації sCD14, ніж у дітей із «диким» генотипом Asp/Asp ( $2669,20 \pm 506,66$  нг/мл та  $3239,46 \pm 251,74$  нг/мл;  $P_u < 0,05$ ).

Максимальний рівень експресії ядерного фактора NF- $\kappa$ B<sup>+</sup> на лімфоцитах був вищим у дітей із генотипом Asp/Gly, ніж із варіантом Asp/Asp, але отримані дані були вірогідно не значущими (відповідно  $0,73 \pm 0,08$  та  $0,67 \pm 0,03$ ;  $P_u > 0,05$ ).

Узагальнюючи вищевведені результати, необхідно зазначити, що в дітей із генотипом Asp/Gly SNP Asp299Gly гена *TLR4* відзначалося зниження експресії *TLR4* у біоптаті СОШ і рівня водорозчинного sCD14 при збереженні виражених запальних змін слизової оболонки. В умовах низької концентрації sCD14 LPS *H.pylori* взаємодіє з mCD14, що в подальшому призводить до утворення комплексу LPS/*TLR4*/MD2 і збудження прозапальних внутрішньоклітинних шляхів, насамперед активації ядерного фактора NF- $\kappa$ B<sup>+</sup>. Наявність у дітей гетерозиготного варіанта SNP Asp299Gly гена *TLR4* (генотип Asp/Gly), імовірно, обумовлює порушення експресії *TLR4* у біоптаті СОШ, продукції водорозчинного sCD14 і сприяє інвазії *H.pylori*. Також можна припустити, що запуск запального процесу здійснюється через активацію й інших внутрішньоклітинних молекулярних шляхів, можливо, NOD-асоційованих.



**Рисунок 2. Частота генотипу та алелей SNP Asp299Gly гена *TLR4* у дітей залежно від *H.pylori*-статусу**

## Висновки

1. Серед дітей із хронічними запальними гастро-дуоденальними захворюваннями вірогідно частіше, ніж у групі здорових осіб, зустрічається генотип Asp/Gly SNP Asp299Gly гена TLR4.

2. Наявність у дітей генотипу Asp/Gly SNP Asp299Gly гена TLR4 зумовлює схильність до інфікування *H. pylori*.

## Список літератури

1. Абатуров А.Е., Волосовец А.П., Юлиш Е.И. Инициация воспалительного процесса при вирусных и бактериальных заболеваниях, возможности и перспективы медикаментозного управления. — Харьков: Новое слово, 2011. — 344 с.
2. Абатуров О.Е., Герасименко О.М. Модуляция активности TLR4 эпителиоцитов слизистой оболочки желудка при хеликобактерной инфекции // Современная педиатрия. — 2009. — № 6(28). — С. 141-146.
3. Роль поліморфізму Toll-подібного рецептора 4 ASP299GLY у розвитку бактеріальних інфекцій, що передаються статевим шляхом / Ізмайлова О.В., Шликова О.А., Боброва Н.О., Кайдашев І.П. // Проблеми екології та медицини. — 2009 — Т. 13, № 5-6. — С. 3-6.
4. Amieva M.R., El-Omar E. Host bacterial interaction in *Helicobacter pylori* infection // Gastroenterology. — 2008. — V. 134, Issue 1. — P. 306-323.
5. Backert S., Selbach M. Role of type IV secretion in *Helicobacter pylori* pathogenesis // Cell. Microbiol. — 2008. — V. 10(8). — P. 1573-81.

6. Collins F., McKusick V. Implication of the Human Genome Project for medical science // JAMA. — 2001. — Vol. 285. — P. 540-544.

7. El-Omar E.M., Ng M.T., Hold G.L. Polymorphisms in Toll-like receptor genes and risk of cancer // Oncogene. — 2008. — V. 27. — P. 244-252.

8. Gastrointestinal symptoms and *Helicobacter pylori* infection in school-age children residing in Porto Torres, Sardinia, Italy / Maria P. Dore, Giuseppe Fanciulli, David Y. Graham, Giuseppe Realdi, Paolo A. Tomasi, Giuseppe Delitala, Hoda M. Malaty // Helicobacter. — 2012. — V. 17(5). — P. 369-73.

9. Host innate immune receptors and beyond: making sense of microbial infections / Ishii K.J., Koyama S., Nakagawa A., Coban C., Akira S. // Cell Host Microbe. — 2008. — V. 3, № 6. — P. 352-63.

10. Initial sequencing and analysis of the human genome / Lander E.S., Linton L.M., Birren B. et al. // Nature. — 2001. — Vol. 409. — P. 860-921.

11. Masood E. As consortium plans free SNP map of human genome // Nature. — 1999. — Vol. 398. — P. 545-546.

12. Tegtmeyer Nicole, Wessler Silja, Backert Steffen. Role of the cag pathogenicity island encoded type IV secretion system in *Helicobacter pylori* pathogenesis // FEBS J. — 2011. — V. 278(8). — P. 1190-1202.

13. Toll-like receptor (TLR2, TLR4 and TLR5) gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection in children with and without duodenal ulcer / Moura S.B., Almeida L.R., Guerra J.B., Rocha G.A., Camargos Rocha A.M., Melo F.F., Corrêa-Oliveira R., Bittencourt P., Carvalho S.D., Magalhães Queiroz D.M. // Microbes Infect. — 2008. — V. 14-15. — P. 1477-83.

Отримано 30.06.13 □

Абатуров А.Е.<sup>1</sup>, Герасименко О.Н.<sup>1</sup>, Шликова О.А.<sup>2</sup>, Кайдашев І.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»

<sup>2</sup>НИИ генетических и иммунологических основ развития патологии и фармакогенетики, Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

### ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ASP299GLY ГЕНА ТОЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 У ДЕТЕЙ С ХЕЛИКОБАКТЕРНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

**Целью исследования** было определение особенностей хеликобактерной инфекции у детей с полиморфизмом ASP299GLY гена толл-подобного рецептора 4 (TLR4).

**Методы.** Под наблюдением находился 31 ребенок в возрасте от 9 до 17 лет с хронической гастродуоденальной патологией. Группа контроля — 95 здоровых лиц.

**Результаты.** Среди детей с хронической гастродуоденальной патологией гетерозиготный генотип Asp/Gly имели 16,13 % детей, что превышает показатели в группе контроля ( $P = 0,01$ ). Показано, что у детей с положительным *H. pylori*-статусом частота гетерозиготного генотипа Asp/Gly была выше, чем у пациентов с *H. pylori*-отрицательным статусом (17,4 и 12,5 % соответственно;  $ОШ = 1,48$ ;  $P = 0,75$ ). Среди *H. pylori*-положительных детей гетерозиготный генотип Asp/Gly регистрировался чаще у детей, инфицированных CagA-положительными штаммами *H. pylori*, чем у пациентов с CagA-отрицательным статусом ( $P > 0,5$ ). Доказано, что у детей с генотипом Asp/Gly полиморфизма гена TLR4 отмечалось снижение экспрессии TLR4 в биоптате слизистой оболочки желудка и уровня водорастворимого sCD14 при сохранении выраженных воспалительных изменений слизистой оболочки ( $P_u < 0,05$ ).

**Заключение.** Среди детей с хроническими воспалительными гастродуоденальными заболеваниями достоверно чаще, чем в группе здоровых лиц, встречается генотип Asp/Gly SNP Asp299Gly гена TLR4. Наличие у детей генотипа Asp/Gly обуславливает предрасположенность к инфицированию *H. pylori*.

**Ключевые слова:** хеликобактерная инфекция, полиморфизм ASP299GLY гена TLR4, дети.

Abaturov O.Ye.<sup>1</sup>, Gerasymenko O.M.<sup>1</sup>, Shlykova O.A.<sup>2</sup>, Kaidashev I.P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>State Institution «Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Public Health of Ukraine», Dnipropetrovsk

<sup>2</sup>Research Institute of Genetic and Immunological Basis for the Development of Pathology and Pharmacogenetics of Higher State Educational Institution of Ukraine «Ukrainian Medical Stomatological Academy», Poltava, Ukraine

### GENETIC POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 ASP299GLY GENE POLYMORPHISM IN CHILDREN WITH HELICOBACTER PYLORI INFECTION

**Summary.** The objective of the study was to determine the characteristics of *H. pylori* infection in children with Toll-like receptor 4 (TLR4) ASP299GLY gene polymorphism.

**Methods.** 31 children aged 9 to 17 years with chronic gastroduodenal pathology were observed. The control group included 95 healthy individuals.

**Results.** Among children with chronic gastroduodenal pathology, 16.13 % had heterozygous genotype Asp/Gly, which is higher than in the control group ( $P = 0.01$ ). It was shown that in *H. pylori* positive children the frequency of the heterozygous genotype Asp/Gly was higher than in *H. pylori* negative patients (17.4 and 12.5 %, respectively,  $OR = 1.48$ ;  $P = 0.75$ ). Among *H. pylori* positive children heterozygous genotype Asp/Gly was detected more frequently in children infected with CagA-positive strains of *H. pylori*, compared to patients with CagA-negative status ( $P > 0.5$ ). It is proved that in children with TLR4 ASP299GLY gene polymorphism a decrease in the expression of TLR4 in biopsy sample of the gastric mucosa and water-soluble sCD14 levels was observed, together with prominent inflammatory mucosal changes ( $P_u < 0.05$ ).

**Conclusion.** Among children with chronic inflammatory gastroduodenal diseases, genotype Asp/Gly SNP Asp299Gly of the gene TLR4 is observed significantly higher than in healthy population. Presence of genotype Asp/Gly in children predisposes to contamination with *H. pylori*.

**Key words:** *Helicobacter pylori* infection, TLR4 ASP299GLY gene polymorphism, children.