

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РИСКА

УДК 613.6: 502.3: 616.097
DOI: 10.21668/health.risk/2022.4.16



Научная статья

РИСК ФОРМИРОВАНИЯ АЛЛЕРГИИ И ЕЕ ИММУННЫЕ ФЕНОТИПЫ У ДЕТЕЙ С ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНА *MMP9 Q279R*

К.Г. Старкова¹, О.В. Долгих¹, Т.А. Легостаева¹, В.М. Ухабов²

¹Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, 614045, Россия, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

²Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, 614990, Россия, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26

Исследования с применением современных молекулярно-генетических методов, направленных на выявление индивидуальной генетической вариабельности в контексте развития аллергопатологии, представляются важным этапом реализации программ по раннему выявлению и минимизации риска формирования аллергии.

*Выявлены особенности иммунной регуляции, ассоциированные с полиморфизмом гена *MMP9 Q279R* (rs17576) и контаминацией биосред бензолом, у детей с аллергическими заболеваниями.*

Обследованы 33 ребенка с аллергопатологией. Группу сравнения составили 40 относительно здоровых детей. CD-маркеры определялись методом проточной цитометрии. Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

*Результаты исследования показали, что на фоне повышенного уровня контаминации биосред бензолом наблюдается избыточное содержание IgE общего, IL-4 и TNF- α (в 1,2–4,2 раза) в группе детей с аллергопатологией относительно группы сравнения ($p = 0,006–0,03$). Полиморфизм гена *MMP9 Q279R* у детей группы наблюдения отличался достоверным повышением частоты генотипов GG AG в 1,7 раза относительно соответствующих данных группы сравнения, что позволяет рассматривать аллель G гена *MMP9* в качестве маркера чувствительности у детей с аллергопатологией ($OR = 2,34$; 95 % CI = 1,17–4,65). Установлено возрастание IgE общего в 2,8 раза, повышение экспрессии IL-4 и TNF- α в 1,4 и 1,3 раза соответственно у носителей вариантного аллеля G относительно обладателей гомозиготного генотипа AA в группе детей с аллергопатологией ($p = 0,020–0,042$). Логистический регрессионный анализ выявил адекватность доминантной модели ($p = 0,01$) и показал возможную ассоциацию носительства генотипов AG и GG *Q279R* полиморфизма гена *MMP9* с развитием аллергии ($OR = 3,61$; 95 % CI = 1,34–9,71).*

*Риск формирования аллергии, сопряженной с контаминацией биосред бензолом и полиморфизмом гена матриксной металлопротеиназы *MMP9* (rs17576), у обладателей аллеля G увеличивается в 2,1 раза по сравнению с носителями AA-генотипа ($RR = 2,08$; 95 % CI = 1,13–3,83), что позволяет рассматривать аллель G гена *MMP9 Q279R* в качестве маркера чувствительности у детей с аллергопатологией.*

Ключевые слова: генетический полиморфизм, *MMP9 Q279R*, маркеры гиперчувствительности, полимеразная цепная реакция, доминантная модель, CD-маркеры, риск формирования аллергии, IL-4, TNF- α .

С начала XX в. распространенность аллергопатологии постоянно растет, так что показатели сенсибилизации к одному или нескольким распространенным аллергенам среди населения во всем

мире в настоящее время приближаются к 40–50 %. Аллергические (атопические) заболевания возникают в результате взаимодействия между индивидуальной генетической предрасположенностью и

© Старкова К.Г., Долгих О.В., Легостаева Т.А., Ухабов В.М., 2022

Старкова Ксения Геннадьевна – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией иммунологии и аллергологии (e-mail: skg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5162-9234>).

Долгих Олег Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом иммунобиологических методов диагностики (e-mail: oleg@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4860-3145>).

Легостаева Татьяна Андреевна – врач клинической лабораторной диагностики (e-mail: ms.legota@mail.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1368-9703>).

Ухабов Виктор Максимович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей гигиены (e-mail: arbuzov@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 235-11-35; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6316-7850>).

воздействием факторов окружающей среды, которое способствовало резкому росту этой тенденции за последние пять десятилетий. Применение близнецового метода показало, что генетический вклад в аллергические заболевания составляет около 50 % с оценкой наследуемости в 33–95 % [1, 2]. Поэтому научные исследования с использованием современных молекулярно-генетических методов, направленных на выявление индивидуальной генетической вариабельности в контексте развития аллергопатологии, представляются важным этапом реализации программ по раннему выявлению и предотвращению риска развития данной группы заболеваний [3, 4].

Матриксные металлопротеиназы относятся к семейству цинк-зависимых эндопептидаз, которые играют важную роль в процессах тканевого ремоделирования и деградации различных белков во внеклеточном матриксе, способны воздействовать на биологически активные молекулы и регулировать клеточные и сигнальные пути как при нормальных физиологических условиях, так и при патологических процессах. Желатиназа В (*MMP-9*) является основным участником протеолитической деградации внеклеточного матрикса, а также множества нематриксных белков, модулируя эмбриональный рост и развитие, ангиогенез, сосудистые заболевания, воспаление, инфекционные процессы, опухолевую прогрессию, различные аспекты иммунного ответа, апоптоз, клеточную пролиферацию, дифференцировку и миграцию иммунных клеток, высвобождая цитокины и факторы роста [5, 6]. Высокая степень полиморфности генов матриксных металлопротеиназ и носительство различных аллельных вариантов, определяющих уровень ферментативной активности, а также внешние факторы, способствующие реализации наследственной информации (например, ароматические углеводороды), могут рассматриваться в качестве потенциальных участников патологических процессов, в том числе и аллергических (атопических) заболеваний [7, 8].

Цель исследования – выявить особенности иммунной регуляции, ассоциированной с *Q279R* полиморфизмом гена *MMP9* (rs17576) и контаминацией биосред бензолом, у детей с аллергическими заболеваниями.

Материалы и методы. Проведено обследование детского населения школьного возраста, проживающего в Уральском регионе, группу наблюдения составили 33 ребенка (средний возраст $12,0 \pm 0,5$ г.; 15 мальчиков и 18 девочек) с диагнозами атопического дерматита, аллергического контактного дерматита, аллергического ринита, астмы с преобладанием аллергического компонента. В группу сравнения вошли 40 относительно здоровых детей (средний возраст $12,8 \pm 0,45$ г.; 13 мальчиков и 27 девочек). Группы были сопоставимы по полу, возрасту, этнической принадлежности ($p < 0,05$).

Все законные представители обследованных детей подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (пересмотр 2013 г.) и одобрено этическим комитетом ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения».

Присутствие ароматических углеводородов (бензол) в биосредах детей определяли газохроматографическим методом на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором «Кристалл 5000» (Россия). Соотношение основных популяций лейкоцитов определяли на гематологическом анализаторе Drew-3 (США). Фракции лимфоцитов по мембранным CD-маркерам определяли на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) на панелях меченых моноклональных антител с помощью универсальной программы CellQuestPro, суммарно регистрируя не менее 10 тысяч событий. Уровни IgE общего, интерлейкинов (IL-1 β , IL-6, IL-4, IL-10), интерферона-гамма (IFN- γ), фактора некроза опухоли (TNF- α) определяли иммуноферментным методом на анализаторе ELx808IU (BioTek, США) с помощью коммерческих тест-систем («Вектор-Бест», «Хема», Россия) согласно методике производителя.

Полученные данные анализировали с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США). Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$) или количества (%). Достоверность различий между группами определяли по средним значениям согласно *t*-критерию Стьюдента, различия считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Биоматериал для генетического анализа получали со слизистой оболочкой ротоглотки, ДНК выделяли сорбентным методом. Полиморфизм матриксной металлопротеиназы-9 *MMP9 Q279R* (rs17576) определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на термоциклере CFX96 (Bio-Rad, США) с применением наборов «SNP-скрин» («Синтол», Россия). Полученные данные обрабатывали с помощью программы «Ген Эксперт», частоты генотипов рассчитывали по равновесию Харди – Вайнберга. Достоверность межгрупповых различий определяли по критерию хи-квадрат (χ^2) при уровне значимости $p < 0,05$, данные по частотам аллелей анализировали методом логистического регрессионного анализа с расчетом отношения шансов *OR* (odds ratio) и 95%-ного доверительного интервала (95 % *CI*), а также относительно риска *RR* (relative risk) и 95%-ного доверительного интервала (95 % *CI*).

Исследования проводили в соответствии со стандартами организации и методическими указаниями.

Результаты и их обсуждение. Результаты химико-аналитических исследований позволили уста-

новить повышенный уровень контаминации крови бензолом у детей группы наблюдения, превышающий аналогичные значения в группе сравнения в 2,7 раза (группа наблюдения – $0,000566 \pm 0,00015$ мкг/см³; группа сравнения – $0,000213 \pm 0,00011$ мкг/см³; $p = 0,024$). Выявлен повышенный уровень специфической чувствительности к бензолу по критерию содержания специфических IgG к бензолу у 78,8 % детей группы наблюдения относительно референтного уровня ($p = 0,000$), который превышал значения показателей группы сравнения в 1,8 раза (группа наблюдения – $0,378 \pm 0,051$ усл. ед.; группа сравнения – $0,208 \pm 0,036$ усл. ед.; референтный уровень $< 0,015$ усл. ед.).

Результаты обследования детей группы наблюдения показали изменение регуляторных иммунных показателей (табл. 1), определяемое соотношением основных популяций иммунокомпетентных клеток при повышении абсолютного количества лейкоцитов в 1,2 раза, эозинофилов – в 1,9 раза и возрастании эозинофильно-лимфоцитарного индекса – в 2,1 раза ($p = 0,002–0,014$). Выявлено повышение популяций CD3⁺- и CD4⁺-лимфоцитов на 15 и 11 % соответственно относительно показателей группы сравнения ($p = 0,032–0,043$).

Отмечено повышение уровня общей сенсибилизации по критерию содержания IgE общего в группе детей с аллергопатологией в 4,2 раза относительно данных группы сравнения ($p = 0,006$). Изменения маркеров цитокиновой иммунной регуляции выявлены по содержанию IL-4 и TNF- α с повышением показателей в среднем в 1,6 и 1,2 раза соответственно ($p = 0,013–0,03$).

Результаты генетического анализа (табл. 2) продемонстрировали особенности распределения аллелей и генотипов Q279R полиморфизма гена MMP9 у детей с аллергическими заболеваниями с повышением частоты вариантного гомозиготного генотипа GG и гетерозиготного генотипа AG в 1,7 раза относительно данных группы сравнения ($p = 0,03$). При этом аллель G Q279R полиморфизма гена MMP9 может рассматриваться в качестве маркера чувствительности и фактора риска развития аллергопатологии у детей ($OR = 2,34$; 95 % $CI = 1,17–4,65$), во время как аллель A выступает в качестве протективного фактора и сопряжен с минимизацией риска формирования аллергии ($OR = 0,43$; 95 % $CI = 0,22–0,85$). Логистический регрессионный анализ выявил адекватность доминантной модели ($p = 0,01$) и показал возможную ассоциацию носительства генотипов AG и GG Q279R полиморфизма гена MMP9 с развитием аллергических заболеваний ($OR = 3,61$; 95 % $CI = 1,34–9,71$). Распределение частот аллелей и генотипов соответствовало равновесию Харди – Вайнберга ($\chi^2 = 0,01–1,16$; $p = 0,28–0,9$).

При оценке генотип-ассоциированных изменений иммунной регуляции в группе наблюдения детей с аллергическими заболеваниями в зависимости от Q279R полиморфного варианта гена MMP9 (табл. 3) выявлено достоверное увеличение относительного количества эозинофилов в 1,6 раза, возрастание маркера сенсибилизации IgE общего в 2,8 раза, повышение цитокиновых медиаторов IL-4 и TNF- α в 1,4 и 1,3 раза соответственно у носителей вариантного аллеля G относительно обладателей гомозиготного генотипа AA ($p = 0,020–0,042$).

Таблица 1

Особенности иммунного профиля обследованных детей с аллергическими заболеваниями

Показатель	Референтный уровень	Группа наблюдения	Группа сравнения	p
Лейкоциты, $10^9/\text{дм}^3$	3,9–6	$6,36 \pm 0,68$	$5,41 \pm 0,37$	0,014
Эозинофилы, шт.	35–350	$263,94 \pm 78,81$	$142,18 \pm 37,64$	0,008
Эозинофилы, %	0–3	$4,03 \pm 0,96$	$2,6 \pm 0,64$	0,014
CD19 ⁺ -лимфоциты, $10^9/\text{дм}^3$	0,09–0,66	$0,29 \pm 0,04$	$0,27 \pm 0,03$	0,422
CD19 ⁺ -лимфоциты, %	6–25	$12,46 \pm 1,39$	$12,6 \pm 1,15$	0,874
CD3 ⁺ -лимфоциты, $10^9/\text{дм}^3$	0,69–2,54	$1,63 \pm 0,17$	$1,42 \pm 0,09$	0,032
CD3 ⁺ -лимфоциты, %	55–84	$66,7 \pm 2,60$	$66,15 \pm 1,983$	0,737
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, $10^9/\text{дм}^3$	0,41–1,59	$0,89 \pm 0,11$	$0,76 \pm 0,06$	0,043
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, %	31–60	$36,15 \pm 2,48$	$35,65 \pm 2,13$	0,760
IgE общий, МЕ/см ³	0–99,9	$181,39 \pm 94,68$	$43,11 \pm 20,82$	0,006
IL-10, пг/см ³	0–20	$4,10 \pm 1,77$	$3,16 \pm 0,73$	0,317
IL-1 β , пг/см ³	0–11	$3,23 \pm 1,11$	$1,87 \pm 1,19$	0,060
IL-4, пг/см ³	0–4	$1,9 \pm 0,36$	$1,20 \pm 0,25$	0,013
IL-6, пг/см ³	0–10	$2,50 \pm 0,92$	$1,51 \pm 0,41$	0,890
INF- γ , пг/см ³	0–10	$3,44 \pm 2,41$	$1,57 \pm 0,32$	0,126
TNF- α , пг/см ³	0–6	$2,11 \pm 0,26$	$1,7 \pm 0,26$	0,030

Примечание: p – уровень значимости различий группы наблюдения с группой сравнения по t -критерию Стьюдента.

Таблица 2

Особенности генетического полиморфизма *MMP9 Q279R* у обследованных детей с аллергическими заболеваниями

Генотип, аллель	Группа наблюдения, %	Группа сравнения, %	χ^2	<i>p</i>	OR (95 % CI)
<i>Кодоминантная модель</i>					
AA	27,3	57,5	6,71	0,03	0,28 (0,10–0,75)
AG	51,5	30,0			2,48 (0,95–6,48)
GG	21,2	12,5			1,88 (0,54–6,61)
<i>Мультипликативная модель</i>					
A	53,0	72,5	5,93	0,01	0,43 (0,22–0,85)
G	47,0	27,5			2,34 (1,17–4,65)
<i>Доминантная модель</i>					
AA	27,3	57,5	6,71	0,01	0,28 (0,10–0,75)
AG+GG	72,7	42,5			3,61 (1,34–9,71)
<i>Рецессивная модель</i>					
AA+AG	78,8	87,5	1,0	0,32	0,53 (0,15–1,86)
GG	21,2	12,5			1,88 (0,54–6,61)

Примечание: *p* – уровень значимости межгрупповых различий; χ^2 – критерий хи-квадрат; OR – отношение шансов; 95 % CI – доверительный интервал.

Таблица 3

Показатели иммунорегуляции детей с аллергическими заболеваниями, ассоциированные с генотипами *MMP9 Q279R*

Показатель	Референтный уровень	Генотип		<i>p</i>
		AG+GG	AA	
Лейкоциты, $10^9/\text{дм}^3$	3,9–6	6,15 ± 0,62	6,93 ± 2,15	0,440
Эозинофилы, шт.	35–350	292,54 ± 105,68	187,67 ± 70,99	0,098
Эозинофилы, %	0–3	4,5 ± 1,26	2,78 ± 0,84	0,023
CD19 ⁺ -лимфоциты, $10^9/\text{дм}^3$	0,09–0,66	0,28 ± 0,04	0,33 ± 0,11	0,349
CD19 ⁺ -лимфоциты, %	6–25	11,79 ± 1,52	14,22 ± 3,41	0,153
CD3 ⁺ -лимфоциты, $10^9/\text{дм}^3$	0,69–2,54	1,65 ± 0,17	1,57 ± 0,50	0,750
CD3 ⁺ -лимфоциты, %	55–84	67,5 ± 2,28	64,56 ± 8,54	0,464
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, $10^9/\text{дм}^3$	0,41–1,59	0,90 ± 0,12	0,854 ± 0,30	0,769
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты, %	31–60	36,63 ± 2,96	34,89 ± 5,56	0,550
IgE общий, МЕ/см ³	0–99,9	219,96 ± 128,29	78,55 ± 45,36	0,042
IL-10, пг/см ³	0–20	4,58 ± 2,46	2,88 ± 1,18	0,207
IL-1 β , пг/см ³	0–11	3,71 ± 1,57	2,25 ± 1,59	0,117
IL-4, пг/см ³	0–4	2,08 ± 0,47	1,44 ± 0,29	0,020
IL-6, пг/см ³	0–10	2,37 ± 0,81	2,91 ± 3,37	0,723
INF- γ , пг/см ³	0–10	4,05 ± 3,37	1,89 ± 1,26	0,229
TNF- α , пг/см ³	0–6	2,24 ± 0,30	1,69 ± 0,45	0,031

Примечание: *p* – уровень значимости различий группы наблюдения с группой сравнения по *t*-критерию Стьюдента.

Сравнительный анализ показателей иммунного и аллергического статуса у детей с аллергопатологией, ассоциированной с аллелем *G*, относительно обладателей генотипа *AA Q279R* полиморфного варианта гена *MMP9* позволил верифицировать тесты (эозинофилы, IgE общий, IL-4 и TNF- α) и механизм (деградация внеклеточного матрикса) формирования аллергии, сопряженной с полиморфизмом гена матричной металлопротеиназы *Q279R MMP9* (rs17576), риск возникновения которой в условиях контаминации биосред бензолом у обладателей аллеля *G* возрастает в 2,1 раза по сравнению с носителями *AA*-генотипа (*RR* = 2,08; 95 % *CI* = 1,13–3,83).

Негативные эффекты ароматических углеводородов, в частности бензола, на показатели иммунной реактивности связаны с иммунотоксическим действием, степень выраженности которого определяется функциональными особенностями иммунокомпетентных клеток и стадией иммунного ответа. В результате контаминации биосред бензолом и дальнейших процессов его метаболизма возможно усугубление симптомов аллергии при активации, с одной стороны, развития окислительного стресса, а с другой стороны, стимуляции Th2-опосредованных процессов через усиление продукции IgE и IL-4 [9–11].

Известно, что механизмы формирования аллергических заболеваний ассоциированы с нарушениями иммунной регуляции, несбалансированной активацией аллерген-специфических Th2-клонов, синтезом В-лимфоцитами IgE, инфильтрацией и активацией эозинофилов, базофилов и тучных клеток в очаге воспаления, мигрирующих через стенки капиллярных сосудов и интерстиций, что предъявляет особые требования к детерминированным матриксными металлопротеиназами процессам деградации внеклеточного матрикса [12, 13]. Считается, что *MMP9* играет ключевую роль в ремоделировании и восстановлении тканей посредством деградации коллагена IV и V типов и эластина, что может способствовать миграции клеток. Однако в настоящее время биологические функции этих ферментов значительно расширены.

Матриксные металлопротеиназы играют ключевую роль в развитии иммунных клеток, эффекторной функции, миграции и лиганд-рецепторных взаимодействиях, влияя на иммунные ответы, в том числе через регуляцию сигнальных путей цитокиновых рецепторов (TNF- α , IL-6), связанных с развитием воспалительных процессов. Исследования на мышинных моделях с дефицитом *MMP* показывают, что в частности *MMP9* секретируется воспалительными клетками после контакта с аллергеном и в ответ на сигнальные стимулы Th2-цитокинов, способствуя рекрутированию воспалительных клеток через мобилизацию провоспалительных цитокинов, хемокинов и факторов роста [14, 15]. Так, при астме эти медиаторы стимулируют выход воспалительных клеток из тканей в просвет дыхательных путей. *MMP* также способствуют гиперреактивности дыхательных путей и ремоделированию внеклеточного матрикса, влияя на сокращение гладких мышц, инвазию фибробластов и подслизистое накопление коллагена. *MMP*-индуцированная регуляция передачи клеточных сигналов посредством протеолитического отщепления и активации ключевых факторов роста, таких как TGF- β , стимулирует пролиферацию клеток дыхательных путей и модулирует выработку матрикса, способствуя развитию фиброза. Кроме того, *MMP9* играет ключевую роль в инфильтрации эозинофилов через базальную мембрану в стенки дыхательных путей при астме и последующей индукции гиперреактивности. Уровни *MMP9* в конденсате выдыхаемого воздуха у детей с астмой повышены и коррелируют со снижением легочной функции и другими маркерами воспаления, такими как IL-4 / IL-10 [16, 17].

Исследования показывают, что особую роль в поддержании аллергического воспаления со структурными фиброзными изменениями и интенсивной клеточной инфильтрацией у пациентов с аллергическим ринитом и атопическим дерматитом также играет *MMP9*, уровни экспрессии кото-

рой и содержание в плазме крови достоверно выше [18, 19].

Ген *MMP9* локализован в 20q11.2-q13.1 хромосоме и состоит из 13 экзонов. Полиморфизм *Q279R* гена *MMP9* (rs17576) расположен в шестом экзоне в области коллагенсвязывающего домена фермента и связан с заменой аденина A на гуанин G в положении 836 (836 A/G), в результате незаряженная аминокислота глутамин Q заменяется положительно заряженной аминокислотой аргинином R (*p.Gln279Arg*). Этот полиморфизм потенциально влияет на биологические свойства конечного белкового продукта, изменяя трехмерную структуру белка, что повышает аффинность к субстрату и эффективность связывания и в условиях изменения ферментативной активности *MMP9* может потенцировать развитие патологических процессов, ассоциированных с повышенной функциональной активностью фермента [20, 21]. Исследования показывают, что вариант *279R* (G аллель) увеличивает активность *MMP9* и ассоциирован с возрастанием риска сердечно-сосудистой патологии, астмы, хронической обструктивной болезни легких [22, 23].

Аллергические заболевания становятся одними из самых распространенных хронических заболеваний в современном обществе, своевременная диагностика и подбор адекватных стратегий лечения которых представляют серьезную проблему для здравоохранения в XXI в., поскольку недостаточная терапия приводит к значительному снижению работоспособности, влияя на здоровье и качество жизни людей. Существует необходимость всестороннего научного исследования возможных дополнительных и альтернативных подходов, которые позволяют реализовать персонализированное направление в медицине с детальным изучением отдельных патогенетических звеньев и индивидуальной чувствительности организма на основе применения молекулярно-генетических методов прогнозирования и мониторинга развития заболевания [3, 24–26].

Выводы. Выполненное обследование детского населения с аллергопатологией показало нарушения иммунных регуляторных показателей на фоне повышения уровня контаминации биосред бензолом, связанные с изменением соотношения основных лейкоцитарных фракций, повышением эозинофильно-лимфоцитарного индекса, возрастанием уровня гиперчувствительности и цитокиновых иммунных медиаторов, которые указывают на Th2-направленный сдвиг иммунного гомеостаза. Показаны ассоциации полиморфизма гена *MMP9 Q279R* с риском развития аллергических заболеваний, при этом аллель G может рассматриваться в качестве маркера чувствительности у детей с аллергопатологией ($OR = 2,34$; 95 % $CI = 1,17-4,65$), а риск формирования аллергии у обладателей аллеля G увеличивается в 2,1 раза по сравнению с носителями AA-генотипа

($RR = 2,08$; 95 % $CI = 1,13-3,83$). Таким образом, полиморфизм гена *MMP9 Q279R* (rs17576) у детей с проявлениями аллергии сопряжен с дисбалансом цитокинового профиля, а его аллель *G* ассоциирован с риском ($RR = 2,1$) формирования аллергии и может рассматриваться в качестве маркера чувствительности для задач ранней диагностики и профилактики

атопических процессов у детей в условиях контаминации биосред бензолом.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Li J., Zhang Y., Zhang L. Discovering susceptibility genes for allergic rhinitis and allergy using a genome-wide association study strategy // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 15, № 1. – P. 33–40. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000124
- Epigenetics and the environment in airway disease: asthma and allergic rhinitis / A. Long, B. Bunning, V. Sampath, R.H. DeKruyff, K.C. Nadeau // *AEMB series. Epigenetics in Allergy and Autoimmunity.* – 2020. – Vol. 1253. – P. 153–181. DOI: 10.1007/978-981-15-3449-2_6
- Зайцева Н.В., Землянова М.А., Долгих О.В. Геномные, транскриптомные и протеомные технологии как современный инструмент диагностики нарушений здоровья, ассоциированных с воздействием факторов окружающей среды // *Гигиена и санитария.* – 2020. – Т. 99, № 1. – С. 6–12. DOI: 10.33029/0016-9900-2020-99-1-6-12
- Identification of gene biomarkers with expression profiles in patients with allergic rhinitis / Y. Hao, B. Wang, J. Zhao, P. Wang, Y. Zhao, X. Wang, Y. Zhao, L. Zhang // *Allergy Asthma Clinical Immunology.* – 2022. – Vol. 18. – P. 20. DOI: 10.1186/s13223-022-00656-4
- Матриксные металлопротеиназы: структура, функции и генетический полиморфизм / А.С. Шадрина, И.В. Терешкина, Я.З. Плиева, Д.Н. Кушлинский, Д.О. Уткин, А.А. Морозов, М.Л. Филипенко, Н.Е. Кушлинский // *Патогенез.* – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 14–23.
- Cui N., Hu M., Khalil R.A. Chapter One – Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* – 2017. – Vol. 147. – P. 1–73. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005
- Dataset of allele and genotype frequencies of the three functionally significant polymorphisms of the MMP genes in Russian patients with primary open-angle glaucoma, essential hypertension and peptic ulcer / O. Minyaylo, D. Starikova, M. Moskalenko, I. Ponomarenko, E. Reshetnikov, V. Dvornyk, M. Churnosov // *Data in brief.* – 2020. – Vol. 31. – P. 106004. DOI: 10.1016/j.dib.2020.106004
- Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матриксных металлопротеиназ в норме и при патологии / А.С. Шадрина, Я.З. Плиева, Д.Н. Кушлинский, А.А. Морозов, М.Л. Филипенко, В.Л. Чанг, Н.Е. Кушлинский // *Альманах клинической медицины.* – 2017. – Т. 45, № 4. – С. 266–279. DOI: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279
- Влияние бензола на иммунную систему и некоторые механизмы его действия / И.В. Михайлова, А.И. Смолягин, С.И. Красников, А.В. Караулов // *Иммунология.* – 2014. – Т. 35, № 1. – С. 51–55.
- Association between benzene exposure, serum levels of cytokines and hematological measures in Chinese workers: A cross-sectional study / J. Wang, X. Guo, Y. Chen, W. Zhang, J. Ren, A. Gao // *Ecotoxicology and environmental safety.* – 2021. – Vol. 207. – P. 111562. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111562
- Oxidative stress is associated with atopic indices in relation to childhood rhinitis and asthma / C.Y.W. Choo, K.-W. Yeh, J.-L. Huang, K.-W. Su, M.-H. Tsai, M.-C. Hua, S.-L. Liao, S.-H. Lai [et al.] // *J. Microbiol. Immunol. Infect.* – 2021. – Vol. 54, № 3. – P. 466–473. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.01.009
- Симбирцев А.С. Цитокины в иммунопатогенезе аллергии // *РМЖ. Медицинское обозрение.* – 2021. – № 1. – С. 32–37. DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-1-32-37
- Fingleton B. Matrix metalloproteinases as regulators of inflammatory processes // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.* – 2017. – Vol. 1864, № 11, Pt A. – P. 2036–2042. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2017.05.010
- Матриксные металлопротеиназы: их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал / Е.В. Маркелова, В.В. Здор, А.Л. Романчук, О.Н. Бирко // *Иммунопатология, аллергология, инфектология.* – 2016. – № 2. – С. 11–22. DOI: 10.14427/jipai.2016.2.11
- Bajbouj K., Ramakrishnan R.K., Hamid Q. Role of matrix metalloproteinases in angiogenesis and its implications in asthma // *J. Immunol. Res.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 6645072. DOI: 10.1155/2021/6645072
- Exhaled breath condensate MMP-9 level and its relationship with asthma severity and interleukin-4/10 levels in children / G.B. Karakoc, A. Yukselen, M. Yilmaz, D.U. Altintas, S.G. Kendirli // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2012. – Vol. 108, № 5. – P. 300–304. DOI: 10.1016/j.anaai.2012.02.019
- Ingram J., Kraft M. Metalloproteinases as modulators of allergic asthma: therapeutic perspectives // *Metalloproteinases In Medicine.* – 2015. – Vol. 2. – P. 61–74. DOI: 10.2147/MNM.S63614
- Expression and roles of MMP-2, MMP-9, MMP-13, TIMP-1 and TIMP-2 in allergic nasal mucosa / S. Mori, R. Pawankar, C. Ozu, M. Nonaka, T. Yagi, K. Okubo // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2012. – Vol. 4, № 4. – P. 231–239. DOI: 10.4168/aaair.2012.4.4.231
- Exploration of the potential mechanism of the common differentially expressed genes in psoriasis and atopic dermatitis / Z. Zhou, L. Meng, Y. Cai, W. Yan, Y. Bai, J. Chen // *BioMed Res. Int.* – 2022. – Vol. 2022. – P. 1177299. DOI: 10.1155/2022/1177299
- Airway remodeling in chronic obstructive pulmonary disease and asthma: the role of matrix metalloproteinase-9 / K. Grzela, M. Litwinuk, W. Zagorska, T. Grzela // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.).* – 2016. – Vol. 64, № 1. – P. 47–55. DOI: 10.1007/s00005-015-0345-y

21. Association of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) polymorphisms with asthma risk: a meta-analysis / F. Zou, J. Zhang, G. Xiang, H. Jiao, H. Gao // *Can. Respir. J.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 9260495. DOI: 10.1155/2019/9260495

22. Matrix metalloproteinase-9 (279R/Q) polymorphism is associated with clinical severity and airflow limitation in Tunisian patients with chronic obstructive pulmonary disease / S. Bchir, H.B. Nasr, I.R. Hakim, A.B. Anes, S. Yacoub, A. Garrouch, M. Benzarti, B. Bauvois [et al.] // *Mol. Diagn. Ther.* – 2015. – Vol. 19, № 6. – P. 375–387. DOI: 10.1007/s40291-015-0163-2

23. Polymorphic variants 279R and 668Q augment activity of matrix metalloproteinase-9 in breath condensates of children with asthma / K. Grzela, W. Zagórska, A. Krejner, M. Litwiniuk, A. Zawadzka-Krajewska, M. Kulus, T. Grzela // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*. – 2016. – Vol. 65, № 2. – P. 183–187. DOI: 10.1007/s00005-016-0412-z

24. Гурьянова С.В. Интегрированные подходы в диагностике и терапии аллергических заболеваний // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. – 2018. – Т. 22, № 1. – С. 75–85. DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-1-75-85

25. Научные принципы применения биомаркеров в медико-экологических исследованиях (обзор литературы) / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, В.П. Чашин, А.Б. Гудков // *Экология человека*. – 2019. – Т. 26, № 9. – С. 4–14. DOI: 10.33396/1728-0869-2019-9-4-14

26. Dolgikh O.V., Zaitseva N.V., Nikonoshina N.A. Conditions of aerogenic exposition to benzol and genetic status as factors of formation of immune profile features in men with vegetative regulation impairments // 20th International Multidisciplinary Scientific GeoConference – SGEM 2020. Conference Proceedings. – 2020. – P. 73–80.

Риск формирования аллергии и ее иммунные фенотипы у детей с полиморфизмом гена MMP9 Q279R / К.Г. Старкова, О.В. Долгих, Т.А. Легостаева, В.М. Ухабов // Анализ риска здоровью. – 2022. – № 4. – С. 168–176. DOI: 10.21668/health.risk/2022.4.16

UDC 613.6: 502.3: 616.097

DOI: 10.21668/health.risk/2022.4.16.eng



Research article

RISK OF ALLERGY AND ITS IMMUNE PHENOTYPES IN CHILDREN WITH *MMP9* Q279R GENE POLYMORPHISM

K.G. Starkova¹, O.V. Dolgikh¹, T.A. Legostaeva¹, V.M. Ukhabov²

¹Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82 Monastyrskaya Str., Perm, 614045, Russian Federation

²Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, 26 Petropavlovskaya Str., Perm, 614000, Russian Federation

Scientific research with its focus on allergic diseases relies on up-to-date molecular-genetic methods for identifying individual genetic variability; it seems an important stage in the implementation of programs with their aim to early detect and mitigate risks of such diseases.

In this study, our aim was to identify features of immune regulation associated with Q279R MMP9 gene polymorphism (rs17576) and benzene contamination in biological media in children with allergic diseases.

The test group included 33 children with allergic diseases; the reference group consisted of 40 relatively healthy children. CD-markers were identified with flow cytometry. Genotyping was performed with a real-time polymerase chain reaction.

© Starkova K.G., Dolgikh O.V., Legostaeva T.A., Ukhabov V.M., 2022

Ksenia G. Starkova – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory for Immunology and Allergology (e-mail: skg@ferisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5162-9234>).

Oleg V. Dolgikh – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Immunobiological Diagnostic Methods (e-mail: oleg@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4860-3145>).

Tatyana A. Legostaeva – doctor of the Laboratory for Clinical Diagnostics (e-mail: ms.legota@mail.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1368-9703>).

Viktor M. Ukhabov – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Common Hygiene and Human Ecology Department (e-mail: arbutov@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 235-11-35; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6316-7850>).

The research revealed elevated levels of total IgE, IL-4 and TNF α under elevated benzene contamination in biological media that were by 1.2–4.2 times higher in the examined children with allergic diseases than in the reference group ($p = 0.006–0.03$). *Q279R MMP9* gene polymorphism in children from the test group had authentically more frequent occurrence of the GG and AG genotypes, by 1.7 times higher than in the reference group. This allows considering the allele G of the *MMP9* gene as a sensitivity marker in children with allergic diseases (OR = 2.34; 95 % CI = 1.17–4.65). We established a growth by 2.8 times in total IgE level and greater IL-4 and TNF α expression, by 1.4 and 1.3 times accordingly, in carriers of the allele G against those carrying the homozygote AA genotype among the examined children with allergic diseases ($p = 0.020–0.042$). Logistic regression analysis established the adequacy of the dominant model ($p = 0.01$) and revealed a possible association between carriage of the AG and GG genotypes of *Q279R MMP9* gene polymorphism and developing allergy (OR = 3.61; 95 % CI = 1.34–9.71).

A risk of developing allergy combined with benzene contamination in biological media and gene polymorphism of matrix metalloproteinase *MMP9* (rs17576) is by 2.1 times higher for the allele G carriers against the AA genotype carriers (RR = 2.08; 95 % CI = 1.13–3.83). This allows considering the allele G of the *MMP9 Q279R* gene as a sensitivity marker in children with allergic diseases.

Keywords: genetic polymorphism, *MMP9 Q279R*, hypersensitivity markers, polymerase chain reaction, dominant model, CD-markers, a risk of developing allergy, IL-4, TNF α .

References

1. Li J., Zhang Y., Zhang L. Discovering susceptibility genes for allergic rhinitis and allergy using a genome-wide association study strategy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2015, vol. 15, no. 1, pp. 33–40. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000124
2. Long A., Bunning B., Sampath V., DeKruyff R.H., Nadeau K.C. Epigenetics and the environment in airway disease: asthma and allergic rhinitis. *AEMB series. Epigenetics in Allergy and Autoimmunity*, 2020, vol. 1253, pp. 153–181. DOI: 10.1007/978-981-15-3449-2_6
3. Zaitseva N.V., Zemlianova M.A., Dolgikh O.V. Genomic, transcriptomic and proteomic technologies as a modern tool for diagnostics of health disorders associated with the impact of environmental factors. *Gigiena i sanitariya*, 2020, vol. 99, no. 1, pp. 6–12. DOI: 10.33029/0016-9900-2020-99-1-6-12 (in Russian).
4. Hao Y., Wang B., Zhao J., Wang P., Zhao Y., Wang X., Zhao Y., Zhang L. Identification of gene biomarkers with expression profiles in patients with allergic rhinitis. *Allergy Asthma Clinical Immunology*, 2022, vol. 18, pp. 20. DOI: 10.1186/s13223-022-00656-4
5. Shadrina A.S., Tereshkina I.V., Plieva Ya.Z., Kushlinsky D.N., Utkin D.O., Morozov A.A., Filipenko M.L., Kushlinsky N.E. Matrix metalloproteinases: structure, functions and genetic polymorphism. *Patogenez*, 2017, vol. 15, no. 2, pp. 14–23 (in Russian).
6. Cui N., Hu M., Khalil R.A. Chapter One – Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2017, vol. 147, pp. 1–73. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005
7. Minyaylo O., Starikova D., Moskalenko M., Ponomarenko I., Reshetnikov E., Dvornyk V., Churnosov M. Dataset of allele and genotype frequencies of the three functionally significant polymorphisms of the MMP genes in Russian patients with primary open-angle glaucoma, essential hypertension and peptic ulcer. *Data in brief*, 2020, vol. 31, pp. 106004. DOI: 10.1016/j.dib.2020.106004
8. Shadrina A.S., Plieva Y.Z., Kushlinskiy D.N., Morozov A.A., Filipenko M.L., Chang V.L., Kushlinskii N.E. Classification, regulation of activity, and genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in health and disease. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny*, 2017, vol. 45, no. 4, pp. 266–279. DOI: 10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279 (in Russian).
9. Mikhylova I.V., Smolyagin A.I., Krasikov S.I., Karaulov A.V. Impact of benzene on the immune system and some of the mechanisms of its action. *Immunologiya*, 2014, vol. 35, no. 1, pp. 51–55 (in Russian).
10. Wang J., Guo X., Chen Y., Zhang W., Ren J., Gao A. Association between benzene exposure, serum levels of cytokines and hematological measures in Chinese workers: A cross-sectional study. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2021, vol. 207, pp. 111562. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111562
11. Choo C.Y.W., Yeh K.-W., Huang J.-L., Su K.-W., Tsai M.-H., Hua M.-C., Liao S.-L., Lai S.-H. [et al.]. Oxidative stress is associated with atopic indices in relation to childhood rhinitis and asthma. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2021, vol. 54, no. 3, pp. 466–473. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.01.009
12. Simbirtsev A.S. Cytokines and their role in immune pathogenesis of allergy. *Russian Medical Inquiry*, 2021, vol. 5, no. 1, pp. 32–37. DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-1-32-37
13. Fingleton B. Matrix metalloproteinases as regulators of inflammatory processes. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.*, 2017, vol. 1864, no. 11, pt A, pp. 2036–2042. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2017.05.010
14. Markelova E.V., Zdor V.V., Romanchuk A.L., Birko O.N. Matrix metalloproteinases: on their relationship with cytokine system, diagnostic and prognostic potential. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*, 2016, no. 2, pp. 11–22. DOI: 10.14427/jipai.2016.2.11 (in Russian).
15. Bajbouj K., Ramakrishnan R.K., Hamid Q. Role of matrix metalloproteinases in angiogenesis and its implications in asthma. *J. Immunol. Res.*, 2021, vol. 2021, pp. 6645072. DOI: 10.1155/2021/6645072
16. Karakoc G.B., Yukselen A., Yilmaz M., Altintas D.U., Kendirli S.G. Exhaled breath condensate MMP-9 level and its relationship with asthma severity and interleukin-4/10 levels in children. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2012, vol. 108, no. 5, pp. 300–304. DOI: 10.1016/j.ana.2012.02.019
17. Ingram J., Kraft M. Metalloproteinases as modulators of allergic asthma: therapeutic perspectives. *Metalloproteinases In Medicine*, 2015, vol. 2, pp. 61–74. DOI: 10.2147/MNM.S63614

18. Mori S., Pawankar R., Ozu C., Nonaka M., Yagi T., Okubo K. Expression and roles of MMP-2, MMP-9, MMP-13, TIMP-1 and TIMP-2 in allergic nasal mucosa. *Allergy Asthma Immunol. Res.*, 2012, vol. 4, no. 4, pp. 231–239. DOI: 10.4168/aaair.2012.4.4.231
19. Zhou Z., Meng L., Cai Y., Yan W., Bai Y., Chen J. Exploration of the potential mechanism of the common differentially expressed genes in psoriasis and atopic dermatitis. *BioMed. Res. Int.*, 2022, vol. 2022, pp. 1177299. DOI: 10.1155/2022/1177299
20. Grzela K., Litwiniuk M., Zagorska W., Grzela T. Airway remodeling in chronic obstructive pulmonary disease and asthma: the role of matrix metalloproteinase-9. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, 2016, vol. 64, no. 1, pp. 47–55. DOI: 10.1007/s00005-015-0345-y
21. Zou F., Zhang J., Xiang G., Jiao H., Gao H. Association of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) polymorphisms with asthma risk: a meta-analysis. *Can. Respir. J.*, 2019, vol. 2019, pp. 9260495. DOI: 10.1155/2019/9260495
22. Bchir S., Nasr H.B., Hakim I.R., Anes A.B., Yacoub S., Garrouch A., Benzarti M., Bauvois B. [et al.]. Matrix metalloproteinase-9 (279R/Q) polymorphism is associated with clinical severity and airflow limitation in Tunisian patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Mol. Diagn. Ther.*, 2015, vol. 19, no. 6, pp. 375–387. DOI: 10.1007/s40291-015-0163-2
23. Grzela K., Zagórska W., Krejner A., Litwiniuk M., Zawadzka-Krajewska A., Kulus M., Grzela T. Polymorphic variants 279R and 668Q augment activity of matrix metalloproteinase-9 in breath condensates of children with asthma. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, 2016, vol. 65, no. 2, pp. 183–187. DOI: 10.1007/s00005-016-0412-z
24. Guryanova S.V. Integrated approaches in diagnostics and therapy of allergic diseases. *Vestnik Rossiiskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina*, 2018, vol. 22, no. 1, pp. 75–85. DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-1-75-85 (in Russian).
25. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Chashchin V.P., Gudkov A.B. Scientific principles of use of biomarkers in medico-ecological studies (review). *Ekologiya cheloveka*, 2019, vol. 26, no. 9, pp. 4–14. DOI: 10.33396/1728-0869-2019-9-4-14 (in Russian).
26. Dolgikh O.V., Zaitseva N.V., Nikonoshina N.A. Conditions of aerogenic exposition to benzol and genetic status as factors of formation of immune profile features in men with vegetative regulation impairments. *20th International Multidisciplinary Scientific GeoConference – SGEM 2020. Conference Proceedings*, 2020, pp. 73–80.

Starkova K.G., Dolgikh O.V., Legostaeva T.A., Ukhobov V.M. Risk of allergy and its immune phenotypes in children with MMP9 Q279R gene polymorphism. Health Risk Analysis, 2022, no. 4, pp. 168–176. DOI: 10.21668/health.risk/2022.4.16.eng

Получена: 15.09.2022

Одобрена: 22.11.2022

Принята к публикации: 18.12.2022