

G. C. Fonarow, M. J. Budoff [et al.] // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2012. – N 9 (2). – P. 99–111.

2. *ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012*. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC / J. McMurray, S. Adamopoulos, S. D. Anker [et al.] // *European Journal of Heart Failure.* – 2012. – N 14. – P. 803–869.

3. *Тепляков А. Т.* Хроническая сердечная недостаточность. Цитокиновая экспрессия, иммунная активация и защита органов мишеней / А. Т. Тепляков. – Томск : Изд-во Томского ун-та, 2012. – С. 294.

4. *Van der Meer P.* Renal dysfunction in chronic heart failure / P. van der Meer, D. J. van Veldhuisen // *Heart.* – 2009. – N 95. – P. 1808–1812.

5. *Литвинова Л. О.* Сучасний стан поширеності цукрового діабету серед населення країн Європейського регіону ВООЗ / Л. О. Литвинова, О. Б. Тонковид // *Східноєвропейський журнал громадського здоров'я.* – 2008. – № 3, т. 3. – С. 92–96.

6. *High throughput mRNA profiling highlights associations between myocardial infarction and aberrant expression of inflammatory molecules in blood cells* / S. B. Wettinger, C. J. Doggen, C. A. Spek [et al.] // *Blood.* – 2005. – Vol. 1, N 105 (5). – P. 2000–2006.

7. *Diabetic nephropathy and chronic kidney disease at a busy diabetes clinic: A study of Out-patient Care and suggestions for improved care pathways at a subspecialty specialist diabetic renal clinic* / U. M. Graham, G. M. Magee, S. J. Hunter [et al.] // *Ulster Med Journal.* – 2010. – Suppl. 79, N 2. – P. 57–61.

8. *Ultrafiltration in Decompensated Heart Failure with Cardiorenal Syndrome* / B. A. Bart, S. R. Goldsmith, K. L. Lee [et al.] // *The New England Journal of Medicine.* – 2013. – N 367. – P. 2293–2304.

#### REFERENCES

1. Hatamizadeh P., Fonarow G.C., Budoff M.J., Darabian S., Kovessy C.P., Kalantar-Zadeh K. Cardiorenal syndrome: pathophysiology and potential targets for clinical management. *Nat. Rev. Nephrol.* 2012; 9 (2): 99-111.

2. McMurray J., Adamopoulos S., Anker S.D., Auricchio A., Bohm M., Dickstein K., Falk V., Filippatos G., Fonseca C., Gomez-Sanchez M., Jaarsma T., Kober L., Lip G., Maggioni A.P., Parkhomenko A., Pieske B.M., Popescu B.A., Ronnevik P.K., Rutten F.H., Schwitzer J., Seferovic P., Stepinska J., Trindade P.T., Voors A.A., Zannad F., Zeiher A. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collabora-

tion with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Journal of Heart Failure* 2012; 14: 803-869.

3. *Tepliyakov A.T.* Chronic cardiac disease. Cytokine expression, immune activation and protection of target-organs. Tomsk editor. office of the Tomsk Univers. 2012. 294 p.

4. *Van der Meer P., van Veldhuisen D.J.* Renal dysfunction in chronic heart failure. *Heart* 2009; 95: 1808-1812.

5. *Litvinova L.O., Tonkovid O.B.* Modern condition of diabetes mellitus spread among population of Europe region VOOZ. *Skhidnoyevropeiskyy zhurnal gromadskogo zdorov'ya* 2008; 3 (3): 92-96.

6. *Wettinger S.B., Doggen C.J., Spek C.A.* High throughput mRNA profiling highlights associations between myocardial infarction and aberrant expression of inflammatory molecules in blood cells. *Blood* 2005; 105 (5): 2000-2006.

7. *Graham U.M., Magee G.M., Hunter S.J.* Diabetic nephropathy and chronic kidney disease at a busy diabetes clinic: A study of Outpatient Care and suggestions for improved care pathways at a subspecialty specialist diabetic renal clinic. *Ulster Med Journal* 2010; 79 (2): 57-61.

8. *Bart B.A., Goldsmith S.R., Lee K.L. et al.* Ultrafiltration in Decompensated Heart Failure with Cardiorenal Syndrome. *The New England Journal of Medicine* 2013; 367: 2293-2304.

Надійшла 2.06.2014

УДК 575.223.2+616.988](477.8)

М. Я. Тиркус

## РОЗПОВСЮДЖЕННЯ МУТАЦІЇ SDF-1 3'А ГЕНА CXCR-4 СЕРЕД ЖИТЕЛІВ ЗАХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», Львів, Україна

УДК 575.223.2+616.988](477.8)

М. Я. Тиркус

### РАСПРОСТРАНЕНИЕ МУТАЦИИ SDF-1 3'А ГЕНА CXCR-4 СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ ЗАПАДНОГО РЕГИОНА УКРАИНЫ

ГУ «Институт наследственной патологии НАМН Украины», Львов, Украина

Проведено молекулярно-генетическое исследование мутации SDF-1 3'А в гене рецептора хемокинов CXCR-4 среди жителей Западного региона Украины с целью установления вклада генетической составляющей в эпидемии ВИЧ/СПИД в Украине.

Выделение и очистку ДНК из лейкоцитов периферической крови проводили методом высаливания. Для идентификации мутации SDF-1 3'А применяли метод рестрикционного анализа продуктов полимеразной цепной реакции соответствующих последовательностей.

В исследуемой группе (200 человек) мутации SDF-1 3'А в гетерозиготном состоянии выявлено у 30,5 % лиц, в гомозиготном состоянии — в 3 % случаев. Мутацию SDF-1 3'А в гетерозиготном состоянии обнаружено в одинаковом количестве как у мужчин, так и у женщин. Полученные результаты по частоте мутации SDF-1 3'А гена CXCR-4 среди лиц Западного региона Украины значительно выше, чем в других этнических группах.



Таким образом, полученные результаты говорят о достаточно высокой генетической устойчивости к заражению ВИЧ жителей Западного региона Украины.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, хемокиновый рецептор, мутация.

UDC 575.223.2+616.988](477.8)

M. Ya. Tyrkus

## DISTRIBUTION OF MUTATION SDF-1 3'A OF GENE CXCR-4 AMONG PEOPLE OF THE WESTERN REGION OF UKRAINE

*Institute of Hereditary Pathology of the Ukrainian National Academy of Medical Sciences, Lviv, Ukraine*

**Aims.** A speed of AIDS epidemic process development depends on correlation between susceptible and resistant individuals in every single population. Recent studies have revealed a close connection between chemokine receptors and human immunodeficiency virus infection. Immune and genetic changes, that influence on the level of cytokines, could affect the susceptibility to immunodeficiency virus infection or speed of progress of disorder after infection. It was determined a link between spread of immunodeficiency virus infection and SDF-1 3'A mutation of chemokine receptor gene of human.

**The purpose** of study is to determine the frequency of chemokine receptor gene mutation SDF-1 3'A, which leads to higher resistance to HIV-1 among people of the Western region of Ukraine.

**Methods.** It was used the samples of peripheral blood as a materials for research of 200 healthy people (50% men and 50% women). Extracted DNA was amplified by polymerase chain reaction (PCR). The PCR products were subsequently digested with the restriction enzyme Msp I for identification of SDF-1 3'A mutation.

**Results.** Obtained results about frequency of mutation SDF-1 3'A of CXCR-4 is 18.25%. It is higher than in other ethnic group among people from Western region of Ukraine. Heterozygotes mutation SDF-1 3'A in studied group was found in 30.5% of people, homozygotes — in 3% of all. Mutation SDF-1 3'A was found at the same amount both in females and males. Among studied group the *CCR5del32* was combined with SDF-1 3'A (8 person), *CCR2-64I* with SDF-1 3'A (9 person) and combination of homozygotes mutation *CCR2-64I* and heterozygotes mutation SDF-1/3'A (1 person).

**Conclusions.** Thus, the obtained results and the frequency of mutations in chemokine receptors gene indicate the high genetic resistance to HIV-1 infection among Western Ukraine region people compared with other ethnic groups.

**Key words:** HIV-1 infection, chemokine receptor, mutation.

### Вступ

У світовій науці відбувається формування нової парадигми трактування інфекційних хвороб, яка ґрунтується на даних про те, що тільки у частини осіб, заражених інфекційними агентами, розвивається клінічна картина захворювання. При цьому, власне, генетичні особливості індивіда відіграють головну роль у маніфестації та ступені клінічної реалізації інфекційного процесу.

Відкриття останніх років виявили тісний зв'язок між особливим різновидом цитокінів, так званими хемокінами, їхніми рецепторами і ВІЛ-інфекцією. Окрім добре відомої ролі блокування проникнення вірусної частинки шляхом зв'язування з рецепторами, роль хемокінів виявилася надзвичайно важливою і в процесі патогенезу ВІЛ. Відомо, що Т-клітини CD8<sup>+</sup> секретують фактори, які пригнічують реплікацію ВІЛ у Т-клітинах CD4<sup>+</sup>. Установлено, що рецептор CXCR-4 є необхідним корецептором для проникнення Х4-варіанта ВІЛ (Х4-НІВ-1) у клі-

тини. За його відсутності ВІЛ може зв'язатися з клітиною (через специфічний рецептор CD4), але процесу злиття не відбувається і, відповідно, гальмується розвиток ВІЛ-інфекції, а також прогресування захворювання. Це відкриття має дуже важливу практичну перспективу: штучна блокада хемокинових рецепторів може бути використана для профілактики зараження ВІЛ-інфекцією та лікування хворих на СНІД [1; 2].

Варіант 3'A гена *CXCL12* (SDF-1 3'A) є заміною G на A в 3'-нетранслюючій ділянці одного з двох транскриптів *CXCL12*, продукт якого, SDF-1, — основний ліганд рецептора CXCR-4. Мутація розташована на 37 п. н. далі двох блоків (801 п. н. від стоп-кодону), послідовність яких консервативна на 88 і 92 % відповідно. Подібна відносно висока гомологія дозволяє припустити, що дана ділянка містить важливі сайти зв'язування для RNA- (або DNA-) регуляторних факторів. І хоча алель-специфічні клітинні або вірусні відмінності не були знайдені, затримка

розвитку захворювання, що спостерігається у гомозигот SDF-1 3'A, може бути результатом перевиробництва SDF-1 у деяких компартментах, що уповільнює CCR-5-CXCR-4 ретворення [3].

Носійство мутації SDF-1 3'A пов'язане з більш повільним прогресуванням СНІДу. Мутація SDF-1 3'A в гетерозиготному стані виявляється близько в 21 % європейців, у 16 % латиноамериканців, у 6 % афроамериканців і 25 % азіатів [4]. Найбільше зниження ризику ВІЛ/СНІД пов'язане з поєднанням гомозиготності за SDF-1 3'A і наявністю хоча б одного протективного алеля за генами *CCR2* і *CCR5* [3].

Отже, такі дані відкрили шлях для розвитку досліджень індивідуальних особливостей організму, задіяних у розвитку інфекційного процесу. Швидкість розвитку епідемічного процесу залежить і від співвідношення сприйнятливих і резистентних індивідів у кожній конкретній популяції.

**Метою** даної роботи було встановити частоту мутації



SDF-1 3'A в гені хемокінового рецептора *CXCR-4* серед осіб Західного регіону України.

### Матеріали та методи дослідження

Матеріалом дослідження слугували зразки крові 200 практично здорових осіб (50 % — чоловіки, 50 % — жінки). Вік обстежуваних осіб — від 23 до 43 років. Усі обстежувані індивіди є вихідцями і проживають на території Західної України. Зразки для досліджень були взяті з інформаційної згоди пацієнтів.

Проводили виділення й очищення ДНК із лейкоцитів периферійної крові методом висолювання [5]. Ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro* проводили, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [6], яку проводили в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» (ДНК-технологія, Росія). Для ідентифікації мутацій SDF-1 3'A гена хемокінів *CXCR-4* застосовували метод рестрикційного аналізу продуктів ПЛР відповідних послідовностей. У роботі використовували ендонуклеазу рестрикції *Msp I* виробництва фірми НВО «Сиб-Ензим» (Росія) [7]. Продукти ампліфікації візуалізували шляхом проведення електрофорезу в 2 % агарозному гелі, який містив бромистий етидій, і сканували на ультрафіолетовому транслюмінаторі «ЕСХ-15.М» (VILBER LOURMAT, Франція). Отримані сигнали порівнювали з маркерами довжин і на основі цього детектували розміри отриманих фрагментів. Результати сканування агарозних гелів знімали цифровою камерою «Gel Imager» (HELICON, Росія). Обробку зображень здійснювали на комп'ютері за допомогою програм Adobe Photoshop CS і Gel Explorer 2.0.

### Результати дослідження та їх обговорення

Проведено молекулярно-генетичне дослідження мутації

SDF-1 3'A гена хемокінів *CXCR-4* (номер поліморфізму в базі даних NCBI — rs1801157) [7]. У результаті обробки продуктів ПЛР ендонуклеазою рестрикції *Msp I* візуалізуються фрагменти ДНК, що відповідають SDF-1 генотипам: 202 п. н. — дикий тип (SDF-1/SDF-1), 100 п. н., 302 п. н., 202 п. н. — гетерозиготи (SDF-1/3'A) та 100 п. н. і 302 п. н. — гомозиготи по 3'A алелі (3'A/3'A). Електрофореграму молекулярно-генетичного дослідження алелей SDF-1 3'A наведено на рис. 1.

Молекулярно-генетичне дослідження мутації SDF-1 3'A гена рецептора *CXCR-4* здійснено у 200 практично здорових осіб, які є вихідцями і проживають на території Західної України. Отримані результати показали, що у досліджуваній групі мутацію SDF-1 3'A в гетерозиготному стані виявлено у 61 особи, що становить 30,5 %. Мутацію SDF-1 3'A в гомозиготному стані виявлено у 6 осіб, що дорівнює 3 %. Частота алеля SDF-1 3'A становить 18,25 % (73/400). Щодо статевого розподілу, то мутацію SDF-1 3'A в гетерозиготному стані виявлено в однаковій кількості як у чоловіків, так і у жінок.

Отримані результати щодо поширеності мутації SDF-1 3'A серед осіб Західного регіону

України (33,5 %) є значно вищими, ніж в інших етнічних групах, де частота цієї мутації коливається в межах 6–25 % [3; 4] та порівнювана з дослідженнями І. А. Кофіаді [8].

Враховуючи результати попередніх досліджень [9; 10], проведених на даній вибірці, виявлено вісім компаунд гетерозигот за мутаціями CCR5del32/3'A, дев'ять компаунд гетерозигот за мутаціями CCR2-64I/3'A та один випадок поєднання гомозиготи за мутацією CCR2-64I та гетерозиготи за мутацією SDF-1/3'A.

Отже, дані щодо поширення протекторних алелів серед жителів Західного регіону України дозволять спрогнозувати епідеміологічну ситуацію щодо ВІЛ/СНІДу у майбутньому. Дані про генетично зумовлену індивідуальну стійкість чи навпаки підвищену чутливість до ВІЛ можуть бути використаними для розрахунку коефіцієнта відносного ризику розвитку СНІДу і смерті внаслідок СНІДу для кожної популяції та у генно-інженерних розробках ліків і вакцин проти ВІЛ.

### Висновки

1. Отримані результати щодо частоти мутації SDF-1 3'A гена *CXCR-4* серед осіб Західного регіону України свідчать про достатньо високу частоту

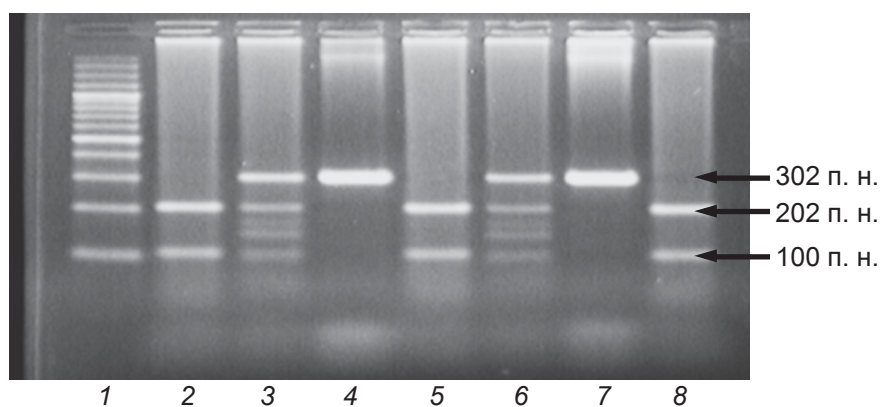


Рис. 1. Електрофореграма рестрикційного аналізу продуктів полімеразної ланцюгової реакції (2 % агарозний гель): 1 — маркери молекулярної ваги; 2, 5, 8 — відсутність мутації; 3, 6 — гетерозиготи за мутацією SDF-1 3'A; 4, 7 — гомозиготи за мутацією SDF-1 3'A



даної мутації порівняно з іншими етнічними групами.

2. Мутацію SDF-1 3'А гена *CXCR-4* у гомозиготному стані виявлено у 6 осіб, що становить 3 %.

3. Мутацію SDF-1 3'А гена *CXCR-4* в гетерозиготному стані виявлено у 61 особи, що дорівнює 30,5 %.

4. У досліджуваній групі виявлено вісімнадцять компаунд гетерозигот за мутацією SDF-1 3'А гена *CXCR-4* та іншими мутаціями генів хемокінових рецепторів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Sampathkumar R. Interplay between HIV-1 and Host Genetic Variation: A Snapshot into Its Impact on AIDS and Therapy Response / R. Sampathkumar, E. Shadabi, M. Luo // *Adv Virol.* – 2012. – Vol. 2012, N 2012. – P. 1–16.

2. Alimonti J. B. Mechanisms of CD4+ T lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and AIDS / J. B. Alimonti, T. B. Ball, K. R. Fowke // *Journal Gen Virol.* – 2003. – Vol. 84, N 7. – P. 1649–1661.

3. Ioannidis J. P. A. Effects of CCR5-D32, CCR2-64I, and SDF-1 3\*A Alleles on HIV-1 Disease Progression: An International Meta-Analysis of Individual-Patient Data / J. P. A. Ioannidis, P. S. Rosenberg, J. J. Goedert // *Annals of Internal Medicine.* – 2001. – Vol. 135, N 9. – P. 782–785.

4. Chatterjee K. Host genetic factors in susceptibility to HIV-1 infection and progression to AIDS / K. Chatterjee // *Journal of Genetics.* – 2010. – Vol. 89, N 1. – P. 109–113.

5. Пат. 32044 UA, МПК G01N33/49 (2006.01) Спосіб виділення ДНК з лейкоцитів периферійної крові / Макух Г. В., Заставна Д. В., Тиркус М. Я. [та ін.] ; заявник та патентовласник ДУ «Інститут спадкової патології АМН України». – № u200801896 ; заявл. 14.02.2008 ; опубл. 25.04.2008, Бул. № 8.

6. Mc. Pherson M. J. PCR a Practical Approach. Oxford University press / M. J. Mc. Pherson, P. Quirke, G. R. Taylor. – N. Y. : Oxford University press, 1993. – P. 253.

7. Better CD4+ T Cell Recovery in Brazilian HIV-Infected Individuals Under HAART Due to Cumulative Carriage of SDF-1-3'A, CCR2-V64I, CCR5-D32 and CCR5-Promoter 59029A/G

Polymorphisms / P. O. Rigato, M. A. Hong, Jorge Casseb [et al.] // *Current HIV Research.* – 2008. – Vol. 6. – P. 466–473.

8. Кофиади И. А. Генетическая устойчивость к заражению ВИЧ и развитию СПИД в популяциях России и сопредельных государств (рус.) : автореф. дис. ... канд. биол. наук / И. А. Кофиади. – М., 2008.

9. Тиркус М. Я. Висока частота мутації CCR5del32 гена хімокінового рецептора CCR5 серед жителів Західного регіону України / М. Я. Тиркус, Г. В. Макух, Г. Р. Акопян // *Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології* : зб. наук. праць. – 2012. – Т. 3. – С. 386–390.

10. Тиркус М. Я. Частота мутації CCR2-64 I гена хімокінового рецептора CCR2, що асоціюється з уповільненням прогресування СНІДу серед жителів Західного регіону України / М. Я. Тиркус // *Фактори експериментальної еволюції організмів* : зб. наук. праць. – 2013. – Т. 13. – С. 334–338.

#### REFERENCES

1. Sampathkumar R., Shadabi E., Luo M. Interplay between HIV-1 and Host Genetic Variation: A Snapshot into Its Impact on AIDS and Therapy Response. *Adv Virol.* 2012; 2012 (2012): 1-6.

2. Alimonti J.B., Ball T.B., Fowke K.R. Mechanisms of CD4+ T lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and AIDS. *Journal Gen Virol.* 2003; 84 (7): 1649-1661.

3. Ioannidis J.P.A., Rosenberg P.S., Goedert J.J., Ashton L.J., Benfield T.L., Buchbinder S.P., Coutinho R.A., Eugen-Olsen J., Gallart T., Katzenstein T.L., Kostrikis L.G., Kuipers H., Louie L.G., Mallal S.A., Margolick J.B., Martinez O.P., Meyer L., Michael N.L., Opierski E., Pantaleo G., Rizzardì P., Schuitemaker H., Sheppard H.W., Stewart G.J., Theodorou I.D., Ullum H., Vicenzi E., Vlahov D., Wilkinson D., Workman C., Zagury J., O'Brien T.R. Effects of CCR5-D32, CCR2-64I, and SDF-1 3\*A Alleles on HIV-1 Disease Progression: An International Meta-Analysis of Individual-Patient Data. *Annals of Internal Medicine* 2001; 135 (9): 782-783.

4. Chatterjee K. Host genetic factors in susceptibility to HIV-1 infection and progression to AIDS. *Journal of Genetics* 2010; 89 (1): 109-113.

5. Makukh G.V., Zastavna D.V., Tyrkus M.Ya., Tretyak B.I., Chorna L.B.

Sposib vydilennya DNK z leykotsytiv peryferiynoi krovi. Pat. 32044 UA, MPK G01N33/49 (2006.01). Zayavnik DU "Institute of Hereditary Pathology of the Ukrainian National Academy of Medical Sciences". T u200801896. Zayavl. 14.02.2008. Opubl. 25.04.2008, Byul. N 8.

6. Mc. Pherson M.J., Quirke P., Taylor G.R. PCR a Practical Approach. Oxford University press. N. Y., Oxford University press. 1993, p. 253.

7. Rigato P.O., Hong M.A., Casseb J., Ueda M., Castro I., Benard G., Duarte A.J.S. Better CD4+ T Cell Recovery in Brazilian HIV-Infected Individuals Under HAART Due to Cumulative Carriage of SDF-1-3'A, CCR2-V64I, CCR5-D32 and CCR5-Promoter 59029A/G Polymorphisms. *Current HIV Research* 2008; 6: 466-473.

8. Kofiadi I.A. Genetic resistance to HIV infection and the development of AIDS in populations of Russia and Neighboring Countries. Synopsis. Moscow, 2008.

9. Tyrkus M.Ya., Makukh H.V., Akopyan H.R. High frequency of mutations CCR5del32 chemokine gene receptor CCR5 in people from Western region of Ukraine. *Dosyagnennya i problemy genetyky, selektsii i biotekhnologii.* Collection of scientific works 2012; 3: 386-390.

10. Tyrkus M.Ya. Frequency of mutation CCR2-64 I i chemokine gene receptor, which is associated with delayed progression to aids in people from Western region of Ukraine. *Factory eksperimentalnoi evolyutsii organizmiv.* Collection of scientific works 2013; 3: 334-338.

Надійшла 16.06.2014

