

**FUNKČNÍ VARIANTA GENU ANXA11
SNIŽUJE RIZIKO ONEMOCNĚNÍ
SARKOIDÓZOU: POTVRZENÍ
VÝSLEDKŮ CELOGENOMOVÉ
ASOCIAČNÍ STUDIE.**

Štáhelová A.¹, Mrázek F.¹, Kriegová E.¹,
Hutyrová B.², Kubištová Z.¹, Koleček V.², Petřek M.¹

¹Laboratoř imunogenomiky a proteomiky, Ústav imunologie &

²Klinika plicních nemocí a tuberkulózy; Lékařská fakulta UP a Fakultní nemocnice, Olomouc, ČR.

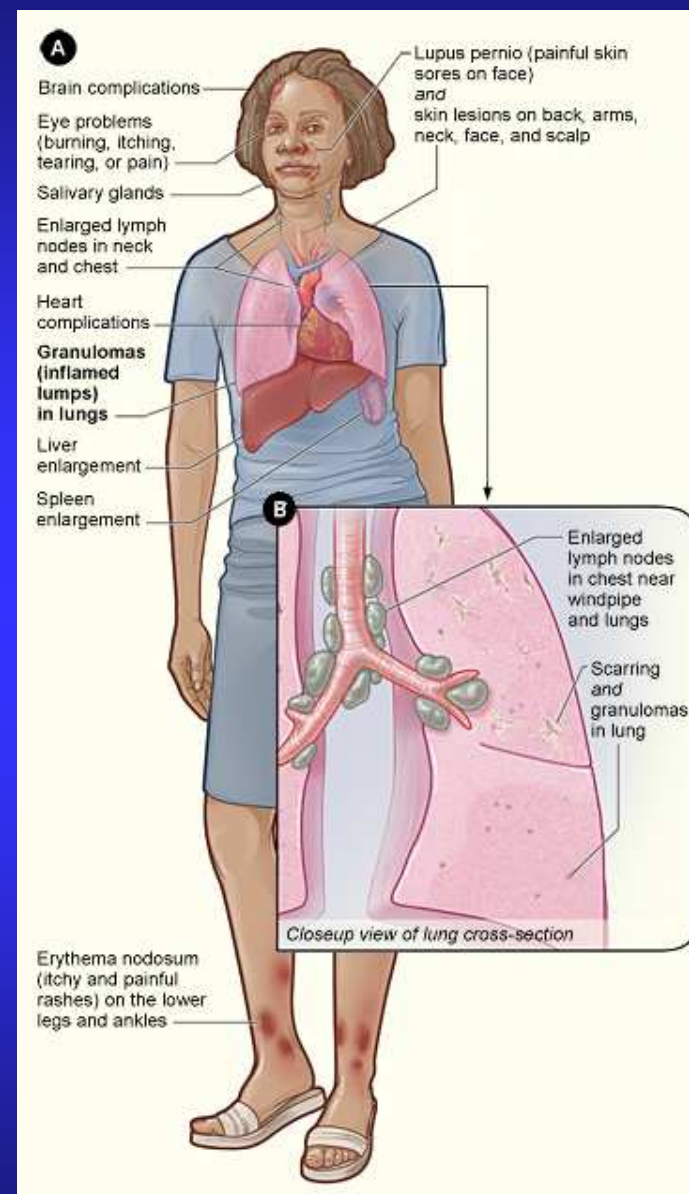
Genetická složka chorob

- “Monogenní” choroby
 - Primární imunodeficiency
 - Vrozené metabolické choroby
 - Vrozené poruchy srážlivosti
- Multifaktoriální choroby (“polygenní” dědičnost)
 - ICHS
 - Tumory
 - Autoimunita
 - Alergie – Astma
 - Sarkoidóza

Sarkoidóza

- základní charakteristika

- systémové zánětlivé granulomatózní onemocnění
- nejčastěji postihuje **plíce**: skupina intersticiálních plicních chorob - klasifikace dle RTG nálezu
- etiologie neznámá (infekce?, chemická noxa?)
- epidemiologické studie - významná genetická složka
(závislost na etniku, rodinná sarkoidóza, studie na dvojčatech)
- “extrémní” fenotypy (manifestace onemocnění) - **Löfgrenův syndrom** *versus* **progrese do fibrózy**



GWAS – Genome-Wide Association Study

- U komplexních onemocnění s genetickou složkou – „hypothesis free“ přístup
- Soubor pacientů x soubor zdravých jedinců
- Analýza celého genomu každého jedince
- Stanovení významných znaků – SNP (500k)
- Bioinformatika – statistické zpracování
- Srovnání frekvence genových variant u pacientů a u kontrolních jedinců
 - Odlišná frekvence u pacientů – predisponující nebo ochranný faktor
 - Asociace s onemocněním
 - Určení místa (lokusu) v lidském genomu, které by mohlo být spojeno s výskytem onemocnění
 - Přesné mapování – hledání příčinné varianty

Studium genetické složky sarkoidózy

Studie	Gen	Asociace
Navratilová (2007)	CCL2	Löfgrenův syndrom
Maver (2007)	IL6	Sarkoidóza
Valentonyte (2005)	BTNL2	Sarkoidóza
Zorzetto (2002)	CR1	Sarkoidóza
Kruit (2006)	CMA1	Plicní funkce (funkční dopad onemocnění)
Mrázek (2005)	TNF, LTA, HLA	Löfgrenův syndrom
Spagnolo (2003)	CCR2	Löfgrenův syndrom
Swider (1999)	TNF, HLA	Löfgrenův syndrom
Rutherford (2004)	HLA	Chronická sarkoidóza
Sato (2002)	HLA	Löfgrenův syndrom, progresse onemocnění
Rybicki (2005)	BTNL2	Sarkoidóza
Spagnolo (2007)	BTNL2, HLA	Sarkoidóza bez Löfgrenova syndromu
Petřek (2000)	CCR5	Sarkoidóza, závažnost choroby

Východiska a cíle

Východiska:

Celogenomová asociační studie (GWAS) u německé populace (1) - asociace variant genu *ANXA11* (annexin A11) s vnímavostí k sarkoidóze.

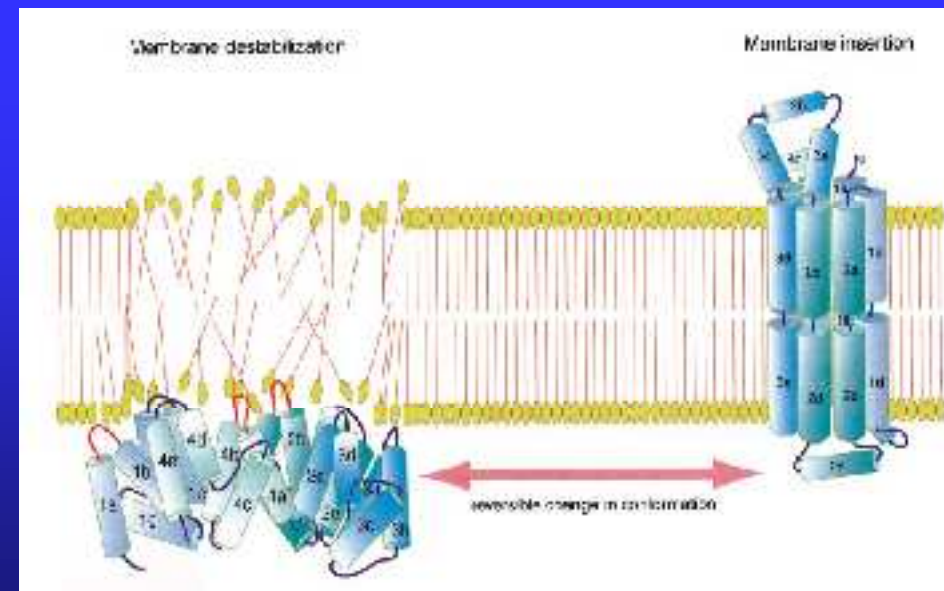
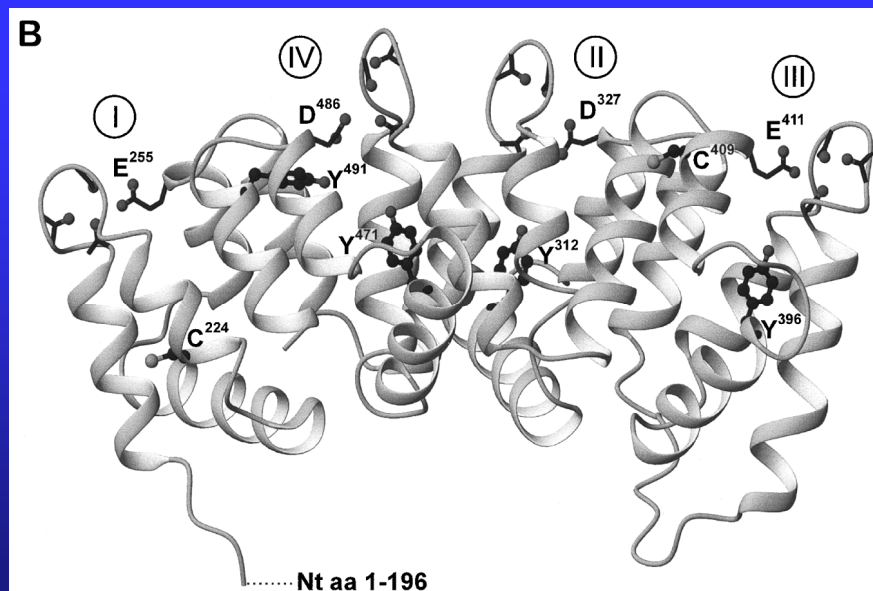
(1) Hofmann S. et al., *Nature Genetics* 40, 1103-1106, 2008

Cíle:

- Ověřit výsledky GWAS v české populaci (pro klíčový funkční polymorfismus)
- Zjistit, zda varianta genu *ANXA11* souvisí také s charakterem klinické manifestace nemoci?

Annexin 11

- Regulační molekula **buněčného cyklu a apoptózy**
- Regulace membránové organizace
- Hypotetické uplatnění u sarkoidózy ?
- **regulace apoptózy u granulomatózního zánětu**



Pacienti a metody

Studovaná populace

Pacienti se sarkoidózou: **N=245**

Kontrolní populace (zdraví jedinci): **N=254**

Diagnóza sarkoidózy podle mezinárodních kritérií

Genetická analýza

Typizace polymorfismu ANXA11 rs1049550 C/T (R230C) provedena metodou **qRT-PCR** s využitím „**TaqMan**“ sond

Statistická analýza

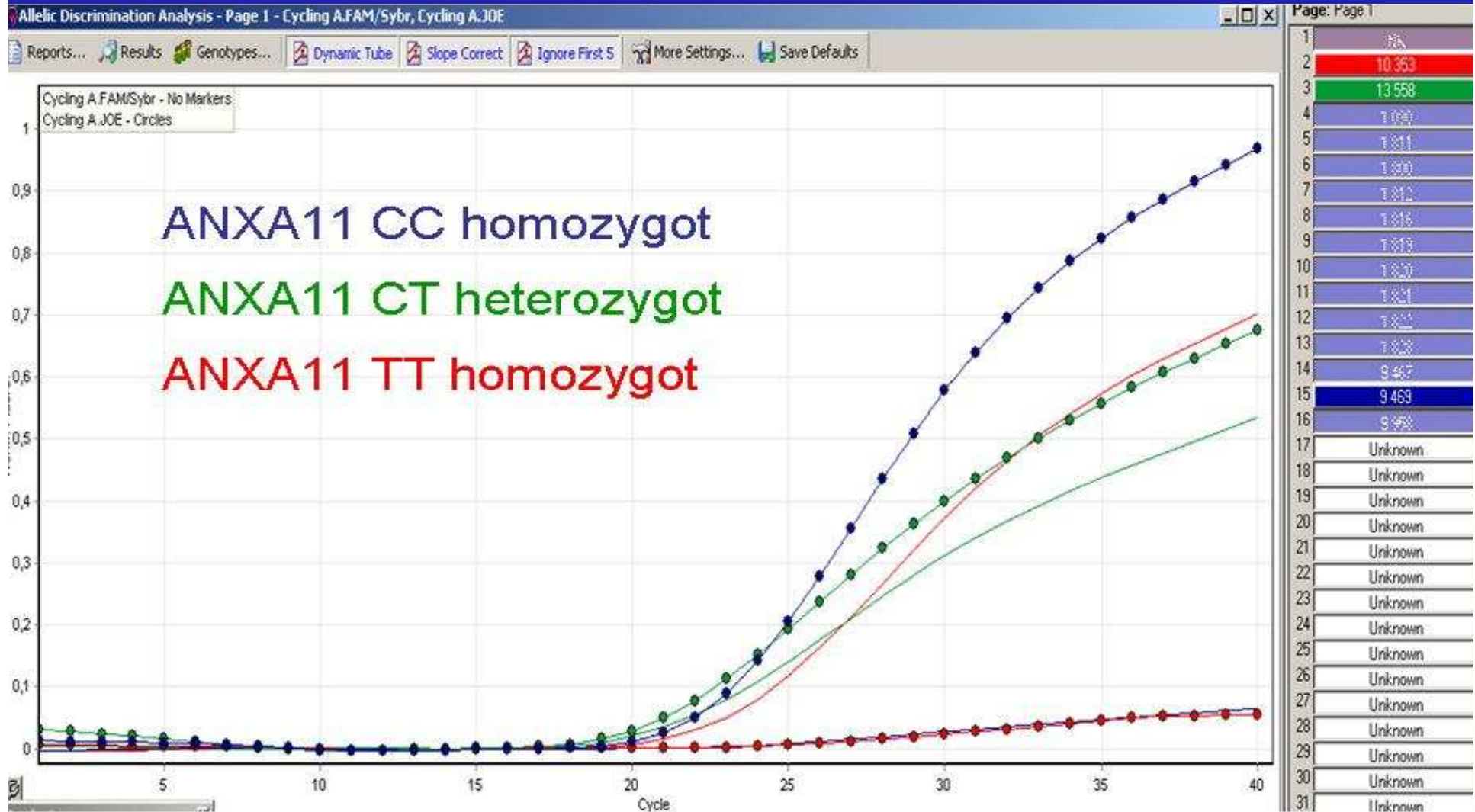
Soulad s H-W rovnováhou

Srovnání ANXA11 variant mezi pacienty a kontrolami

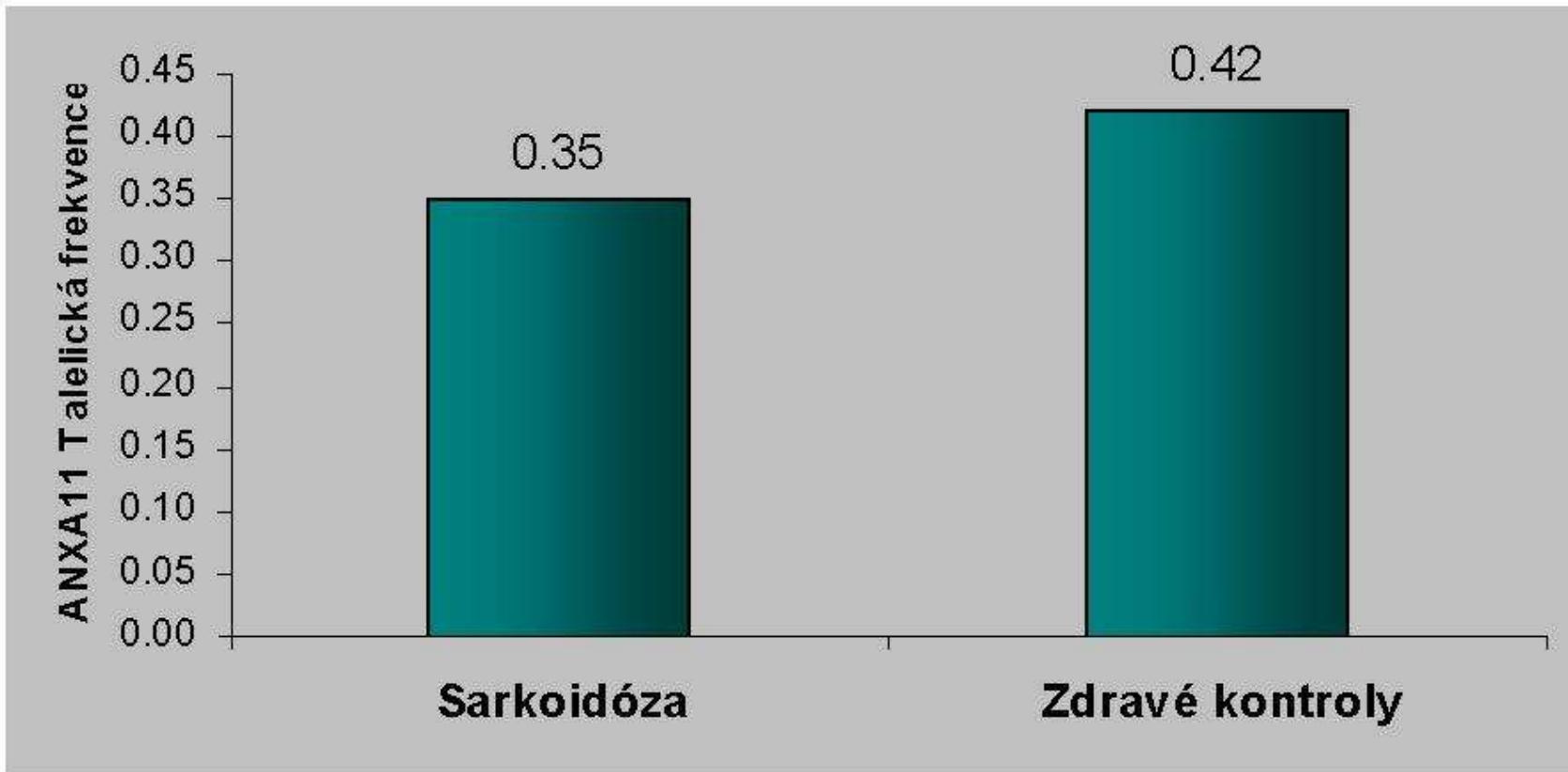
Sledování „**gene-dose**“ efektu

Subanalýza podle stádia plicního postižení a Löfgrenova syndromu

Genotypizace – qRT-PCR



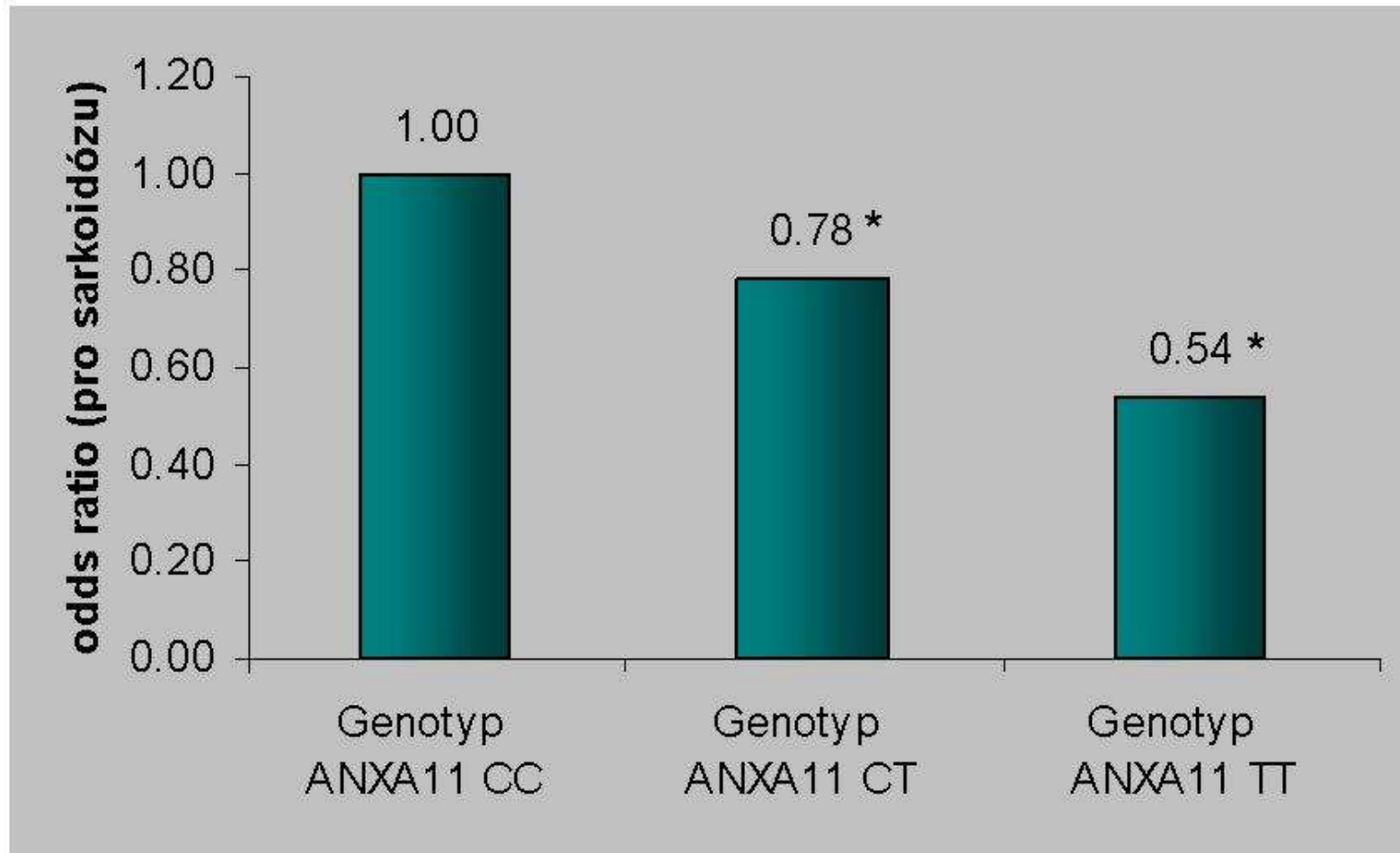
Srovnání zastoupení alely ANXA11 rs1049550 C/T (R230C) u pacientů se sarkoidózou a kontrolních jedinců



Sarkoidóza *versus* zdravé kontroly:

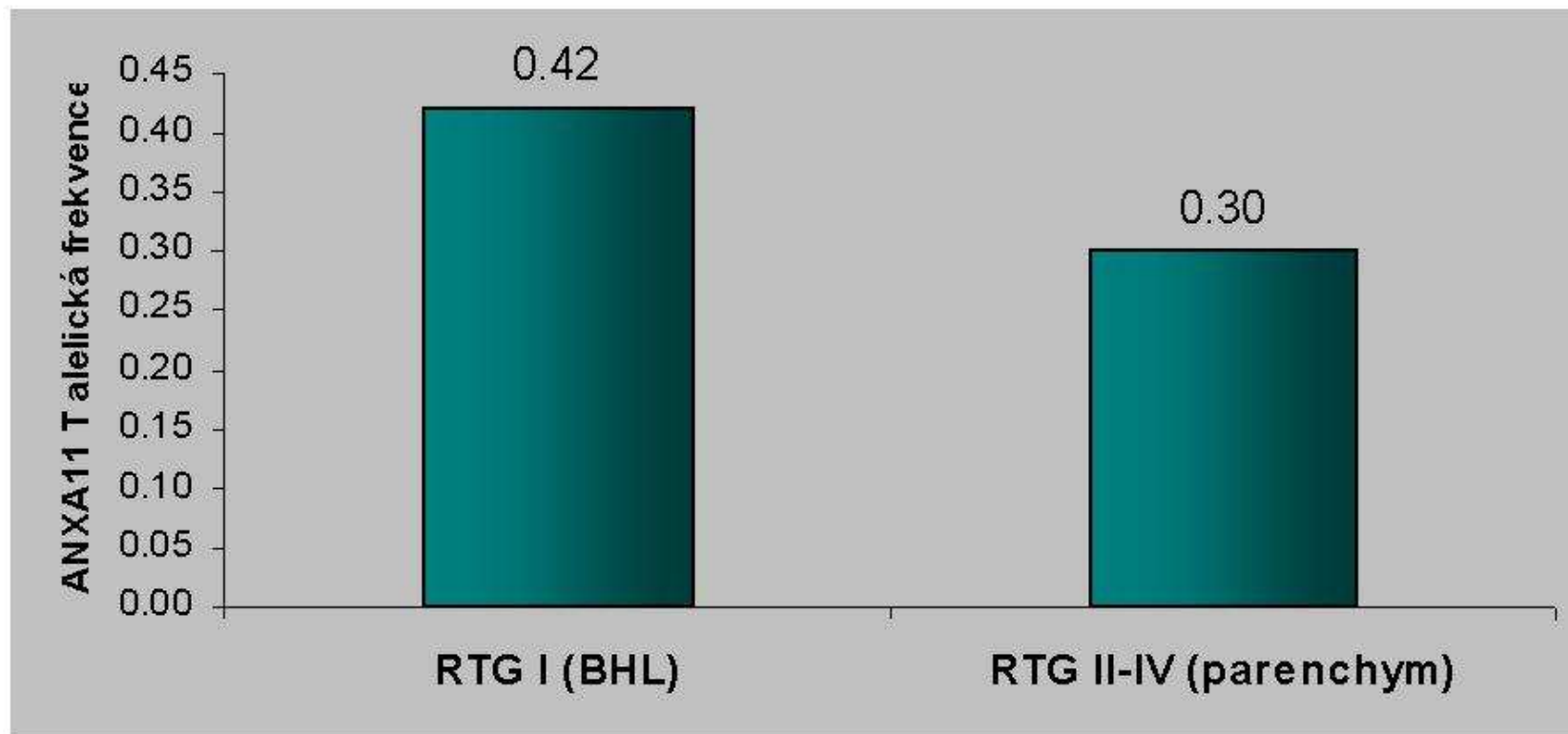
$p=0,04$; odds ratio = 0,77; 95%CI = 0,59-0,99

Závislost rizika (odds ratio) onemocnění sarkoidózou na počtu kopií varianty *ANXA11* rs1049550*T v genotypu - „gene-dose effect“



* Hodnota odds ratio pro onemocnění sarkoidózou normalizovaná na riziko onemocnění u jedinců s genotypem *ANXA11* CC (odds ratio = 1).

Zastoupení alely ANXA11 rs1049550*T v podskupinách pacientů se sarkoidózou podle RTG stádia plicního postižení



$p=0,01$; odds ratio = 0,61; 95%CI = 0,41-0,89

BHL – oboustranná hilová lymfadenopatie

Závěry

- Potvrdili jsme nálezy z celogenomové studie v německé populaci - alela *ANXA11* rs1049550 *T snižuje v evropských populacích riziko onemocnění sarkoidózou
- Ochranný efekt uvedené genové varianty vzrůstá s počtem jejích kopií v genotypu - „gene-dose effect“.
- Alela *ANXA11**T může onemocnění směřovat k prognosticky příznivějším formám (bez postižení plicního parenchymu) – k nezávislému ověření
- Mechanismus, jakým se gen *ANXA11* a jeho varianty uplatňují u sarkoidózy, bude nepochybně předmětem dalšího výzkumu.