

მარიამ ლულუნიშვილი <sup>1,2</sup>, ეკა კვარაცხელია <sup>1,3</sup>, თინათინ ტყემალაძე <sup>1,2</sup>, სანდრო სურმავა <sup>1</sup>,  
მაია ვაგუა <sup>3</sup>, ეკა მაისურაძე <sup>3</sup>, ელენე აბზიანიძე <sup>1</sup>

## შერჩეული ციტოკინების ღმ-ის მეთილირების პროფილი კისტური ფიბროზის დროს

<sup>1</sup> თსსუ მოლეკულური და სამედიცინო გენეტიკის დეპარტამენტი;

<sup>2</sup> თსსუ გ. ჯვანიას სახელობის პედიატრიული აკადემიური კლინიკა; <sup>3</sup> თსსუ ვ. ბახუტაშვილის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

Doi: <https://doi.org/10.52340/jecm.2023.03.06>

MARIAM GHUGHUNISHVILI <sup>1,2</sup>, EKA KVARATSKHELIA <sup>1,3</sup>, TINATIN TKEMALADZE <sup>1,2</sup>,  
SANDRO SURMAVA <sup>1</sup>, MAIA GAGUA <sup>3</sup>, EKA MAISURADZE <sup>3</sup>, ELENE ABZIANIDZE <sup>1</sup>

### DNA METHYLATION PROFILE OF SELECTED CYTOKINES IN CYSTIC FIBROSIS

<sup>1</sup>TSMU Department of Molecular and Medical Genetics; <sup>2</sup>TSMU G. Zhvania Pediatric Academic Clinic;

<sup>3</sup>TSMU V. Bakhutashvili Institute of Medical Biotechnology

#### SUMMARY

Cystic fibrosis (CF) is the most common life-shortening autosomal recessive disorder in Caucasians with an incidence of about 1:3,000 live births. The gene that encodes the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) protein is found on the human chromosome 7 q31.2. CF is characterized by recurrent pulmonary infections, elevated sweat chloride, pancreatic and hepatic insufficiency, intestinal abnormalities, failure to thrive, diabetes, meconium ileus (MI) and other glandular defects. Chronic airway dysfunction and inflammation are the main cause of morbidity and mortality of patients. This inflammation is characterized by an increased production of pro-inflammatory cytokines in the lung. The aim of the presented study is to identify the methylation status of the promoters of inflammatory and anti-inflammatory cytokines (IL-8, TNF $\alpha$  IL-10) and quantitative analysis of these cytokines in cystic fibrosis patients. DNA methylation analysis of cytokine promoters was performed by the methylation-specific polymerase chain reaction. DNA fragments were amplified using specific primers for methylated or unmethylated DNA. Methylation analysis revealed statistically significant hypomethylation of IL-8 and TNF $\alpha$  gene promoter regions, whereas IL-10 gene promoter CpG sites were hypermethylated in cystic fibrosis patients compared to control individuals. In conclusion, identification of disease-modifying epigenetic factors at early stages of disease crucial for finding new therapeutic solutions and personalized approach in treatment of patients with Cystic Fibrosis.

**Keywords:** DNA, methylation profile, cytokines, Cystic Fibrosis

კისტური ფიბროზი (CF) ყველაზე ხშირი აუტოსომურ-რეცესიული დაავადებაა თეთრკანიან პოპულაციას შორის, რომელიც გამომწვეულია კისტური ფიბროზის ტრანსმემბრანული მარეგულირებელი (*CFTR*) გენის მუტაციით [1]. ძირითადი პათოლოგიური პროცესი, რომელიც ავადობის სიმძიმეს და დაავადების ლეტალობას განაპირობებს, არის სასუნთქი გზების დისფუნქცია და მასთან დაკავშირებული ქრონიკული ანთებითი პროცესები [2]. კისტური ფიბროზის გამომწვევი *CFTR* გენის ყველაზე ხშირი მუტაციაა (~60-70%) F508del, რომლის დროსაც პროცესინგის დეფექტის გამო ცილის ძალზე მცირე რაოდენობა ექსპრესირდება მემბრანაზე [3]. საქართველოში 2012-2017 წლებში ნეონატალური სკრინინგის ფარგლებში კისტური ფიბროზით დიაგნოზირებულ პაციენტებში გამოვლინდა 1677delTA მუტაციის მაღალი სიხშირე [4], რაც შესაძლებელია დამფუძნებლის ეფექტით იყოს განპირობებული.

სასუნთქი გზების დაავადება კისტური ფიბროზის დროს ხასიათდება ქრონიკული ინფექციით და ანთებით, სადაც დომინირებს ნეიტროფილების ინფილტრაცია. ამ დროს გაზრდილია ანთებითი ციტოკინების და მედიატორების სინთეზი. რამდენიმე კვლევამ დაადასტურა, რომ ნახველსა და ბრონქოალვეოლური ამორეცხვის შედეგად მიღებულ სითხეში (BALF) ანთებითი ციტოკინების, როგორცაა ინტერლეიკინ-1 (IL-1), ინტერლეიკინ-6 (IL-6), ინტერლეიკინ-8 (IL-8), და სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი-ალფა (TNF $\alpha$ ), კონცენტრაცია მომატებულია კისტური ფიბროზით დაავადებულ პაციენტებში [5]. მათ სინთეზს ხელს უწყობს ტრანსკრიფციის ფაქტორი NF- $\kappa$ B, რომელიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობს უჯრედშიდა სიგნალების გადაცემაში ანთებითი

ციტოკინების წარმოქმნის დროს [6]. IL-10, IL-1-ის რეცეპტორის ანტაგონისტი ცილა (IRAP) და ხსნადი TNF $\alpha$  რეცეპტორი (TNFR) ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინებია, რომლებიც შედარებით დაქვეითებულია CF სასუნთქი გზების უჯრედებში [7]. IL-10-ის ძირითადი მოქმედება გამოიხატება I- $\kappa$ B-ს, NF- $\kappa$ B ინჰიბიტორის, სინთეზის გაზრდაში. IL-10-ის დაქვეითება იწვევს ანთებითი ციტოკინების გაზრდას NF- $\kappa$ B-ს დაქვეითებული ინჰიბიტორების გამო [8].

კისტური ფიბროზის ვარიანტული მანიფესტაცია, თუნდაც ერთი და იგივე გენოტიპის მქონე ინდივიდებში ბადებს ეჭვს, რომ CFTR გენის ფუნქციაზე და დაავადების ფენოტიპზე გავლენას ახდენს სხვა, გენეტიკური თუ ეპიგენეტიკური, მოდიფიკატორები [9,10]. ჩვენს მიერ წინა კვლევებში დადასტურდა დნმ-ის გლობალური მეთილირების და ინტერსპერსული ბირთვული ელემენტების მეთილირების ცვლილებები კისტური ფიბროზის დროს [11,12]. წარმოდგენილი კვლევის მიზანია ანთებითი და ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინების (IL-8, TNF $\alpha$ , IL-10) პრომოტორების მეთილირების დონეების იდენტიფიცირება და აღნიშნული ციტოკინების რაოდენობრივი ანალიზი კისტური ფიბროზით დაავადებულ პაციენტებში.

**კვლევის მასალა და მეთოდები.** კვლევაში მონაწილეობდა კისტური ფიბროზით დაავადებული 16 პაციენტი (ასაკი: 5 $\pm$ 5.8) და 16 ჯანმრთელი პირი. კვლევა ნებადართულია თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ეთიკის კომისიის მიერ. საკვლევი და საკონტროლო ინდივიდების უფლებამოსილმა წარმომადგენლებმა ხელი მოაწერეს ინფორმირებული თანხმობის ფორმას. ყველა პაციენტი გენოტიპირებული იყო CFTR გენის მიხედვით. შერჩეული პაციენტების გენოტიპები იყო შემდეგი: 1677 delTA და delF508 ჰომოზიგოტები და 1677delTA/delF508 კომპაუნდ-ჰეტეროზიგოტები. კვლევაში გამოყენებულ იქნა კისტური ფიბროზით დაავადებული პაციენტების და ჯანმრთელი მოხალისეების ვენიდან აღებული პერიფერიული სისხლიდან მიღებული CD4+ T-ლიმფოციტები.

**გენომური დნმ-ის იზოლირება T-ლიმფოციტებიდან.** დნმ-ის ექსტრაქცია განხორციელდა დნმ-ის ექსტრაქციის რეაქტივების ნაკრებით Blood and tissue mini kit-ით (Qiagen, Germany) მწარმოებლის პროტოკოლის მიხედვით.

**დნმ-ის დამუშავება ბისულფიტით.** დნმ-ის მეთილირების შესწავლა მოხდა ბისულფიტით დამუშავების გზით სტანდარტული რეაქტივების ნაკრების საშუალებით (EpiTect Fast DNA Bisulfite Kit, Qiagen, USA), რის შედეგადაც არამეთილირებული ციტომინი ურაცოლად გარდაიქმნება, ხოლო მეთილირებული ციტომინი (5 მეთილციტომინი) უცვლელად შენარჩუნდება.

**ციტოკინების რაოდენობრივი ანალიზი.** საკვლევი და საკონტროლო პირების უჯრედული კულტურის ციტოკინების რაოდენობრივი ანალიზი განხორციელდა ELISA მეთოდით, მწარმოებლის პროტოკოლის მიხედვით (Abcam, USA)

**ციტოკინების დნმ-ის მეთილირების პროფილირება მეთილირება სპეციფიკური PCR-ით.** ციტოკინების პრომოტორების დნმ-მეთილირების ანალიზი განხორციელდა მეთილირება სპეციფიკური პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით. დნმ-ის ფრაგმენტები ამპლიფიცირებული იქნა სპეციფიკური პრაიმერების გამოყენებით მეთილირებული ან არამეთილირებული დნმ-ისთვის (ცხრ.1). თითოეული რეაქციისთვის გამოყენებული იქნა ბისულფიტით დამუშავებული 100ნგ დნმ, 1 mM თითოეული პრაიმერი, 1X მასტერ მიქსი, საბოლოო მოცულობა 25 $\mu$ ლ. PCR-პირობები იყო შემდეგი: 95 $^{\circ}$ C X 5 წთ.; 30 ციკლი X (95 $^{\circ}$ C X 45 წმ, 47 $^{\circ}$ C (IL-8), 57 $^{\circ}$ C(TNF $\alpha$ ), 50 $^{\circ}$ C(IL-10)X 45 წმ, 72 $^{\circ}$ C X 45 წმ); და 72 $^{\circ}$ C X 7 წთ. მიღებული პროდუქტის ანალიზი განხორციელდა 3%-იანი აგაროზას გელის გამოყენებით.

**ცხრილი 1. მეთილირება სპეციფიკური PCR-ისთვის გამოყენებული პრაიმერები**

|                 | IL-8                  | TNF $\alpha$              | IL-10                      |
|-----------------|-----------------------|---------------------------|----------------------------|
| mF(5'-3')       | AAAATTTTCGTTATATTCG   | TTAGAAGATTTTTCGGAATC      | GGGATTATAGGTATTTGTTATTATGT |
| mR(5'-3')       | TCCGATAACTTTTTATATCAT | TATCTCGATTCTTCTCCATCG     | AAAAAAATCTACCTCCCTTATCAAA  |
| uF(5'-3')       | AAAATTTTGTATATTTTG    | GGTTTAGAAGATTTTTCGGAATT   | GGGATTATAGGTATTTGTTATTACGT |
| uR(5'-3')       | TCCAATAACTTTTTATATCAT | TCTATCTCAATTTCTTCTCCATCAC | AAAAAATCTACCTCCCTTATCGAA   |
| CpG საიტები     | -136                  | -245, -239                | -408, -387, -385, -355     |
| ამპლიკონის ზომა | 173 bp                | 120 bp                    | 187 bp                     |

mF, მეთილირებული ფორვარდ პრაიმერი; mR, მეთილირებული რევერს პრაიმერი; uF, არამეთილირებული ფორვარდ პრაიმერი; uR არამეთილირებული რევერს პრაიმერი; bp, ფუძე წყვილი.

**სტატისტიკური ანალიზი.** სტატისტიკური ანალიზი განხორციელდა SPSS პროგრამული უზრუნველყოფის 17.0 ვერსიის გამოყენებით (SPSS, Chicago, IL, USA). რაოდენობრივი მონაცემები წარმოდგენილი იყო, როგორც საშუალო  $\pm$  სტანდარტული გადახრა (SD). P მნიშვნელობა  $<0.05$  ჩაითვადა სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად.

**მიღებული შედეგები:** პაციენტების კლინიკური და დემოგრაფიული მახასიათებლები მოცემულია ცხრილში 2. კისტური ფიბროზით დაავადებული ყველა პირი გენოტიპირებული იყო CFTR გენის მიხედვით. პაციენტების სტრუქტურული განხორციელება მათი გენოტიპების შესაბამისად.

**ცხრილი 2. პაციენტების კლინიკურ-დემოგრაფიული მახასიათებლები**

|   |  |   |  |
|---|--|---|--|
| პაციენტების რაოდენობა                     | 16   |   |  |
| სქესი n                                   | მამრობითი<br>7                                   | მდედრობითი<br>9                               |  |
| ასაკი (წლის) mean $\pm$ SD                | 5 $\pm$ 4.8                                      |   |  |
| ასაკი დიაგნოზის დასმის დროს mean $\pm$ SD | 2 $\pm$ 1.6                                      |   |  |
| ეთნიკურობა                                | ქართველი   |   |  |
| ილუსი                                     | დიახ<br>12%                                      | არა<br>88%                                    |  |
| ოფლში ქლორის შემცველობა mean $\pm$ SD     | 68.42 $\pm$ 10.8 მმოლ/ლ                          |   |  |
| განავალში ელასტაზის დონე                  | დაქვეითებული<br>23%                              | ნორმა<br>5 %                                  | არ არის ცნობილი<br>72%                   |
| ქრონიკული სასუნთქი გზების ინფექციები      | დიახ<br>68%                                      | არა<br>32%                                    |  |
| P.aeruginosa ქრონიკული ინფექცია           | დადებითი<br>40%                                  | უარყოფითი<br>23%                              | არ არის ცნობილი<br>37%                   |
| CFTR მუტაცია                              | 1677delTA<br>ჰომოზიგოტი<br>4 პაციენტი<br>delF508 | ჰომოზიგოტი<br>2 პაციენტი<br>1677delTA/delF508 | კომპაუნდი<br>ჰეტეროზიგოტი<br>10 პაციენტი |

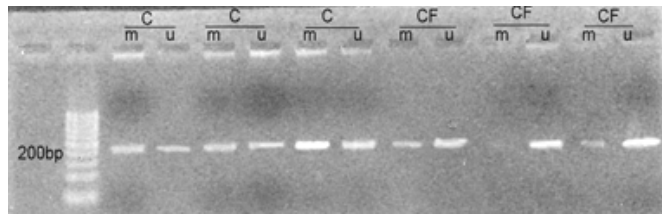
კვლევის შედეგებმა გამოავლინა, რომ IL-8 და TNF $\alpha$ -ს შრატის დონე CF პაციენტებში მნიშვნელოვნად მაღალი იყო საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. გარდა ამისა, CF-ის მქონე პირებს IL-10-ის დონე დაქვეითებული ჰქონდათ კონტროლთან შედარებით (P=0.004) (ცხრ. 3).

**ცხრილი 3. ციტოკინების რაოდენობრივი ანალიზი**

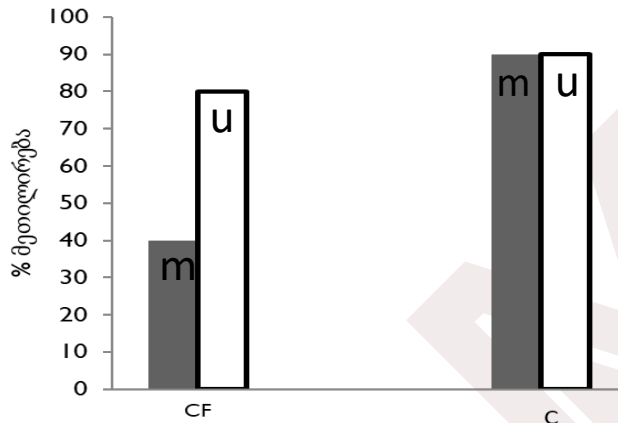
|                      | ჯანმრთელი კონტროლები | კისტური ფიბროზი  | P      |
|----------------------|----------------------|------------------|--------|
| IL-8 (pg/ml)         | 8.0 $\pm$ 4.1        | 24 $\pm$ 5.1     | 0.0002 |
| TNF $\alpha$ (pg/ml) | 14.9 $\pm$ 12.1      | 115.8 $\pm$ 20.4 | 0.0001 |
| IL-10(pg/ml)         | 15.8 $\pm$ 5.1       | 5.6 $\pm$ 3.4    | 0.004  |

ციტოკინების პრომოტორის მეთილირების ანალიზით დადგინდა, რომ CF პაციენტების CD4+ T ლიმფოციტებში როგორც IL-8-ს, ასევე TNF $\alpha$ -ს გენების პრომოტორული რეგიონები მნიშვნელოვნად იყო ჰიპომეთილირებული ჯანმრთელ კონტროლებთან შედარებით (სურათი 1, ცხრილი 4).

(A)



(B)



**სურათი 1.** (A) IL-8-ის ბენდები მეტილირება სპეციფიკური პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით. C, კონტროლი; CF, კისტური ფიბროზი; M, მეტილირებული; U, არამეტილირებული. (B) IL-8 გენის პრომოტორის მეტილირების დონეები ანტი-CD3/ანტი-CD28 სტიმულირებულ CD4+ T- უჯრედებში კისტური ფიბროზით დაავადებული პირებიდან და ჯანმრთელი სუბიექტებიდან.

ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინის, IL-10-ის, პრომოტორის მეტილირების ანალიზმა გამოავლინა, რომ -408, -387, -385, -355 რეგიონის CpG საიტები სტატისტიკურად სარწმუნოდ იყო ჰიპერმეტილირებული დაავადებულ პაციენტებში ჯანმრთელებთან შედარებით (ცხრ. 4).

**ცხრილი 4. პრომოტორის მეტილირების ანალიზი**

| პრომოტორული რეგიონის მეტილირებული CpG-ს დონეები (%) |                      |                 |       |
|---|----------------------|-----------------|-------|
|   | ჯანმრთელი კონტროლები | კისტური ფიბროზი | P     |
| IL-8  | 80 ± 10.1            | 40 ± 12.8       | 0.045 |
| TNFα  | 71 ± 15.2            | 23 ± 11.2       | 0.001 |
| IL-10   | 15 ± 7.5             | 48 ± 13.5       | 0.002 |

**მიღებული შედეგების განხილვა და დასკვნები:** CF-ის დროს ანთების ყველაზე დამახასიათებელი თვისება სასუნთქ გზებში ნეიტროფილების ინფილტრაციაა. ანთებითი მედიატორების და პროტეაზების გადაჭარბებული გამოთავისუფლება მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ქსოვილის დაზიანებაში. დაავადების გამომწვევ პათოგენზე იმუნური უჯრედების აბერანტული პასუხები, სავარაუდოდ, განპირობებულია ანთებითი და ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინების დისბალანსით [5]. CF-ის უჯრედული ხაზები წარმოქმნის უფრო მეტ ანთებით ციტოკინებს ვიდრე ანთების საწინააღმდეგოს *Pseudomonas aeruginosa*-ზე საპასუხოდ. CF-ის მქონე პაციენტებში შემცირებულია IL-10-ის დონე ჯანმრთელ კონტროლებთან შედარებით [8].

წარმოდგენილ კვლევაში ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა ანთებითი და ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინების პრომოტორის მეტილირების დონეები. როგორც მოსალოდნელი იყო, მეტილირების ანალიზით გამოვლინდა IL-8-ს და TNFα-ს გენების პრომოტორული უბნების სტატისტიკურად სარწმუნო ჰიპომეტილირება, მაშინ როცა IL-10 გენის პრომოტორის CpG საიტები ჰიპერმეტილირებული იყო კისტური ფიბროზით დაავადებულებში საკონტროლო ინდივიდებთან შედარებით.

კისტური ფიბროზის პათოფიზიოლოგიაში მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს ციტოკინების სეკრეციის დისბალანსს. ბოლოდროინდელმა კვლევებმა დაადასტურა ეპიგენეტიკური მოდიფიკაციების როლი ანთებითი დაავადებების, მათ შორის, კისტური ფიბროზის დროს [9,11]. ამრიგად, დაავადების ადრეულ ეტაპზე დაავადების მამოდიფიცირებელი ეპიგენეტიკური ფაქტორების გამოვლენა გადამწყვეტია კისტური ფიბროზით დაავადებული პაციენტების მკურნალობის ახალი თერაპიული გზების ძიებისთვის და პერსონალიზებული მიდგომების შესამუშავებლად.

**კვლევა განხორციელდა შოთა რუსთაველის საქართველოს ეროვნული სამეცნიერო ფონდის მხარდაჭერით (გრანტი #FR-22-2601)**

#### გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M, Tsui LC. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. Science. Sep 8;245(4922):1073–1080.
2. Hartl D., Gaggar A., Bruscia E., Hector A., Marcos V., Jung A., Greene C., McElvaney G., Mall M., Döring G. (2012) Innate immunity in cystic fibrosis lung disease; J of Cystic Fibrosis. 11(5):363–382.
3. Farinha CM, Amaral MD. Most F508del-CFTR is targeted to degradation at an early folding checkpoint and independently of calnexin. Mol Cell Biol 2005; 25:5242-5252.
4. Khurtsilava I., Kvlividze O., Parulava Ts., Margvelashvili L. (2020) CFTR mutations and clinical manifestations in children diagnosed after neonatal screening. J. Exp and clinical medicine, 2:39-44.
5. Yaqin Xu and Stefan Worgall (2012). Immune Dysfunction in Cystic Fibrosis, Cystic Fibrosis - Renewed Hopes Through Research, Dr. Dinesh Sriramulu (Ed.), ISBN: 978-953-51-0287-8,
6. Courtney JM, Ennis M, Elborn JS. Cytokines and inflammatory mediators in cystic fibrosis. J Cyst Fibros. 2004 Dec;3(4):223-31. doi: 10.1016/j.jcf.2004.06.006. PMID: 15698939.
7. Taggart C, Coakley RJ, Grealley P, Canny G, O'Neill SJ, McElvaney NG. Increased elastase release by CF neutrophils is mediated by tumour necrosis factor-alpha and interleukin-8. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2000;278:L33–41.
8. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. J Immunol 1991;147:3815–22.
9. Magalhães, M., Rivals, I., Claustres, M. et al. DNA methylation at modifier genes of lung disease severity is altered in cystic fibrosis. Clin Epigenet 2017; 9:19.
10. Pineau F, Caimmi D, Taviaux S, Reveil M, Brosseau L, Rivals I, Drevait M, Vachier I, Claustres M, Chiron R, De Sario A. DNA Methylation at ATP11A cg11702988 Is a Biomarker of Lung Disease Severity in Cystic Fibrosis: A Longitudinal Study. Genes. 2021; 12(3):441.
11. Ghughunishvili M., SurmavaS., Tkemaladze T., Gagua M., Abzianidze E., Kvaratskhelia E. DNA methylation profile in Cystic Fibrosis patients with C677T variant of MTHFR gene2020, European Journal of Human Genetics. 2020; 28:740-741.

მარიამ ლულუნიშვილი <sup>1,2</sup>, ეკა კვარაცხელია <sup>1,3</sup>, თინათინ ტყემალაძე <sup>1,2</sup>, სანდრო სურმავა <sup>1</sup>,  
მაია გაგუა <sup>3</sup>, ეკა მაისურაძე <sup>3</sup>, ელენე აბზიანიძე <sup>1</sup>

**შერჩეული ციტოკინების დნმ-ის მეთილირების პროფილი კისტური ფიბროზის დროს**

<sup>1</sup> თსსუ მოლეკულური და სამედიცინო გენეტიკის დეპარტამენტი;

<sup>2</sup> თსსუ გ.ყვანიას სახელობის პედიატრიული აკადემიური კლინიკა; <sup>3</sup> თსსუ ვ.ბახუტაშვილის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

#### რეზიუმე

კისტური ფიბროზი (CF) არის სიცოცხლისთვის საშიში, ყველაზე გავრცელებული აუტოსომური რეცესიული დაავადება თეთრკანიან პოპულაციაში, რომლის სიხშირეა დაახლოებით 1:3000. გენი, რომელიც კოდირებს კისტური ფიბროზის ტრანსმემბრანული გამტარობის მარეგულირებელ (CFTR) ცილას, გვხვდება 7 q31.2 ქრომოსომაზე. CF ხასიათდება სასუნთქი გზების

მორეციდივე ინფექციებით, მომატებული ქლორით ოფლში, პანკრეასის და ღვიძლის უკმარისობით, ნანულავის ანომალიებით, დიაბეტით, მეკონიუმის გაუვალობით (MI) და სხვა სიმპტომებით. სასუნთქი გზების ქრონიკული დისფუნქცია და ანთება პაციენტების ავადობისა და სიკვდილიანობის ძირითადი მიზეზია. ამ ანთებას ახასიათებს ფილტვებში ანთებითი ციტოკინების გაზრდილი სინთეზი. წარმოდგენილი კვლევის მიზანია ანთებითი და ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინების (IL-8, TNF $\alpha$  IL-10) პრომოტორების მეთილირების დონეების იდენტიფიცირება და ამ ციტოკინების რაოდენობრივი ანალიზი კისტური ფიბროზით დაავადებულ პაციენტებში. ციტოკინების პრომოტორების დნმ-ის მეთილირების ანალიზი განხორციელდა მეთილირება სპეციფიკური პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით. დნმ-ის ფრაგმენტები ამპლიფიცირდა მეთილირებული ან არამეთილირებული დნმ-ის სპეციფიკური პრაიმერების გამოყენებით. მეთილირების ანალიზმა გამოავლინა IL-8 და TNF $\alpha$  გენის პრომოტორული რეგიონების სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი ჰიპომეთილირება, მაშინ როცა IL-10 გენის პრომოტორის CpG საიტები ჰიპერმეთილირებული იყო კისტური ფიბროზით დაავადებულ პაციენტებში საკონტროლო პირებთან შედარებით. ამრიგად, დაავადების ადრეულ ეტაპზე დაავადების მამოდიფიცირებელი ეპიგენეტიკური ფაქტორების იდენტიფიკაცია გადამწყვეტია კისტური ფიბროზით დაავადებული პაციენტების მკურნალობის ახალი თერაპიული გზების ძიებისთვის და პერსონალიზებული მიდგომების შესამუშავებლად.

2