

©С.А.Левицька, А.І.Гоженко

ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ С-511Т ГЕНА ІL-1β НА ПРОДУКЦІЮ ІНТЕРЛЕЙКІНА ІL-1β У ДІТЕЙ, ЩО ЧАСТО І ТРИВАЛО ХВОРІЮТЬ*Буковинський державний медичний університет, м.Чернівці
Український НДІ медицини транспорту, м.Огеса*

ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ С-511Т ГЕНА ІL-1β НА ПРОДУКЦІЮ ІНТЕРЛЕЙКІНА ІL-1β У ДІТЕЙ, ЩО ЧАСТО І ТРИВАЛО ХВОРІЮТЬ. Проведене дослідження впливу однонуклеотидного поліморфізму гена ІL-1β С-511Т на продукцію ІL-1β у 80 дітей із частими рецидивами респіраторних вірусних інфекцій і 35 практично здорових дітей. Встановлено, що наявність «мутантного» Т-алеля однонуклеотидного поліморфізму С-511Т гена ІL-1β асоціює із збільшенням продукції ІL-1β лімфоцитами. Домінуючим генотипом у практично здорових дітей є гетерозиготний СТ-варіант С-511Т поліморфізму гена ІL-1β (62,86%), в той час як у дітей із частими і пролонгованими епізодами ГРВІ домінує СС-гомозиготний генотип даного поліморфізму (51,25%).

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА С-511Т ГЕНА ІL-1β НА ПРОДУКЦИЮ ИНТЕРЛЕЙКИНА ІL-1β В ДЕТЕЙ, ЧАСТО И ДЛИТЕЛЬНО БОЛЕЮЩИХ. Проведено исследование влияния однонуклеотидного полиморфизма гена ІL-1β С-511Т на продукцию ІL-1β у 80 детей с частыми рецидивами респіраторных вирусных инфекций и 35 практически здоровых детей. Установлено, что наличие «мутантной» Т-аллели однонуклеотидного полиморфизма С-511Т гена ІL-1β ассоциирует с увеличением продукции ІL-1β лимфоцитами. Доминирующим генотипом у практически здоровых детей является гетерозиготный СТ-вариант С-511Т полиморфизма гена ІL-1β (62,86%), в то время как у детей с частыми и пролонгированными эпизодами респіраторных инфекций доминирует СС-гомозиготный генотип данного полиморфизма (51,25%).

INFLUENCE of C-511T POLYMORPHISM Of The INTERLEUKIN 1β GENE On PRODUCTION of INTERLEUKIN 1β of CHILDREN WITH FREQUENT RECURRENCE of RESPIRATORY INFECTION. An analysis of the influence of C-511T single nucleotide polymorphism of the interleukin 1β gene on production of interleukin 1β was carried out in 80 children with frequent recurrence of respiratory infection and 35 healthy children. The association of the mutant T-allele of the C-511T single nucleotide polymorphism of the interleukin 1β gene and increase of production of interleukin 1β was found. Dominant genotype in healthy children was heterozygous CT-option C-511T polymorphism of ІL-1β (62,86%), while in children with frequent and prolonged episodes of respiratory infections was dominated by CC homozygous genotype of this polymorphism (51.25 %).

Ключові слова: генетичний поліморфізм, ІL-1β, рецидивуючі респіраторні інфекції.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, ІL-1β, рецидивирующие респіраторные инфекции.

Key words: genetic polymorphism, interleukin 1β, recurrence of respiratory infection.

ВСТУП. Впродовж останніх десятиліть на Україні спостерігається неухильне збільшення захворюваності на респіраторні вірусні інфекції (РВІ) серед дітей [1]. Реалізація гострого запалення в дихальних шляхах дитини залежить не тільки від потрапляння в організм антигену, але й від взаємодії чинників, що знижують захист слизової оболонки респіраторного тракту та сприяють масивній контамінації та колонізації слизової вірусною та бактеріальною флорою [2]. При цьому сила і спрямованість імунних реакцій у вогнищі запалення, які в значній мірі залежать від балансу продукції прозапальних і протизапальних цитокінів, можуть бути визначальними щодо розрешення респіраторної інфекції [3].

В основі рівня продукції інтерлейкінів, що формують особливості запальної відповіді при розвитку рецидивів респіраторних інфекцій у дітей, що часто і тривало хворіють (ЧТХ), може лежати генетична детермінованість рівнів експресії певних цитокінів [4], зокрема ІL-1β – одного з основних прозапальних інтерлейкінів [5].

Метою дослідження було визначення впливу поліморфізму С-511Т гена ІL-1β на продукцію ІL-1β у дітей, що часто і тривало хворіють.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Проведене дослідження 115 пацієнтів, поділених на дві групи. Дослідну групу склали 80 ЧТХ дітей, у котрих за даними медичної документації зафіксовано 5 і більше епізодів ГРВІ за останній рік

з тривалістю епізоду не менше 7 днів. В контрольну групу ввійшли 35 дітей, у котрих при спостереженні протягом одного року зафіксовано менше п'яти короткотривалих епізодів ГРВІ. За віковим і статевим критеріями групи порівняння були співставні ($\chi^2=0,97$; $p=1,00$).

Матеріалом імунологічного дослідження була сироватка крові. Концентрацію ІL-1β визначали за допомогою діагностичної тест-системи (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург, Росія) методом твердофазного імуноферментного аналізу.

Матеріалом молекулярно-генетичного дослідження була ДНК, виділена з лімфоцитів периферійної венозної крові пацієнтів за допомогою наборів реагентів «ДНК-сорб-В». ПЦР-реакцію проводили з використанням Таq-ДНК-полімерази і специфічних праймерів [6]. Ампліфікатор програмували відповідно температурних режимів приєднання праймерів до одноланцюгових ділянок ДНК. При вивченні гена ІL-1β отримували продукт ампліфікації довжиною 305bp від 562-ї до 756-ї пари нуклеотидів промоторної зони. Дискримінацію алелів проводили за допомогою специфічної ендонуклеази рестрикції АВАІ («Fermentas», Литва) в реакції гідролізу. Рестрикційні продукти ПЛР розділяли електрофорезом в 2% агарозному гелі в присутності трис-боратного буфера (ТТБ), концентрованого бромідом етидію. Фрагменти візуалізували в присутності маркера молекулярних мас 100-1000 bp («СибЭнзим», Росія).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми «Statistica 6» із підрахунком критеріїв Стьюдента, Shapiro-Wilk, Mann-Whitney, χ^2 [7]. Ідентифікація досліджуваного показника як маркера ризику оцінювали методами клінічної епідеміології за результатами обчислення відношення шансів (OR) [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що вміст IL-1 β у сироватці периферичної венозної крові у ЧТХ дітей був нижчим та статистично значимо відрізнявся від показника контрольної групи ($p < 0,05$; табл. 1). Таким чином, розвиток частих і пролонгованих епізодів ГРВІ у дитини супроводжується зниженням продукції IL-1 β – одного з основних прозапальних цитокінів (табл. 1).

Потенційним фактором ризику розвитку рецидивів ГРВІ у дітей може бути зниження продукції IL-1 β лімфоцитами периферичної венозної крові. Зниження продукції IL-1 β встановлювали при концентрації цитокіну нижчою 57,78 пг/мл (нижній кuartіль контрольної групи). Зниження продукції IL-1 β виявили у 27 дітей (33,75%) з РРІ. За результатами показника відношення шансів зниження вмісту IL-1 β в сироватці периферичної венозної крові можна вважати маркером ризику розвитку рецидивів респіраторних інфекцій у дітей (OR-2,65, 95%ДІ – 0,99-7,03).

При дослідженні асоціації між продукцією IL-1 β лімфоцитами периферичної крові та генетичним поліморфізмом С-511Т гена IL-1 β встановлено, що продукція цитокіну при гетерозиготному генотипі була найвищою та статистично значимо відрізнялася від

відповідного показника гомозигот за «диким» С-алелем (73,89 \pm 2,34пг/мл проти 62,70 \pm 2,36пг/мл відповідно; $p < 0,05$; табл. 2).

Так само вищим був вміст IL-1 β при гомозиготному варіанті ТТ, проте без статистично значимої різниці між продукцією інтерлейкіну СС- і ТТ-гомозиготами ($t=1,50$; $p > 0,05$). Так само не виявлено статистично значимої різниці між продукцією цитокіну гомозиготами за мінорним Т-алелем і гетерозиготами ($t=1,03$; $p > 0,05$; табл. 2). Перевірка нормальності розподілу величин за допомогою критерію Shapiro-Wilk дозволила використовувати методи параметричної статистики для порівняння середніх величин.

Відсутність тиміну в 511 позиції промоторної зони гена IL-1 β асоціювала із зменшенням продукції відповідного цитокіну лімфоцитами периферичної крові. В той же час найвищий рівень продукції IL-1 β був характерний для гетерозиготного варіанта генотипу.

Аналіз однонуклеотидного поліморфізму С-511Т гена IL-1 β серед груп дослідження довів, що найбільша доля гомозигот за «диким» С-алелем виявлена серед ЧТХ дітей (51,25% проти 22,86% в контрольній групі; табл. 3.). При цьому СС-гомозиготи характеризувалися найнижчим рівнем продукції IL-1 β (табл. 3). Статистично значимої різниці в продукції досліджуваного цитокіну серед хворих з гетерозиготним та ТТ-гомозиготним варіантами генотипів не знайдено.

Так само не виявлено асоціації між рівнем продукції IL-1 β лімфоцитами периферичної крові та С-511Т поліморфізмом гена IL-1 β в контрольній групі (табл. 3).

Таблиця 1. Вміст IL-1 β в сироватці крові

Група дослідження	IL-1 β (пг/мл) (M \pm m)	σ	WSW	MWT
ЧТХ діти (n=80)	64,59 \pm 1,64	14,66	0,96 P>0,05	871 p=0,00
Контрольна група (n=35)	75,93 \pm 3,07	18,15	0,95 P>0,05	

Примітки: M – середнє арифметичне, m – стандартна похибка середнього, σ – стандартне відхилення, WSW – W-критерій Shapiro-Wilk, MWT – критерій Mann-Whitney.

Таблиця 2. Вміст IL-1 β в сироватці крові пацієнтів з різними типами генотипу

Генотип	IL-1 β (пг/мл) (M \pm m)	y	WSW
СС (n=49)	62,70 \pm 2,36	16,53	0,89; $p < 0,01$
СТ (n=47)	73,89 \pm 2,34	16,20	0,93; $p < 0,01$
ТТ (n=19)	69,37 \pm 3,72	16,23	0,93; $p < 0,01$
Критерій Стьюдента	t(CC-CT)-3,39; p(CC-CT)-0,001; t(CT-TT)-1,03; p(CT-TT)-0,31; t(CC-TT)-1,50; p(CC-TT)-0,14;		

Примітки: M – середнє арифметичне, m – стандартна похибка середнього, σ – стандартне відхилення, WSW – W-критерій Shapiro-Wilk.

Таблиця 3. Вміст IL-1 β в сироватці крові в залежності від генотипу

Показник	Генотип	Кількість хворих, n (%)	IL-1 β (пг/мл) (M \pm m)	Статистична обробка
ЧТХ діти; n=80(%)	СС	41 (51,25)	60,60 \pm 2,52	p(CC-CT)<0,001; p(CT-TT)>0,05; p(CC-TT)>0,05
	СТ	25 (31,25)	70,45 \pm 2,02	
	ТТ	14 (17,50)	65,83 \pm 3,75	
Контрольна група; n=35(%)	СС	8 (22,86)	73,45 \pm 5,29	p(CC-CT)>0,05; p(CC-TT)>0,05; p(CT-TT)>0,05
	СТ	22 (62,86)	76,6 \pm 4,16	
	ТТ	5 (14,28)	79,28 \pm 8,72	

Зменшення продукції IL-1 β , характерне для СС-гомозигот С-511Т поліморфізму гена IL-1 β , може призводити до зниження протиінфекційного захисту верхніх дихальних шляхів та зумовлювати розвиток частих рецидивів респіраторних інфекційних процесів.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток рецидивів респіраторних інфекцій у дітей відбувається на фоні пригнічення синтезу IL-1 β .

2. Домінуючим генотипом у практично здорових дітей є гетерозиготний СТ-варіант С-511Т поліморфізму гена IL-1 β , в той час як у дітей із частими і

продовжуваними епізодами ГРВІ домінує СС-гомозиготний генотип даного поліморфізму.

3. Наявність «мутантного» Т-алеля однонуклеотидного поліморфізму С-511Т гена IL-1 β асоціює із збільшенням продукції відповідного цитокіну лімфоцитами периферичної венозної крові.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. Виявлення патофізіологічних імунологічних та генетичних особливостей розвитку рецидивів респіраторних вірусних інфекцій у дітей дозволить покращити ефективність реабілітаційних та профілактичних заходів, зменшити частоту рецидивів та частоту розвитку ускладнень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Шульдякова О.Г. Респіраторні інфекції у дітей / О.Г.Шульдякова / Лекарственные средства, применяемые при вирусных заболеваниях; под. ред. М.Г.Романцова, Ф.И.Ершова. – М., 2007. – С.233-277.

2. Le Souef P.N. Risk factors and epidemiology / P.N.Le Souef // Med J Aust. – 2002. – Vol.16, Suppl.177. – P.40-41.

3. Otto B.A. The role of cytokines in chronic rhinosinusitis with nasal polyps / B.A.Otto, S.E.Wenzel // Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2008. - Vol. 16, №3. – P.270-274.

4. Mfuna Endam L. Association of IL1A, IL1B, and TNF gene polymorphisms with chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis: A replication study / L.Mfuna Endam, C.Cormier, Y.Bosse, A.Filali-Mouhim, M.Desrosiers // Arch Otolaryngol Head Neck Surg. – 2010. – Vol. 136(2). – P. 187-192.

5. Левицька С.А. Поліморфізм С-590Т гена інтерлейкіну 4 у хворих на хронічні запальні процеси біляносових пазух / С.А.Левицька, Л.П.Сидорчук, В.В.Костенко // Клінічна та експериментальна патологія. -2011.-Т.Х, №2(36), ч.1.-С.52-55.

6. Tewfik M.A. Genetics of chronic rhinosinusitis: a primer / M.A.Tewfik, Y.Bosse, H.Al-Shemari, M.Desrosiers // J.Otolaryngol.Head.Neck.Surg. - 2010. – Vol.39, №1. – P.62-68.

7. Халафян А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник / Халафян А.А. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.,ил.

8. Флетчер Р. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины / Р.Флетчер, С.Флетчер, Э.Вагнер; пер. с англ. Ю.Б.Шевелева. – М.МедиаСфера, 3-е изд., 2004. – 352 с., ил.

Отримано 28.01.14