

©СА.Левицька, А.І.Гоженко

**ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ С-511Т ГЕНА ІL-Ф НА ПРОДУКЦІЮ ІNТЕРЛЕЙКІНА ІL-Ф У ДІТЕЙ, ЩО ЧАСТО І ТРИВАЛО ХВОРИЮТЬ***Буковинський державний медичний університет, м.Чернівці  
Український НДІ медицини транспорту, м.Одеса*

**ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ С-511Т ГЕНА ІL-1P НА ПРОДУКЦІЮ ІNТЕРЛЕЙКІНА ІL-1P У ДІТЕЙ, ЩО ЧАСТО І ТРИВАЛО ХВОРИЮТЬ.** Проведене дослідження впливу однонуклеотидного поліморфізму гена ІL-1 в С-511Т на продукцію ІL-1 р 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-1 р асоціює із збільшенням продукції ІL-1P лімфоцитами. Домінуючим генотипом у практично здорових дітей є гетерозиготний СТ-варіант С-511Т поліморфізму гена ІL-1 р (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-1 P НА ПРОДУКЦИЮ ІNТЕРЛЕЙКИНА ІL-1 P В ДЕТЕЙ, ЧАСТО И ДЛИТЕЛЬНО БОЛЕЮЩИХ.** Проведено исследование влияния однонуклеотидного полиморфизма гена ІL-1 p С-511Т на продукцію ІL-1 р 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-1 p ассоциирует с увеличением продукции ІL-1 p лимфоцитами. Доминирующим генотипом у практически здоровых детей является гетерозиготный СТ-вариант С-511Т полиморфизма гена ІL-1 p (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 1 p GENE On PTODUCTION of INTERLEUKIN 1 p of CHILDREN WITH FREQUENT RECURRENCE of RESPIRATORY INFECTION.** An analysis of the influence of C-511T single nucleotide polymorphism of the interleukin 1 p gene on production of interleukin 1 p 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 1p gene and increase of production of interleukin 1p was found. Dominant genotype in healthy children was heterozygous CT-option C-511T polymorphism of ІL-1 p (62,86%), while in children with frequent and prolonged episodes of respiratory infections was dominated by СС homozygous genotype of this polymorphism (51.25 %).

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

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

**Keywords:** genetic polymorphism, interleukin 1 p, 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-іp - одного з основних прозапальних інтерлейкінів [5].

Метою дослідження було визначення впливу поліморфізму С-511Т гена ІL-іp на продукцію ІL-1 р 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-1 р 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-1 р отримували продукт ампліфікації довжиною 305Ьр від 562-ї до 756-ї пари нуклеотидів промоторної зони. Дискримінацію алелів проводили за допомогою специфічної ендонуклеази рестрикції AVAI («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 Ър («СибЭнзим», Росія).

## Педіатрія

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми «Statistica 6» із підрахунком критеріїв Стюдента, Shapiro-Wilk, Mann-Whitney,  $\chi^2$  [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 $\beta$  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 $\beta$  - одного з основних прозапальних цитокінів (табл. 1).

Потенційним фактором ризику розвитку рецидивів ГРВІ у дітей може бути зниження продукції IL-1 $\beta$  лімфоцитами периферичної венозної крові. Зниження продукції IL-1 $\beta$  встановлювали при концентрації цитокіну нижчою 57,78 пг/мл (нижній квартиль контрольної групи). Зниження продукції IL-1 $\beta$  виявили у 27 дітей (33,75%) з РРІ. За результатами показника відношення шансів зниження вмісту IL-1 $\beta$  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 $\beta$  лімфоцитами периферичної крові та генетичним поліморфізмом С-511Т гена IL-1 $\beta$  встановлено, що продукція цитокіну при гетерозиготному генотипі була найвищою та статистично значимо відрізнялася від

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

Так само вищим був вміст IL-1 $\beta$  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 $\beta$  асоціювала із зменшенням продукції відповідного цитокіну лімфоцитами периферичної крові. В той же час найвищий рівень продукції IL-1 $\beta$  був характерний для гетерозиготного варіанта генотипу.

Аналіз однонуклеотидного поліморфізму С-511Т гена IL-1 $\beta$  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 $\beta$  (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 $\beta$  лімфоцитами периферичної крові та С-511Т поліморфізмом гена IL-1 $\beta$  в контрольній групі (табл. 3).

Таблиця 1. Вміст IL-1 $\beta$  в сироватці крові

Група дослідження	IL-1P (пг/мл) (M $\pm$ t)	a	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, t - стандартна похибка середнього, a - стандартне відхилення, WSW - W-критерій Shapiro-Wilk, MWT - критерій Mann-Whitney.

Таблиця 2. Вміст IL-1 $\beta$  в сироватці крові пацієнтів з різними типами генотипу

Генотип	IL-1P (пг/мл) (M $\pm$ t)	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 Стюдента	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, t - стандартна похибка середнього, a - стандартне відхилення, WSW - W-критерій Shapiro-Wilk.

Таблиця 3. Вміст IL-1 $\beta$  в сироватці крові в залежності від генотипу

Показник	Генотип	Кількість хворих, n (%)	IL-1P (пг/мл) (M $\pm$ t)	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 ІL-ір, характерне для СС-гомозигот С-511Т поліморфізму гена ІL-1Р, 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 ІL-ір.

2. Домінуючим генотипом у практично здорових дітей є гетерозиготний СТ-варіант С-511Т поліморфізму гена ІL-1Р, 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 ІL-1Р 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/Лекарственныесредства, 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