

УДК 616.216.3-002.2:575

С.А.Левицька, Л.П.Сидорчук, В.В.Костенко

**ПОЛІМОРФІЗМ С-511Т ГЕНА ІНТЕРЛЕЙКІНУ 1 $\beta$  У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ЗАПАЛЬНІ ПРОЦЕСИ БІЛЯНОСОВИХ ПАЗУХ**

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** Проведене дослідження однонуклеотидного поліморфізму гена інтерлейкіну-1 $\beta$  С-511Т у 48 хворих на хронічний гнійний синусит, 52 хворих на хронічний поліпозний синусит і 35 здорових осіб. Встановлено переважання «дикого» С-алеля серед досліджуваних. Для хронічного запального процесу біляносових пазух характерними виявилися зменшення частки гетерозиготного СТ варіанта і збільшення частоти зустріча-

льності гомозигот. Найбільший відсоток ТТ-гомозигот (25 %) виявлений серед хворих на хронічний поліпозний синусит, у той час як домінуючим генотипом у хворих на хронічний гнійний синусит був гомозиготний СС-варіант (52,08 %).

**Ключові слова:** генетичний поліморфізм, інтерлейкін-1 $\beta$ , хронічний синусит.

**Вступ.** Уроджений дефект імунного розпізнавання патогенів епітеліоцитами слизової оболонки може відігравати важливу роль у патогенезі хронічного запалення біляносових пазух (БНП) [10]. Потенційним трансмітером між клітинами в процесі запальної відповіді є інтерлейкін-1 (IL-1) – один із найбільш важливих прозапальних цитокінів [18]. Домінуючою секреторною формою є IL-1 $\beta$  [14], вміст якого в інтерстиційній рідині значно збільшується при запальних процесах БНП [15].

Невеликі мутаційні зміни генів родини IL-1 можуть призвести до зміни експресії та продукції білків, що ними кодуються. Виявлені алельні варіанти генів родини IL-1, відповідальні за підвищену продукцію відповідних білків [19]. Поліморфізм генів родини IL-1 може бути однією з головних причин дисрегуляції запальної відповіді у вогнищі ураження внаслідок генетично зумовленого дисбалансу IL-1-відповіді [1].

**Мета дослідження.** Вивчення однонуклеотидного поліморфізму С-511Т гена IL-1 $\beta$  у хворих на різні форми хронічних синуситів.

**Матеріал і методи.** Поліморфізм гена IL-1 $\beta$  вивчений у 135 осіб, об'єднаних у три групи спостереження. Першу групу (48 осіб) склали хворі на хронічний гнійний синусит (ХГС), другу (52 хворих) – хворі на хронічний поліпозний синусит (ХПС). Третя, контрольна група, складалася з 35 практично здорових осіб.

Матеріалом для молекулярно-генетичного дослідження була ДНК, виділена з лімфоцитів периферичної венозної крові пацієнтів за допомогою набору реагентів «ДНК-сорб-В». ПЛР-реакцію проводили з використанням Таq-ДНК-полімерази та специфічних праймерів (forward - 5'-GCC TGA ACC CTG CAT ACC GT і reverse 5'-GCCAATAGCCCTCCCTTCT). Ампліфікатор програмували відповідно до температурних режимів приєднання праймерів (відпалювання) до одностричкових ланцюгів ДНК [13]. Ампліфікація включала «денатурацію» ДНК при t 93°C протягом 5 хвилин із наступними 36 циклами «відпалювання» по 3 хвилини кожен: 93°C – 1 хвилина, приєднання праймерів при t 48°C. Заключний етап «елонгації» (нарощування в дов-

жину фрагмента ДНК) виконували за наявності термостабільної Таq-полімерази на матриці з приєднаними до неї праймерами при t 72°C 3 хв один цикл. Отримали продукт ампліфікації довжиною 305bp від 562-ї до 756-ї пари нуклеотидів промоторної ділянки гена IL-1 $\beta$ . Дискримінацію алелів проводили за допомогою специфічної ендонуклеази рестрикції AVAI («Fermentas®», Литва) у реакції гідролізу при температурі 37°C протягом 16 годин (місце рестрикції - 5'...G↓GA (orT)CC...3'; 3'...CCT(orA)G↑G...5'). Рестрикційні продукти ПЛР розділяли за допомогою електрофорезу у 2% агарозному гелі за наявності трис-боратного буфера (ТТБ), концентрованого з бромідом етидію, 30-45 хвилин: розрізняли «мутантний» Т-алель (два фрагменти довжиною 190 і 115 bp) та «дикий» AVAI-резистентний С-алель [7]. Фрагменти візуалізували за допомогою транслюмінатора за наявністю маркера молекулярних мас 100-1000 bp («СибЭнзим», Росія).

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою програми «Statistica 6» [6]. Визначали відповідність розподілу генотипів рівновазі Харді-Вайнберга за критерієм  $\chi^2$ [3]; рівень гетерозиготності – за величиною індекса фіксації Райта [4].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Встановлено, що «дикий» алель траплявся в більшості досліджуваних (табл. 1): у 60,37 % (n=163) випадків з 270 виділених алелів у 511 позиції промотора гена IL-1 $\beta$  був цитозин (С), тоді як патологічний «мутантний» Т-варіант ідентифікували в 39,63 % (n=107) випадках. Частка виявлення «мутантного» Т-алеля дещо вища порівняно з іншими популяціями європеїдної раси (табл. 2), проте менша від відповідного показника екваторіальної та монголоїдної рас.

Характерними для контрольної групи були найменша частота зустрічальності С-алеля – 54,29 % (n=38) та зростання частоти зустрічальності «мінорного» Т-алеля – 45,71 % (n=32) порівняно з першою та другою групами. У той же час як у групі пацієнтів із хронічним гнійним запаленням БНП, так і в групі з поліпозним ураженням БНП, відсоток зустрічальності поліморфного

Таблиця 1

Частоти алелів С і Т С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$ 

Групи спостереження	N	С-алель	Т-алель	Статистична обробка
Перша (ХГС)	48	65 (67,71 %)	31 (32,29 %)	$\chi^2_{1-2} = p < 0,01$ $\chi^2_{2-3} = p < 0,01$ $\chi^2_{1-3} = p > 0,01$
Друга (ХПС)	52	60 (57,69 %)	44 (42,31 %)	
Контрольна	35	38 (54,29 %)	32 (45,71 %)	

Таблиця 2

## Расові та популяційні відмінності зустрічальності Т-алеля

№п/п	Раса	Країна	Частка мутантного Т-алеля	ТТ-генотип
1.	європеїдна	Росія [2]	29 %	10,62 %
		Іспанія [16]	32,09 %	8,11 %
2.	монголоїдна	Тайвань [11]	53,62 %	27,63 %
		Китай [17]	38,24 %	14,1 %
3.	екваторіальна	Гамбія [20]	44,5 %	20,7 %

Таблиця 3

Частоти генотипів С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$ 

Групи	Генотип			H <sub>0</sub>	H <sub>E</sub>	D	$\chi^2$	P
	СС	СТ	ТТ					
Перша(ХГС)	25(52,08 %)	15(31,25 %)	8(16,67 %)	0,31	0,44	0,29	3,61	0,06
Друга (ХПС)	21(40,38 %)	18(34,62 %)	13(25 %)	0,35	0,49	0,28	4,02	0,04
Контрольна	8(22,86 %)	22(62,86 %)	5(14,28 %)	0,63	0,50	-0,27	3,44	0,06
Всього	54(40 %)	55(40,74 %)	26(19,26 %)	0,41	0,48	0,15	0,99	0,32

Примітка. H<sub>0</sub> – фактична гетерозиготність, H<sub>E</sub> – очікувана гетерозиготність, D – індекс фіксації Райта,  $\chi^2$  – критерій справедливості «нульової» гіпотези між фактичною і очікуваною гетерозиготністю

Таблиця 4

Особливості генотипів С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$  у хворих на хронічні захворювання верхніх дихальних шляхів різних популяцій

№п/п	Країна	Особливості генотипу
1.	Фінляндія	Немає асоціації С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$ і розвитком хронічного поліпозного синуситу [20].
2.	Тайвань	Немає асоціації С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$ і розвитком хронічного синуситу [8]
3.	Туреччина	СС-генотип асоціював з розвитком хронічного поліпозного синуситу, наявність Т-алеля свідчила про протективний ефект щодо розвитку назального поліпозу [9]
4.	Росія	Носійство гомозиготного СС генотипу -511С/Т поліморфізму і гетерозиготного СТ генотипу +3953С/Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$ асоціювало з активним перебігом хронічного гнійного синуситу [5]

Т-алеля вірогідно зменшувався і становив 32,29 % (n=31) і 42,31 % (n=44) відповідно (табл. 1).

Розподіл генотипів за поліморфним варіантом С-511Т гена ІЛ-1 $\beta$  серед досліджуваних відповідає очікуваному при рівновазі Харді-Вайнберга (табл. 2).

При аналізі окремих груп дослідження встановлено, що домінуючим генотипом серед осіб пер-

шої групи був гомозиготний СС варіант (табл. 2), у той час як частки інших двох – вірогідно меншими. У пацієнтів другої групи відсоток гомозигот за «диким» алелем зменшувався, натомість зростала частка гетерозигот та гомозигот за «мутантним» Т-алелем до 34,62 % (n=18) і 25 % (n=13) відповідно.

Контрольна група характеризувалася найвищим відсотком гетерозигот (62,86 %; n=22) при

найменших частках гомозигот як за СС-, так і за ТТ-варіантами генотипів (табл. 2). Частка гетерозигот майже вдвічі перевищувала даний показник у першій та другій групах хворих. У той же час частка гомозигот за мутантним ТТ-генотипом (14,28 %; n=5) перевищувала відповідний показник серед європеїдних популяцій, хоча була нижчою за частку ТТ-гомозигот серед популяцій монголоїдної та екваторіальної рас (табл. 2).

У групі хворих на ХГС, а також у контрольній групі, розподіл часток генотипів за поліморфним варіантом С-511Т гена ІЛ-1 $\beta$  відповідає очікуваному при рівновазі Харді-Вайнберга (табл. 2), хоча в осіб першої групи відмічена тенденція до зменшення ( $p>0,05$ ), а в контрольній групі – тенденція до збільшення рівня гетерозиготності ( $p>0,05$ ). Статистично значиме зменшення фактичної гетерозиготності відмічене у хворих на поліпозну форму ураження хронічних запальних процесів БНП ( $p<0,05$ ).

Літературні повідомлення щодо особливостей розподілу генотипічних варіантів С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$  при хронічних синуситах характеризуються неоднорідністю та протилежністю даних (табл. 4). Виявлений факт може бути пояснений етнічними особливостями розподілу варіантів генотипу. Окрім того, у промоторній зоні гена ІЛ-1 $\beta$  у позиції 31 є ще одна ділянка частого С/Т однонуклеотидного поліморфізму. Алейна взаємодія між -511 і -31 поліморфними ділянками може впливати на оцінку розподілу варіантів генотипу [9].

### Висновки

1. При визначенні характеру розподілу С- і Т-алелів простого однонуклеотидного поліморфізму С-511Т промоторної зони гена ІЛ-1 $\beta$  серед досліджуваних встановлено переважання «дикого» С-алеля.

2. Для хронічного запального процесу біляносових пазух характерними виявилися зменшення частки гетерозиготного СТ-варіанта і збільшення частоти зустрічальності гомозигот. Найбільший відсоток ТТ-гомозигот – 25 %, виявлений серед хворих на хронічний поліпозний синусит, у той час як домінуючим генотипом у хворих на хронічний гнійний синусит був гомозиготний СС-варіант (52,08 %).

3. Поліморфізм С-511Т гена ІЛ-1 $\beta$  має прогностичне значення для виявлення схильності до розвитку хронічних синуситів: групою ризику щодо розвитку поліпозної форми ураження біляносових пазух є ТТ-генотип С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$ , а хронічного гнійного синуситу – СС-генотип.

**Перспективи подальших досліджень.** Провести аналіз змін клінічно-фенотипічних та лабораторно-діагностичних показників у хворих на хронічні запальні процеси біляносових пазух залежно від С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$ .

### Література

1. Исследование полиморфизма генов интерлейкинов у больных хроническим полипозным синуситом / Е.В.Данигевич [и др.] // Рос. оториноларингол. – 2007. – № 5. – С. 70-75.
2. Связь полиморфизма -511С/Т в промоторной области гена интерлейкина-1 $\beta$  с предрасположенностью к язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки и особенностям ее течения / В.П.Иванов, А.В.Полоников, И.В.Хорошая [и др.] // Рос.ж.гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 2006. – № 1. – С. 42-46.
3. Лепендина И.Н. Генотип населения Белгородской области. Распределение иммунобиохимических маркеров генов / И.Н.Лепендина, Е.В.Балановская, М.И.Чурносоев // Генетика. – 2008. – Т. 44, № 3. – С. 1-15.
4. Возможная связь между уровнем гетерозиготности по биохимическим маркерам генов у больных с легочной патологией / В.А.Спицын, Р.К.Агапова, Э.Б.Цыпкиова [и др.] // Генетика. – 1996. – Т. 22, № 7. – С. 990-995.
5. Анализ полиморфных локусов -511 и +3953 гена ІЛ-1 $\beta$  у больных риносинуситом / Е.Н.Тараканова, А.В.Демьянов, Г.В.Лавренова [и др.] // Вестн. оториноларингол. – 2008. – № 3. – С. 46-55.
6. Халафян А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник / Халафян А.А. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.,ил.
7. Interleukin-1 $\beta$  polymorphisms in Colombian patients with autoimmune rheumatic diseases / J.F.Camargo, P.A.Correa, J.Castiblanco [et al.] // Genes and Immunity. – 2004. – Vol. 5. – P. 609-614.
8. Increased prevalence of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in patient with chronic rhinosinusitis / Y.K.Cheng, C.D.Lin, W.C.Chang [et al.] // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2006. – Vol. 132 (3). – P. 285-290.
9. Proinflammatory cytokine single nucleotide polymorphism in nasal polyposis / S.S.Erbeck, E.Yurtcu, S.Erbeck [et al.] // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2007. – Vol. 133 (7). – P. 705-709.
10. Figueiredo C.R. Inflammatory genes in nasal polyposis / C.R.Figueiredo, I.D.Silva, L.L.Weckx // Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2008. – Vol. 16, № 1. – P. 18-21.
11. Interleukin-1 $\beta$  gene polymorphism associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus infection / N.Hirankarn, I.Kimkong, P.Kumme [et al.] // World J.Gastroenterol. – 2006. – Vol. 12 (5). – P. 776-779.
12. The IL1A genotype is associated with nasal polyposis in asthmatic adults / J.Karjalainen, V.-P.Joki-Erkkila, J.Hulkkonen [et al.] // Allergy. – 2003. – Vol. 58 (5). – P. 393-396.
13. Interleukin-1 gene -511 CT polymorphism and the risk of Alzheimer's disease in a Polish population / A.Klimkowicz-Mrowiec, M.Marona, P.Wolkow

- [et al.] // Dement. Geriatr. Cogn. Disord. – 2009. – Vol. 28 (5). – P. 461-464.
14. Quantification of interleukin-1 in nasal polyps from patients with chronic sinusitis / Y.Liu, Y.Hamaguchi, M.Taya [et al.] // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 1993. – Vol. 250, № 2. – P. 123-125.
  15. Lund V.J. Involvement of cytokines and vascular adhesion receptors in the pathology of fronto-ethmoidal mucocoeles / V.J.Lund, B.Henderson, Y.Song // Acts Otolaryngol. – 1993. – Vol. 113, № 4. – P. 540-546.
  16. IL-1 gene cluster polymorphism and its haplotypes may predict the risk to develop invasive pulmonary aspergillosis and modulate C-reactive protein / J.Sainz, E.Perez, S.Gomez-Lopera [et al.] // J. Clin. Immunol. – 2008. – Vol. 12 (5). – P. 344-349.
  17. No relationship between IL-1 $\beta$  gene polymorphism and gastric acid secretion in younger healthy volunteers / H.Sheng, S.Qi-Bing, Y.Ping-Fang [et al.] // World J.Gastroenterol. – 2005. – Vol. 11 (41). – P. 6549-6553.
  18. Differential release of mast cell mediators and the pathogenesis of inflammation / T.C.Theoharides, D.Kempuraj, M.Tagen [et al.] // Immunol. Rev. – 2007. – Vol. 217. – P. 65-78.
  19. Cytokine gene polymorphisms in sarcoidosis / M.Vasakova, M.Sterclova, L.Kolesar [et al.] // Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung. Dis. – 2010. – Vol. 27, № 1. – P. 70-75.
  20. Walley A.J. Interleukin-1 gene cluster polymorphism and susceptibility to clinical malaria in a Gambian case-control study / A.J.Walley, C.Aucan, D.Kwiatkowski [et al.] // European J. of Human Genetics. – 2003. – Vol. 17 (37). – P. 1-7.

### ПОЛИМОРФИЗМ С-511Т ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 $\beta$ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ПРОЦЕССАМИ В ОКОЛОНОСОВЫХ ПАЗУХАХ

*С.А.Левицкая, Л.П.Сидорчук, В.В.Костенко*

**Резюме.** Проведено исследование простого однонуклеотидного полиморфизма гена интерлейкина-1 $\beta$  С-511Т у 48 больных с хроническим гнойным синуситом, 52 больных с хроническим полипозным синуситом и 35 здоровых пациентов. Для хронического воспалительного процесса околоносовых пазух характерными оказались уменьшение доли гетерозиготного СТ-варианта и увеличение частоты встречаемости гомозигот. Наибольший процент ТТ-гомозигот (25 %) выявлен среди больных хроническим полипозным синуситом, в то время как доминирующим генотипом у больных хроническим гнойным синуситом был гомозиготный СС-вариант (52,08 %).

**Ключевые слова:** генетический полиморфизм, интерлейкин-1 $\beta$ , хронический синусит.

### C-511T POLYMORPHISM OF THE INTERLEUKIN-1 $\beta$ GENE OF PATIENTS WITH CHRONIC INFLAMMATORY PROCESSES OF THE PARANASAL SINUSES

*S.A.Levytska, L.P.Sydorchuck, V.V.Costenko*

**Abstract.** An analysis of simple single nucleotide polymorphism of the interleukin-1 $\beta$  gene was carried out in 48 patients with chronic purulent sinusitis, 52 patients with chronic polypous sinusitis and 35 apparently healthy persons. A predomination of the «wild» C-allele among the examinees has been established. A decrease of the share of the heterozygotic CT-variant and an increase of the frequency of the occurrence of homozygotes turned out to be typical of a chronic inflammatory process of the paranasal sinuses. The highest percentage of TT-homozygote (25 %) was revealed in patients with chronic polypous sinusitis, while the prevalent genotype in patients with chronic purulent sinusitis was the homozygotic CC-variant (52,08 %).

**Key words:** genetic polymorphism, interleukin-1 $\beta$ , chronic sinusitis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – доц. Г.Д.Коваль

Buk. Med. Herald. – 2011. – Vol. 15, № 3 (59). – P. 51-54

Надійшла до редакції 11.05.2011 року