

УДК 616.216.3-002.2:616.15:575

С.А.Левицька

## ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ С-511Т ГЕНА ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 $\beta$ НА ПРОДУКЦІЮ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 $\beta$ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ЗАПАЛЬНІ ПРОЦЕСИ БІЛЯНОСОВИХ ПАЗУХ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** Проведено дослідження впливу однонуклеотидного поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$  С-511Т на продукцію ІЛ-1 $\beta$  у 48 хворих на хронічний гнійний синуїт, 52 хворих на хронічний поліпозний синуїт і 35 практично здорових осіб. Встановлено, що зменшення продукції ІЛ-1 $\beta$ , виявлене при хронічному гнійному синуїті, може бути зумовлене наявністю цитозину в 511 позиції промоторної зони гена ІЛ-1 $\beta$ . Наявність «мутантної»

Т-алелі С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$  асоціює із збільшенням продукції відповідного цитокину. Частота гомозиготного СС генотипу С-511Т найвища серед хворих на хронічний гнійний синуїт. Т-алель С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1 $\beta$  може бути протективним фактором щодо розвитку хронічного гнійного синуїту.

**Ключові слова:** генетичний поліморфізм С-511Т, інтерлейкін 1 $\beta$ , хронічний синуїт.

**Вступ.** Зниження імунологічного захисту відіграє вирішальну роль у хронізації запального процесу біляносових пазух (БНП) [6]. Ефективність захисних реакцій неспецифічного і специфічного імунітету забезпечується тісною міжклітинною кооперацією, а одним із перших цитокинів, що продукується клітинами у відповідь на вторгнення патогенних мікроорганізмів, є інтерлейкін-1 (ІЛ-1) [12]. Домінуючою секреторною формою є ІЛ-1 $\beta$  [10], вміст якого в інтерстиційній рідині значно збільшується при запальних процесах БНП [11].

Продукція ІЛ-1 $\beta$  зумовлена дією декількох факторів. Одним із важливих механізмів контролю продукції цитокину є регуляція на генному рівні [5].

У літературі описані дві найбільш відомі однонуклеотидні заміни гена ІЛ-1 $\beta$ : у ділянці п'ятого екзону (+3953С/Т) [13] і в промоторній зоні гена (-511С/Т) [8]. За сучасними уявленнями [2], наявність поліморфного алеля гена ІЛ-1 $\beta$  (+3953С/Т) асоціює з підвищеною експресією гена і відповідно з підвищеною продукцією ІЛ-1 $\beta$ . У той же час роль заміни в регуляторній ділянці гена (-511С/Т) залишається не до кінця вивченою.

**Мета дослідження.** Вивчити вплив простого однонуклеотидного поліморфізму С-511Т гена ІЛ-1 $\beta$  на продукцію ІЛ-1 $\beta$  лімфоцитами периферичної крові хворих на різні форми хронічних синуїтів.

**Матеріал і методи.** Поліморфізм гена ІЛ-1 $\beta$  та концентрація ІЛ-1 $\beta$  у сироватці венозної крові вивчені в 135 осіб, об'єднаних у три групи спостереження. Першу групу (52 пацієнти) склали хворі на хронічний гнійний синуїт (ХГС), другу (48 осіб) – хворі на хронічний поліпозний синуїт (ХПС). Третя, контрольна група, складалася з 35 практично здорових осіб.

Матеріалом для імунологічного дослідження була сироватка крові. Концентрацію ІЛ-1 $\beta$  визначали за допомогою діагностичної тест-системи (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург, Росія) методом твердофазного імуоферментного аналізу.

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 однониткових ланцюгів ДНК [9]. 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. Заклучний етап «елонгації» (нарощування в довжину фрагмента ДНК) виконували за наявності термостабільної Таq-полімерази на матриці з приєднаними до неї праймерами при t 72°C 3 хвилини 1 цикл. Отримали продукт ампліфікації довжиною 305bp від 562-ї до 756-ї пари нуклеотидів по моторній ділянці гена ІЛ-1 $\beta$ . Дискримінацію алелей проводили за допомогою специфічної ендонуклеази рестрикції AVAI («Fermentas<sup>®</sup>», Литва) у реакції гідролізу при температурі 37°C протягом 16 годин (місце рестрикції - 5'...G↓GA(orT)CC...3'; 3'...CC↑T(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 «мутантну» Т-алель (два фрагменти довжиною 190 і 115 bp) та «дику» AVAI-резистентну С-алель [7]. Фрагменти візуалізували за допомогою транслюмінатора за наявності маркера молекулярних мас 100-1000 bp («СибЭнзим», Росія).

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою програми «Statistica 6» із врахуванням критеріїв Стьюдента (t) і непараметричного  $\chi^2$  [4]. Нормальність розподілу величин перевіряли за допомогою W-критерію Shapiro-Wilk, гомогенність дисперсій – за допомогою тесту Левена (tL) [1]. Ідентифікацію досліджуваного показника як маркера ризику оцінювали методами клінічної епідеміології за результатами обчислення відношення шансів (OR) [3].

**Результати дослідження та їх обговорення.** У результаті молекулярно-генетичного аналізу 135 хворих виявлено 54 (40 %) гомозигот за «диким» С-алелем, 55 (40,74 %) гетерозигот і 26 (19,26 %) гомозигот за «мутантним» Т-алелем (табл. 1).

Згідно з отриманими даними, гетерозиготи та СС-гомозиготи траплялися однаково часто серед досліджуваних (табл. 1). У той же час частка «мутантних» ТТ-гомозигот вірогідно нижча і становила 19,26 %.

При дослідженні асоціації між продукцією ІЛ-1 $\beta$  лімфоцитами периферичної крові та генетичним поліморфізмом С-511Т гена ІЛ-1 $\beta$  встановлено, що продукція цитокіну при гетерозиготному генотипі вірогідно вища ( $t=3,87$ ;  $p<0,05$ ;  $tL=0,49$ ) порівняно з гомозиготами за «диким» С-алелем (табл. 1). Так само вищий вміст ІЛ-1 $\beta$  при

гомозиготному варіанті ТТ ( $t=2,33$ ;  $p<0,05$ ;  $tL=4,09$ ). Водночас статистично значимої різниці між продукцією цитокіну гомозиготами за мінорним Т-алелем і гетерозиготами не виявлено ( $t=0,66$ ;  $p=0,5$ ;  $tL=0,12$ ).

Таким чином, наявність тиміну в 511 позиції промоторної зони гена ІЛ-1 $\beta$  асоціювала зі збільшенням продукції відповідного цитокіну лімфоцитами периферичної крові.

Найнижчий рівень продукції ІЛ-1 $\beta$  характерний для гомозиготного СС-варіанта генотипу (табл. 1).

Аналіз одонуклеотидного поліморфізму С-511Т гена ІЛ-1 $\beta$  серед груп дослідження довів, що найбільша частка гомозигот за «диким» С-алелем виявлена серед хворих на ХГС. При цьому СС-гомозиготи характеризувалися найнижчим рівнем продукції ІЛ-1 $\beta$  (табл. 2). Частка гете-

Таблиця 1

Вміст ІЛ-1 $\beta$  у сироватці крові пацієнтів із різними типами генотипу

Група дослідження	ІЛ-1 $\beta$ (пг/мл) (M $\pm$ m)	$\sigma$	WSW
СС (n=54)	62,21 $\pm$ 2,17	15,97	0,89
СТ (n=55)	73,54 $\pm$ 1,97	14,60	0,96
ТТ (n=26)	71,17 $\pm$ 3,23	16,45	0,97

Примітка. М – середнє арифметичне, m – стандартна похибка середнього,  $\sigma$  – стандартне відхилення, WSW – W-критерій Shapiro-Wilk;  $p(СС-СТ)<0,05$ ;  $p(СС-ТТ)<0,05$ ;  $p(СТ-ТТ)>0,05$

Таблиця 2

Вміст ІЛ-1 $\beta$  у сироватці крові залежно від захворювання і генотипу

Показник	Генотип	Кількість хворих	ІЛ-1 $\beta$ (пг/мл) (M $\pm$ m)	Статистична обробка
Перша група (n=48)	СС	25 (52,08 %)	55,10 $\pm$ 1,74	$p(СС-СТ)<0,001$ $p(СС-ТТ)<0,001$ $p(СТ-ТТ)>0,05$
	СТ	15 (31,25 %)	69,41 $\pm$ 1,89	
	ТТ	8 (16,67 %)	73,50 $\pm$ 3,36	
Друга група (n=52)	СС	21 (40,38 %)	66,40 $\pm$ 4,22	$p(СС-СТ)>0,05$ $p(СС-ТТ)>0,05$ $p(СТ-ТТ)>0,05$
	СТ	18 (34,62 %)	73,90 $\pm$ 2,77	
	ТТ	13 (25 %)	66,62 $\pm$ 5,05	
Контрольна група (n=35)	СС	8 (22,86 %)	73,45 $\pm$ 5,29	$p(СС-СТ)>0,05$ $p(СС-ТТ)>0,05$ $p(СТ-ТТ)>0,05$
	СТ	22 (62,86 %)	76,6 $\pm$ 4,16	
	ТТ	5 (14,28 %)	79,28 $\pm$ 8,72	

Примітка. М – середнє арифметичне, m – стандартна похибка середнього

Таблиця 3

Показники імуногенетичного дослідження як маркери ризику розвитку хронічних запальних процесів БНП

Показник	OR	Log V	Довірчі інтервали
Наявність СС-генотипу	3,67	0,25	1,38-9,78
Наявність ТТ-генотипу	1,2	0,38	0,35-4,14
Наявність «мутантної» Т-алелі	0,27	0,25	0,1-0,72

Примітка. OR – відношення шансів; Log V – логарифм дисперсії відношення шансів

розигот становила 31,25 %, найнижчою є відсоток гомозигот за «мутантним» алелем – 16,67 %. Статистично значимої різниці в продукції досліджуваного цитокіну серед хворих з гетерозиготним та ТТ-гомозиготним варіантами генотипів не виявлено.

У групі хворих на поліпозну форму ураження БНП зменшується частка СС-гомозигот до 40,38 %, зростає відсоток зустрічальності гомозиготного ТТ-варіанта генотипу до 25 %. Проте статистично значимої різниці між рівнями продукції ІЛ-1β серед осіб другої групи з поліморфними варіантами генотипу не виявлено (табл. 2). Так само не виявлено асоціації між рівнем продукції ІЛ-1β лімфоцитами периферичної крові та С-511Т поліморфізмом гена ІЛ-1β у контрольній групі (табл. 2). Домінуючий варіант генотипу в контрольній групі гетерозиготний (62,86 %), частка гомозигот найменша при порівнянні з обома дослідними групами.

У процесі дослідження виявлена позитивна асоціація генотипу СС (OR=3,67) С-511Т поліморфізму промоторної зони гена ІЛ-1β з розвитком хронічного гнійного запального процесу БНП (табл. 3). Асоціації ТТ-генотипу з розвитком хронічних запальних процесів БНП не виявлено. Протективним ефектом володіла наявність мутантного Т-алеля (OR=0,27) дослідженого поліморфізму.

Зменшення продукції ІЛ-1β, характерне для СС-гомозигот С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1β, може призводити до зниження протиінфекційного захисту верхніх дихальних шляхів та зумовлювати розвиток хронічного запального процесу в БНП.

#### Висновки

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

2. Домінуючим генотипом у контрольній групі був гетерозиготний СТ варіант С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1β, у той час як серед хворих на хронічні синусити переважали СС-гомозиготи даного поліморфізму.

3. Частота гомозиготного СС генотипу С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1β найвища серед хворих на хронічний гнійний синусит (52,08 %), а гомозиготного варіанта за мутантним Т-алелем – серед хворих на хронічний поліпозний синусит (25 %).

4. Зменшення продукції ІЛ-1β, виявлене при хронічному гнійному синуситі, може бути зумовлене наявністю цитозину в 511 позиції промоторної зони гена ІЛ-1β.

5. Фактором резистентності щодо розвитку хронічного гнійного запального процесу біляносових пазух може бути наявність Т-алеля однонуклеотидного С-511Т поліморфізму гена ІЛ-1β.

**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-1β.

#### Література

1. Стентон Г. Медико-биологическая статистика / Гланц Стентон; пер. с англ. Ю.А.Данилова. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
2. Анализ полиморфных локусов -511 и +3953 гена ІЛ-1β у больных риносинуситом / Е.Н.Тараканова, А.В.Демьянов, Г.В.Лавренова [и др.] // Вестн.оториноларингол. – 2008. – № 3. – С. 46-55.
3. 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.
4. Халафян А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник / А.А.Халафян. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.,ил.
5. Шарипова Э.Р. Обоснование использования беталейкина у больных гнойным риносинуситом с генетически обусловленным дисбалансом цитокинов ІЛ-1β і ІЛ-РА / Э.З.Шарипова, Н.А.Арефьева, Л.Ф.Азнабаева // Рос. ринология. – 2008. – № 4. – С.10-13.
6. Bradley D.T. Role of interleukins and transforming growth factor-beta in chronic rhinosinusitis and nasal polyposis / D.T.Bradley, S.E.Kountakis // Laryngoscope. – 2005. – Vol. 115 (4). – P. 684-686.
7. Interleukin-1β polymorphisms in Colombian patients with autoimmune rheumatic diseases / J.F.Camargo, Correa P.A., J.Castiblanco [et al.] // Genes and Immunity. – 2004. – Vol. 5. – P. 609-614.
8. Interleukin-1B polymorphisms and gastric cancer risk – a meta-analysis / F.Kamangar, C.Cheng, C.C.Abnet [et al.] // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2006. – Vol. 15 (10). – P. 1920-1928.
9. 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.
10. 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.
11. Lund V.J. Involvement of cytokines and vascular adhesion receptors in the pathology of frontoethmoidal mucocoeles / V.J.Lund, B.Henderson, Y.Song // Acta Otolaryngol. – 1993. – Vol. 113, № 4. – P. 540-546.
12. 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 [et al.] // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2010. – Vol. 136 (2). – P. 187-192.
13. Genetics of chronic rhinosinusitis: a primer / M.A.Tewlik, Y.Bosse, H.Al-Shemari [et al.] // J. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2010. – Vol. 39 (1). – P. 62-68.

**ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА С-511Т ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 $\beta$   
НА ПРОДУКЦИЮ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 $\beta$  У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ  
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ПРОЦЕССАМИ ОКОЛОНОСОВЫХ ПАЗУХ**

*С.А.Левицкая*

**Резюме.** Проведено исследование влияния однонуклеотидного полиморфизма гена IL-1 $\beta$  С-511Т на продукцию IL-1 $\beta$  у 48 больных хроническим гнойным синуситом, 52 больных хроническим полипозным синуситом и 35 здоровых людей. Установлено, что уменьшение продукции IL-1 $\beta$ , выявленное при хроническом гнойном синусите, может быть обусловлено наличием цитозина в 511 позиции промоторной зоны гена IL-1 $\beta$ . Наличие «мутантной» Т-аллели С-511Т полиморфизма гена IL-1 $\beta$  ассоциирует с увеличением продукции соответствующего цитокина. Частота гомозиготного СС генотипа С-511Т наибольшая среди больных хроническим гнойным синуситом. Т-аллель С-511Т полиморфизма гена IL-1 $\beta$  может быть протективным фактором относительно развития хронического гнойного синусита.

**Ключевые слова:** генетический полиморфизм С-511Т, интерлейкин-1 $\beta$ , хронический синусит.

**THE INFLUENCE OF THE C-511T POLYMORPHISM OF THE INTERLEUKIN-1 $\beta$  GENE  
ON INTERLEUKIN-1 $\beta$  PRODUCTION IN PATIENTS WITH CHRONIC INFLAMMATORY  
PROCESSES OF THE PARANASAL SINUSES**

*S.A.Levytska*

**Abstract.** An analysis of the influence of single nucleotide polymorphism of interleukin-1 $\beta$  gene on the IL-1 $\beta$  production was carried out in 48 patients with chronic purulent sinusitis, 52 patients with chronic polypous sinusitis and 35 healthy persons. It was established that a decrease of the IL-1 $\beta$  production revealed in cases of chronic purulent sinusitis may be caused by the presence of cytosine in position 511 of the promoter of the IL-1 $\beta$  gene. The mutant T-allele of C-511T polymorphism of the IL-1 $\beta$  gene was associated with an increase of the IL-1 $\beta$  production. The highest frequency of CC-genotype of C-511T polymorphism of the IL-1 $\beta$  gene was revealed in patients with chronic purulent sinusitis. The T-allele of C-511T polymorphism of the IL-1 $\beta$  gene can be a protective factor for the development of chronic purulent sinusitis.

**Key words:** gene polymorphism C-511T, interleukin-1 $\beta$ , chronic sinusitis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. І.Й.Сидорчук

Buk. Med. Herald. – 2011. – Vol. 15, № 2 (58). – P. 28-31

Надійшла до редакції 11.05.2011 року