

УДК 616.216.3-002.2:616.15:575

А. І. Гоженко¹
С. А. Левицька²
Л. П. Сидорчук²

¹ ДП Український НДІ медицини транспорту, м. Одеса

² Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

АЛЕЛЬНЕ І ГЕНОТИПІЧНЕ РІЗНОМАНІТТЯ ПОЛІМОРФІЗМІВ С-511Т ГЕНА ІL-1 β С-590Т ГЕНА ІL-4 ЯК ФАКТОРИ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ФОРМИ ХРОНІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ В НАВКОЛОНОСОВИХ ПАЗУХАХ У ДІТЕЙ

Ключові слова: генетичний поліморфізм, інтерлейкіни 1 β і 4, хронічний синусит.

Резюме. Результати дослідження точкових мутацій генів ІL-1 β (С-511Т) і ІL-4(С-590Т) у дітей, хворих на гнійну і поліпозну форми хронічних синуситів, дозволили висловити гіпотезу про генетичну детермінованість розвитку форми хронічного запалення в навколоносових синусах. Встановлено, що точкова мутація в 511 позиції промоторної зони гена ІL-1 β зменшує, а точкова мутація в 590 позиції промотора гена ІL-4 збільшує ризик розвитку хронічного запального процесу в навколоносових пазухах. Комбінація вказаних мутацій збільшує схильність до розвитку хронічного гіперпластичного запалення, в той час як відсутність мутацій в обох позиціях збільшує ймовірність розвитку хронічного ексудативного процесу в навколоносових пазухах.

Вступ

Хронічне запалення слизової оболонки навколоносових пазух (ННП) – одна з багатьох патологій із можливою генетичною детермінантою розвитку [10]. Чимало наукових досліджень останніх років присвячені пошуку генів-«кандидатів», відповідальних за розвиток хронічних синуситів [11;9]. Перспективним напрямком таких досліджень є вивчення поліморфізму промоторних зон генів цитокінів [5;4], оскільки саме такі мутації не впливають на структуру відповідної речовини, але визначають рівень її продукції й тим самим впливають на інтенсивність і напрямки імунних реакцій при реалізації запального процесу [6;1].

Генетично детермінований дисбаланс між продукцією основних прозапальних і протизапальних цитокінів здатен призвести до втрати імунологічного контролю над вогнищем запалення або до неадекватності імунних реакцій при первинній альтерації етіологічним чинником [8].

Мета дослідження

Вивчити частоту виявлення точкових однонуклеотидних мутацій в промоторних ділянках генів ІL-1 β та ІL-4 при різних формах хронічних синуситів у дітей та визначення їх діагностичної значущості як потенційних факторів ризику розвитку хронічного запалення в ННП.

Матеріал і методи

Поліморфізм генів ІL-1 β та ІL-4 вивчені в 135 дітей, об'єднаних у три групи спостереження. Першу групу (n=48) склали хворі на хронічний гнійний синусит (ХГС), другу (n=52) – хворі на хронічний поліпозний синусит (ХПС). Третя, контрольна група, складалася з 35 практично здорових дітей без запальної патології в навколоносових пазухах.

Матеріалом для молекулярно-генетичного дослідження була ДНК, виділена з лімфоцитів периферійної венозної крові пацієнтів за допомогою набору реагентів «ДНК-сорб-В». ПЛР-реакцію проводили із використанням Таq-ДНК-полімерази та специфічних праймерів. Дискримінацію алелей проводили за допомогою специфічних ендонуклеаз рестрикції AVAI і AVAII («Fermentas®», Литва) у реакції гідролізу. Рестрикційні продукти ПЛР розділяли за допомогою електрофорезу у 2% агарозному гелі в присутності трисборатного буфера (ТТБ), концентрованого з бромідом етидію, 30-45 хвилин: розрізняли «мутантну» AVAII-резистентну Т-алель та «дику» С-алель [7]. Фрагменти візуалізували за допомогою транслюмінатора у присутності маркера молекулярних мас 100-1000 bp («СибЭнзим», Росія).

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою програми «Statistica 6» [3]. Ідентифікацію досліджуваного показника як

маркера ризику оцінювали методами клінічної епідеміології за результатами обчислення відношення шансів [2].

Обговорення результатів дослідження

У групах спостереження мутацій в 511 позиції промотора гена IL-1 β і 590 позиції промотора гена IL-4 не виявлено в 17 випадках. Найбільша кількість гомозигот за «дикими» С-алелями обох генів виявлена серед дітей, хворих на ХГС (25%, n=12), в той час як у дітей, хворих на ХПС і в дітей контрольної групи даний показник склав 1,92 % (n=1) і 11,43 % (n=4) відповідно (табл. 1).

Патологічний «мутантний» Т-варіант у 590 позиції промотора гена IL-4 у СС-гомозигот за поліморфним варіантом гена I β (С-511Т) зафіксований у 38 випадках (n=28, 15%). Тимін у 590 позиції гена IL-4 знаходили однаково часто як у дітей із хронічним ексудативним запаленням у ННП (31,25 %, n=15), так і в дітей із поліпозною формою враження ННП (38,46 %, n=20). У той же час даний показник у контрольній групі був значно меншим (8,57 %, n=3).

Патологічний «мутантний» Т-варіант в 511 позиції промотора гена IL-1 β у СС-гомозигот за поліморфним варіантом гена IL-4(С-590Т) був зафіксований в 27 випадках (n=20 %). При порівнянні серед груп спостереження встановлено, що носіями патологічного Т-алелю поліморфного варіанта гена IL-1 β найчастіше були діти контрольної групи (45,71 %, n=16). Даний показник у групі дітей із хронічним ексудативним запаленням склав 16,67 % (n=8), а в групі дітей, хворих на ХПС, - 5,77 % (n=3; табл.1). Мутантні алелі поліморфних варіантів обох генів одночасно знайдені в 53 дітей (39,25 %). При цьому найбільше носіїв «мінорних» алелів обох досліджуваних генів виявлено в групі дітей із хронічним продуктивним запаленням ННП – 53,85 % (n=28), а найменше – в групі дітей із хронічним ексудативним запаленням – 27,08 % (n=13; табл.1).

Таким чином, близько половини дітей, хворих на хронічний поліпозний синуїт, виявлена мутация в промоторній зоні обох досліджуваних генів інтерлейкінів. Домінуючими поліморфними алельними варіантами в групі дітей із хронічним

Таблиця 1

Розподіл генотипів поліморфізму С-511Т гена IL-1 β і поліморфізму С-590Т гена IL-4 залежно від форми хронічного запалення

Генотип С-511Т поліморфізму гена IL-1 β	Генотип С-590Т поліморфізму гена IL-4		
	СС	СТ	ТТ
Діти, хворі на хронічний гнійний синуїт, n=48(%)			
СС	12(25)	12(25)	3(6,25)
СТ	7(14,58)	8(16,67)	0
ТТ	1(2,08)	4(8,33)	1(2,08)
Діти, хворі на хронічний поліпозний синуїт, n=52(%)			
СС	1(1,92)	17(32,69)	3(5,77)
СТ	1(1,92)	15(28,85)	2(3,85)
ТТ	2(3,85)	9(17,31)	2(3,85)
Контрольна група			
СС	4(11,43)	3(8,57)	1(2,86)
СТ	12(34,29)	10(28,57)	-
ТТ	3(8,57)	2(5,71)	-

Таблиця 2

Алельне і генотипічне різноманіття поліморфізмів С-511Т гена IL-1 β і С-590Т гена IL-4 як фактори ризику розвитку типу хронічного запалення

№пп	Потенційний фактор ризику	Хворі на хронічний гнійний синуїт (n=48)		Хворі на хронічний поліпозний синуїт (n=52)	
		ВШ	ДІ	ВШ	ДІ
1	IL-1 β (ТС, ТТ)+IL-4 (ТС, ТТ)	0,71	0,27-1,86	2,24	0,91-5,53
2	IL-1 β (ТС, ТТ)+ IL-4 (СС)	0,24	0,09-0,67	0,07	0,02-0,27
3	IL-1 β (СС)+ IL-4 (ТС, ТТ)	4,85	1,25-18,90	6,67	1,79-24,97
4	IL-1 β (СС)+ IL-4 (СС)	2,58	0,75-8,92	0,15	0,02-1,47
5	IL-1 β (СТ)+ IL-4 (СТ)	0,5	0,1-2,53	1,01	0,22-4,71

Примітка. ВШ – відношення шансів, ДІ – довірчі інтервали

продуктивним запаленням у ННП були комбінація двох «мутантних» Т-алелей обох генів, або ж наявність тиміну в 590 позиції промоторної зони гена IL-4 (табл. 1).

При аналізі алейного різноманіття генів обох інтерлейкінів у групі дітей із хронічним ексудативним запаленням встановлено, що найбільша кількість хворих були носіями Т-алелі гена IL-4 (31,25 %), а найменша – носіями тиміну в 511 позиції гена IL-1 β (16,67 %). Кожна четверта дитина, хвора на ХГС, мала СС-генотип за дослідженням поліморфізмів промоторних ділянок обох генів.

Контрольна група характеризувалася найбільшою частотою зустрічання мутації в промоторній зоні IL-1 β . Тимін в 590 позиції промотора гена IL-1 β , знайдений майже в кожній третій дитині із запальними процесами в ННП, у групі контролю був виявлений тільки у 8,57 % (табл. 1).

Для визначення потенційних генетичних факторів ризику розвитку форми хронічного запалення в ННП у дітей проведений аналіз показника відношення шансів із визначенням ширини довірчих інтервалів у п'яти обраних комбінацій генотипів: «IL-1 β (ТС,ТТ)+IL-4(ТС,ТТ)», «IL-1 β (ТС,ТТ)+ IL-4(СС)», «IL-1 β (СС)+ IL-4(ТС,ТТ)», «IL-1 β (СС)+ IL-4(СС)», «IL-1 β (СТ)+ IL-4(СТ)».

Встановлено, що наявність «мутантної» Т-алелі С-511Т поліморфізму гена IL-1 β є протективним фактором щодо розвитку хронічного гнійного (ВШ-0,24; табл.2) і хронічного поліпозного (ВШ-0,07) запального процесу в ННП у дітей. У той же час мутація в 590 позиції промотора гена IL-4 збільшує ризик розвитку в дитини ХГС у 3,44 рази, а ХПС у 4,22 рази (табл. 2).

Відсутність мутацій у СС-гомозиготи за обома видами поліморфізму збільшує ризик розвитку хронічного ексудативного запалення в ННП, проте зменшує ймовірність поліпозного переродження слизової оболонки (табл.2). Натомість носійство «мутантних» Т-алелів обох генів збільшує ризик розвитку ХПС (ВШ-2,24; табл. 1).

Отримані результати клініко-епідеміологічного дослідження свідчать про існування генетично обумовленої схильності до розвитку типу хронічного запалення в ННП.

Висновки

1. Носійство хоча б одного «мутантного» Т-алелю генів IL-1 β (С-511Т) та IL-4 (С-590Т) виявилось характерним для абсолютної більшості (87,41%) досліджуваних. При цьому одночасне носійство «мінорних» алелів генів IL-1 β (С-511Т) та IL-4 (С-590Т) виявлене майже в третині випадків.

2. Серед дітей, хворих на ексудативну і продуктивну форму хронічного запалення навколосових пазух, домінували гетерозиготи за обома видами поліморфізму, в той час як в контрольній групі домінували носії «мутантного» Т-алелю гена IL-1 β (С-511Т).

3. Точкова мутація в 511 позиції промоторної зони гена IL-1 β зменшує, а точкова мутація в 590 позиції промотора гена IL-4 збільшує ризик розвитку хронічного запального процесу в ННП.

4. Комбінація мутацій в промоторних зонах генів IL-1 β (С-511Т) і IL-4(С-590Т) збільшує схильність до розвитку хронічного гіперпластичного запалення, в той час як відсутність мутацій в обох позиціях збільшує ймовірність розвитку хронічного ексудативного запалення в навколосових пазухах.

Перспективи подальших досліджень

Дослідження генетичної детермінованості розвитку хронічного запального процесу в навколосових пазухах дозволить виявити гени-«кандидати» і вдосконалити як діагностичний алгоритм, так і засоби профілактики синуситів.

Література. 1. *Левицька С.А.* Вплив поліморфізму С-590Т гена інтерлейкіну 4 на продукцію інтерлейкіну 4 у хворих на хронічні запальні процеси біляносових пазух / С.А.Левицька // Клінічна та експериментальна патологія. - 2011. -Т.Х, №3(37).-С.110-113. 2. 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. 3. Халафян А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник / Халафян А.А. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.,ил. 4. Bernstein J.M. Genetic polymorphisms in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis / J.M.Bernstein, J.B.Anon, M.Rontal et al. // Laryngoscope. – 2009. – Vol.119(7). – P.1258-1264. 5. Castano R. Evidence of association of interleukin-1 receptor-like 1 gene polymorphisms with chronic rhinosinusitis / R.Castano, Y.Bossı, L.M.Endam, M.Desrosiers // Am.J.Rhinol.Allergy.-2009. – Vol.23(4). – P.377-384. 6. Endam L.M. Polymorphisms in the interleukin-22 receptor alpha-1 gene are associated with severe chronic rhinosinusitis / L.M.Endam, Y.Bossı, A.Filali-Mouhim et al. // Otolaryngol.Head Neck Surg. – 2009. – Vol.140(5). –P.741-747. 7. Klimkowicz-Mrowiec A. Interleukin-1 gene -511 CT polymorphism and the risk of Alzheimer's disease in a Polish population / A.Klimkowicz-Mrowiec, M.Marona, P.WoBr€-k et al. // Dement Geriatr Cogn Disord. – 2009. – Vol.28 (5). – P.461-464. 8. 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.Bossı et al. // Arch.Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2010. – Vol.136(2). – P.187-192. 9. Mfuna-Endam L. Genetics of rhinosinusitis / L.Mfuna-Endam, Y.Zhang, M.Y.Desrosiers // Curr.Allergy Asthma Rep. – 2011. – Vol.11(3). – P.236-246. 10. Sitarek P. Role of the -765 G/C polymorphism of COX-2 gene in pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nose polyps in a Polish population/ Sitarek P, Zielinska-Blizniewska H, Milonski J. et al.// Otolaryngol Pol. – 2012. – Vol.66(3). –P.181-184. 11. Zhang Y. Polymorphisms in the nitric oxide synthase 1 gene are associated with severe chronic rhinosinusitis /Y.Zhang, L.M.Endam, A.Filali-Mouhim et al. // Am.J.Rhinol.Allergy. – 2011. – Vol.25(2). – P.49-54.

**АЛЛЕЛЬНОЕ И ГЕНОТИПИЧЕСКОЕ
РАЗНООБРАЗИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ С-511Т ГЕНА
IL-1 β И С-590Т ГЕНА IL-4 КАК ФАКТОРЫ РИСКА
РАЗВИТИЯ ФОРМЫ ХРОНИЧЕСКОГО
ВОСПАЛЕНИЯ В ОКОЛОНОСОВЫХ ПАЗУХАХ У
ДЕТЕЙ**

А. И. Гоженко, С. А. Левецкая, Л. П. Сидорчук

Резюме. Результаты исследования точечных мутаций генов IL-1 β (С-511Т) и IL-4(С-590Т) у детей с гнойной и полипозной формами хронических синуситов позволили высказать гипотезу о генетической детерминированности развития формы хронического воспаления в околоносовых синусах. Установлено, что точечная мутация в 511 позиции промоторной зоны гена IL-1 β уменьшает, а точечная мутация в 590 позиции промотора гена IL-4 увеличивает риск развития хронического воспалительного процесса в околоносовых пазухах. Комбинация указанных мутаций увеличивает склонность к развитию хронического гиперпластического воспаления, в то время как отсутствие мутаций в обеих позициях увеличивает вероятность развития хронического экссудативного процесса в околоносовых пазухах.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, интерлейкины 1 β и 4, хронический синусит.

**THE ALLELIC AND GENOTYPIC DIVERSITY OF
POLYMORPHISM C-511T IL-1 β GENE AND C-590T
IL-4 GENE AS A RISK FACTORS OF THE
DEVELOPMENT OF FORMS OF CHRONIC
INFLAMMATION IN PARANASAL SINUSES IN
CHILDREN**

A. I. Gozhenko, S. A. Levytska, L. P. Sydorчук

Abstract. Purpose is to investigate the influence of point-mutations of genes IL-1 β (C-511T) and IL-4(C-590T) on the production of proper cytokines in children with purulent and polypous forms of chronic sinusitis. Design / approach – case-control investigation of the interleukin-1-beta and interleukin-4 in blood serum as well as C-511T polymorphism of interleukin-1-beta gene and C-590T polymorphism of interleukin-4 gene in 48 patients with chronic purulent sinusitis, 52 patients with chronic polypous sinusitis and 35 healthy persons. It has been established that the mutation in 511 position of promoter zone of IL-1 β -gene decreases the risk of the development of the purulent sinusitis as well as mutation in 590 position of promoter zone of IL-4-zone shows the increased probability of the development of polypous form of chronic inflammation. The combination of these mutations increases the propensity for the development of chronic hyperplastic inflammation while the absence of mutations in both positions increases the likelihood of developing chronic exudative process in the paranasal sinuses. The results of the investigation allowed to make a hypothesis of genetic conditionality of the development of the type of chronic inflammation in paranasal sinuses.

Key words: genetic polymorphism, interleukins 1- β and 4, chronic sinusitis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.- 2012.- Vol.11, №3(41).-P.41-44.

Надійшла до редакції 25.08.2012

Рецензент – проф. О.В.Захарчук

© А. И. Гоженко, С. А. Левецкая, Л. П. Сидорчук, 2012