

Роль полиморфизма генов *IL1β* (+3953)С/Т и *IL8* (-251)А/Т в развитии *H. pylori*-ассоциированного хронического гастрита

Саранчина Ю.В.* , Агеева Е.С., Штыгашева О.В., Иптышев В.М.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова»; * july.saran4ina2010@yandex.ru

Целью исследования является выявление роли полиморфных вариантов генов *IL1β* (+3953)С/Т и *IL8* (-251)А/Т при *H. pylori*-ассоциированном поверхностном хроническом гастрите (ПХГ). В исследование было включено 104 пациента с ПХГ, ассоциированным с *H. pylori*-инфекцией и 64 практически здоровых пациента. Обнаружено, что наиболее частыми у больных с *H. pylori*-ассоциированным ПХГ по сравнению с группой здоровых доноров являлись генотип *IL1β* (+3953)С/С и сочетание генотипов *IL1β* (+3953)С/С + *IL8* (-251)А/А.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, полиморфизм генов, интерлейкины

The role of gene polymorphism of *IL1β* (+3953)С/Т and *IL8* (-251)А/Т in the development *H. pylori*-associated chronic gastritis

Saranchina Y.V.* , Ageeva E.S., Shtygasheva O.V., Iptyshev V.M.

Federal State-Funded Educational Institution of Higher Professional Education «Katanov Khakass State University»; * july.saran4ina2010@yandex.ru

The aim of the study is to identify the role of polymorphic variants of genes *IL1β* (+3953)С/Т and *IL8* (-251)А/Т at *H. pylori*-associated chronic gastritis. The study included 104 patients with superficial chronic gastritis, associated with *H. pylori* infection and 64 healthy patients. Discovered the dominance of homozygous genotype of *IL1β* (+3953) С/С in patients with SCG. The haplotype *IL1β* (+3953)С/С + *IL8* (-251)А/А dominated at patients with SCG. It is revealed the most frequent at patients with *H. pylori*-associated chronic gastritis in comparison with group of healthy donors were the genotype of *IL1β* (+3953)С/С and combination of genotypes of *IL1β* (+3953)С/С + *IL8* (-251)А/А.

Key words: *Helicobacter pylori*, gene polymorphism, interleukin

Введение

H. pylori стимулирует запуск цитокинового каскада, играющего ключевую роль в реализации хронических воспалительных и деструктивных процессов в слизистой оболочке желудка [1]. Одним из важных цитокинов в патогенезе *H. pylori*-ассоциированных заболеваний является ИЛ-1β. Он первым включается в ответную защитную реакцию организма и играет основную роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета. Уровень ИЛ-1β варьирует в зависимости от стадии и оказывает влияние на течение и исход заболевания [2—4]. Работами разных авторов показано, что в начале воспалительного заболевания происходит повышение продукции ИЛ-1β [5—8]. По мере уменьшения активности воспалительного процесса наблюдается снижение ИЛ-1β, что вероятно, может расцениваться как показатель завершения патологического процесса и начала процессов регенерации [9, 10].

ИЛ-8 является одним из провоспалительных цитокинов, выполняет функцию хемотаксического фактора для

нейтрофилов и привлечении их в очаг воспаления *in vivo* [11], вызывает экспрессию молекул межклеточной адгезии и усиливает прилипание нейтрофилов к эндотелиальным клеткам и субэндотелиальным матричным белкам, что свидетельствует о его основной роли в опосредовании воспалительного ответа. Клетками-продуцентами ИЛ-8 являются макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты, эпителиальные клетки, фибробласты, клетки эпидермиса. *H. pylori* стимулирует секрецию ИЛ-8 желудочными эпителиоцитами [12].

Уровень продукции цитокинов детерминируется генами. Наиболее изученными полиморфными вариантами генов интерлейкинов являются *IL1β* (+3953)С/Т и *IL8* (-251)А/Т. Однако, мало сведений, посвященных фенотипическому проявлению сочетанного наследования нескольких полиморфных вариантов при данном заболевании. В связи с чем изучение полиморфных вариантов генов интерлейкинов является актуальным.

Цель исследования: выявление роли комбинированного наследования полиморфных вариантов генов *IL1β* (+3953)С/Т и *IL8* (-251)А/Т при *H. pylori*-ассоциированном хроническом гастрите.

Материалы и методы

В исследование было включено 104 пациента с поверхностным хроническим гастритом (ПХГ), ассоциированным с *H. pylori*-инфекцией в фазе обострения (59 женщин и 45 мужчин, средний возраст — $39,7 \pm 1,8$ года), которые поступили в III терапевтическое отделение ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Я. Ремишевской». Диагноз *хронический гастрит* устанавливался при морфологическом исследовании в соответствии с классификацией, разработанной на основе Сиднейской системы, с использованием эзофагогастродуоденоскопии (оценивались признаки, разработанные на основе Лос-Анджелесской системы). В качестве контрольной группы были исследованы 64 здоровых пациента (37 женщин и 27 мужчин, средний возраст — $26,7 \pm 1,9$ года), которые не имели на момент исследования острых респираторных заболеваний, а также у них отсутствовала инфекция *H. pylori*, подтвержденная одним из четырех методов: быстрым уреазным тестом, гистобактериоскопическим исследованием гастробиоптатов, серологическим и методом ПЦР.

В группы исследования входили европеоиды, проживающие на территории Республики Хакасия (согласно опросам, русские по национальности). Все обследуемые подписали информированное согласие на проведение исследования. В качестве материала для генетического анализа использовали образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической крови фенольным методом. Генотипирование аллельных вариантов генов в позициях *IL1β* (+3953) С/Т (rs 1143634) и *IL8* (-251) А/Т (rs 4073) осуществляли методом рестрикционного анализа продуктов амплификации. В качестве ферментов для рестрикции использовали TagI для *IL1β* (+3953)С/Т и MfeI для *IL8* (-251) А/Т.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0. Достоверность различий в распределении частот аллелей и генотипов между группами выявляли путем сравнения выборок с использованием критерия χ^2 с поправкой Йетса. Статистически значимыми считали

различия при $p \leq 0,05$. О риске развития ПХГ судили по отношению шансов (odds ratio — OR) с 95%-ным доверительным интервалом (CI).

Результаты и обсуждение

Ген, кодирующий *IL-1β*, картирован на хромосоме 2 (2q13-21) и имеет несколько полиморфных локусов. В области данного гена к настоящему времени обнаружено 659 SNP (согласно базе данных NCBI). Нами был изучен полиморфизм, который находится в экзоне 5 и приводит к замене цитозина (С) на тимин (Т) в положении (+3953) (rs 1143634). Равновесие между продукцией и угнетением синтеза белков семейства *IL-1* играет одну из ключевых ролей в развитии, регуляции и исходе воспалительного процесса [13].

В ходе нашего исследования было выявлено, что в группе пациентов с *H. pylori*-ассоциированным ПХГ наиболее частым генотипом был гомозиготный по «дикому» аллелю *IL1β* (+3953)С/С (56,1%) (табл. 1).

При этом данный генотип статистически значимо чаще встречался у больных по сравнению с контрольной группой (39,0%, при $p = 0,016$). Встречаемость гетерозиготного генотипа *IL1β* (+3953)С/Т (32,9 %) в группе больных ПХГ была статистически значимо ниже по сравнению с группой здоровых доноров (48,8%, $p = 0,021$). Генотип *IL1β* (+3953)Т/Т в обеих обследуемых группах встречался с одинаковой частотой.

Ген, кодирующий *IL-8*, картирован на хромосоме 4 (4q12-13). Полиморфизм гена *IL8* (-251)А/Т ассоциирован с высокой инфильтрацией слизистой оболочки желудка нейтрофилами и продукцией *IL-8* при *H. pylori*-инфекции [14, 15]. В данном исследовании было установлено, что у больных с ПХГ частота генотипов *IL8* (-251)А/Т не имела статистически значимых различий по сравнению с группой контроля (табл. 1).

Следующим этапом исследования явился анализ ассоциации *IL1β* (+3953)С/Т и *IL8* (-251)А/Т с риском развития ПХГ (табл. 2).

Таблица 1

Частота генотипов гена *IL1β* (+3953)С/Т и *IL8* (-251)А/Т у больных с *H. pylori*-ассоциированным хроническим гастритом

Генотипы (%)		Здоровые доноры	Больные с ПХГ	χ^2	OR	p
<i>IL1β</i> (+3953)С/Т	С/С	39,0	56,1	5,77	1,99 (1,09-3,64)	0,016
	С/Т	48,8	32,9	5,26	0,51 (0,28-0,94)	0,021
	Т/Т	12,2	11,0	0,05	0,91 (0,35-2,34)	0,82
<i>IL8</i> (-251)А/Т	Т/Т	31,7	32,9	0,002	1,05 (0,56-1,97)	0,88
	Т/А	53,7	49,3	0,5	0,82 (0,45-1,48)	0,48
	А/А	14,6	17,8	0,32	1,24 (0,45-2,81)	0,56

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые результаты

Распределение встречаемости комбинации генотипов полиморфных локусов *IL1β* (+3953)С/Т и *IL8* (-251)А/Т у больных с *H.pylori*-ассоциированным хроническим гастритом

Комбинация полиморфизмов		Больные с ПХГ	Здоровые	χ^2	OR	p
<i>IL1β</i> (+3953)С/Т	<i>IL8</i> (-251)А/Т					
С/С	А/А	13,7	2,4	5,67	5,44 (1,16-25,52)	0,02
С/С	Т/А	20,5	19,5	0,03	1,06 (0,53-2,11)	0,86
С/С	Т/Т	21,9	19,5	0,12	1,13 (0,57-2,23)	0,73
С/Т	А/А	4,1	9,8	2,76	0,38 (0,11-1,24)	0,09
С/Т	Т/А	21,9	26,8	0,68	0,76 (0,33-1,46)	0,41
С/Т	Т/Т	6,8	9,8	0,58	0,6 (0,25-1,86)	0,44
Т/Т	А/А	0	2,4	2,02	—	0,16
Т/Т	Т/А	6,8	7,3	0,00	1,00(0,34-2,96)	1,00
Т/Т	Т/Т	4,1	2,4	0,69	2,04(0,37-11,41)	0,41

На первом месте по встречаемости в обеих обследуемых группах были сочетания генотипов *IL1β* (+3953)С/С+*IL8* (-251)Т/Т и *IL1β* (+3953)С/Т+*IL8* (-251)Т/А. Комбинированное наследование генотипов *IL1β* (+3953)С/С+*IL8* (-251)А/А статистически значимо чаще встречалось в группе больных с ПХГ, чем у здоровых доноров (13,7 и 2,4%, $\chi^2 = 5,67$). Наиболее редкими в обеих исследованных группах оказались сочетания генотипов *IL1β* (+3953)Т/Т+*IL8* (-251)А/А и *IL1β* (+3953)Т/Т+*IL8* (-251)Т/Т (табл. 2).

Выводы

В ходе проведенного исследования было оценено распределение аллельных вариантов (+3953)С/Т и (-251)А/Т и их сочетаний у больных с *H. pylori*-ассоциированным ПХГ и в контрольной группе. Обнаружена высокая частота встречаемости генотипа *IL1β* (+3953)С/С и сочетания генотипов *IL1β* (+3953)С/С+*IL8* (-251)А/А у больных по сравнению с группой контроля.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Список литературы

1. Tsukanov VV, Shtygasheva OV, Vasyutin AV, et al. Parametrs of proliferation and apoptosis of epithelial cells in the gastric mucosa in indigenous and non-indigenous residents of Khakassia with *Helicobacter pylori* positive duodenal ulcer disease. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2015;158(4):431-433.

2. Ильина АЕ, Станислав МЛ, Денисов ЛН и др. Интерлейкин 1 как медиатор воспаления и терапевтическая мишень. Научно-практическая ревматология. 2011;(3):62-71.

3. Маев ИВ, Кучерявый ЮА, Оганесян ТС. Аллельный полиморфизм интерлейкина-1β при геликобактериозе. Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. 2008;18(5):4-11.

4. Агеева ЕС, Штыгашева ОВ, Пуликов АС, Буторин НН. Роль IL-1 и IL-8 в патоморфозе слизистой оболочки желудка при *Helicobacter pylori*-ассоциированном гастрите. Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2011;(1-1):16-18

5. Бельмер СВ, Симбирцев АС, Головенко ОВ и др. Значение цитокинов в патогенезе воспалительных заболеваний толстой кишки у детей. Российский медицинский журнал. 2003;11(3):17-22.

6. Гучетль ЕВ, Колесникова НВ, Дорошенкова АЕ. Уровни содержания IL-1 и IL-1β у пациентов с внегочечным туберкулезом разной степени активности. Кубанский научный медицинский вестник. 2005;(5):77-79.

7. Китаев МИ. Провоспалительные и оппозиционные цитокины при хроническом обструктивном заболевании легких. Вестник КРСУ. 2012;12(1):110-113.

8. Мавров ГИ, Нагорный АЕ. Иммуные нарушения при половых инфекциях множественной этиологии (*Herpes simplex*, *Chlamidiatrachomatis*, *Trichomonas vaginalis*). Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. 2010;(3):117-122.

9. Штыгашева ОВ, Агеева ЕС, Иптышев ВМ. Роль иммунорегуляторных цитокинов в патогенезе хронического гастрита и язвенной болезни, поиск предикторов заболеваний. Сибирский медицинский журнал (г.Иркутск). 2011;100(1):88-90.

10. Павленко ВВ, Ягода АВ. Продукция интерлейкина-1β мононуклеарами периферической крови больных язвенным колитом. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2001;(5):37-40.

11. Васильева ГИ, Иванова ИА, Тюкавкина СЮ. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами. Иммунология. 2000;(5):11-17.

12. Козлова НН, Прокопенко ВД. Иммуный ответ инфекции *Helicobacter pylori*. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2007;(4):58-62.

13. Громова АЮ, Симбирцев АС. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека. Цитокины и воспаление. 2005;(2):24-35.

14. Lu W, Pan K, Zhang L. et al. Genetic polymorphisms of interleukin (IL)-1B, IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor

alpha and risk of gastric cancer in a Chinese population. Carcinogenesis. 2005.(26):631-636.

15. Kamali-Sarvestani E, Bazargani A, Masoudian M. et al. Association of *H. pylori* cagA and vacA genotypes and IL-8 gene polymorphisms with clinical outcome of infection in Iranian patients with gastrointestinal diseases. World J. Gastroenterol. 2006. 12(32):5205-5210.