

# ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Н.В. Епифанцева, Ю.А. Витковский, А.Н. Емельянова

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Россия

**Резюме.** Острые кишечные инфекции (ОКИ) широко распространены и занимают второе место в структуре инфекционной патологии, уступая только респираторным заболеваниям. В связи с этим большое внимание уделяется изучению ОКИ, в том числе и иммунопатогенетическим механизмам их развития. Поскольку в развитии воспалительных реакций играют немаловажную роль провоспалительные и противовоспалительные цитокины, влияя на тяжесть и исход заболевания, закономерным становится изучение полиморфизма генов, контролирующих продукцию данных молекул. Таким образом, целью нашей работы стало изучение полиморфизма генов *IL-1 $\beta$  T31C* и *IL-2 T330G*. Данные мутации характеризуются заменой нуклеотидов и затрагивают промоторные области генов, что влияет на скорость продукции и концентрацию соответствующих цитокинов. В исследовании приняли участие 108 пациентов с ОКИ, вошедшие в основную группу, и 94 здоровых человека — группа контроля. Анализу подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь», затем проводилась реакция амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Определение полиморфизма генов *IL-1*, *IL-2* осуществлялось методом ПЦР с использованием праймеров ООО «Литех» (Санкт-Петербург). Обработка полученных данных проводилась с использованием статистического пакета Statistica 6. При изучении носительства полиморфных маркеров гена *IL-1 $\beta$  T31C* с использованием мультипликативной модели наследования в обеих группах обнаружено преобладание нормальной аллели *T* и соответственно генотипов *-31TT* и *-31TC*;  $OR = 1,83$  и интервалом  $1,04-3,22$  ( $\chi^2 = 6,35$ ,  $p = 0,04$ ,  $df = 2$ ), что позволило выявить взаимосвязь между носительством гетерозиготного варианта гена *IL-1 $\beta$*  с предполагаемо повышенным риском развития ОКИ. Что же касается гена *IL-2 T330G*, то среди больных ОКИ носителей патологической аллели *G* оказалось значительно больше, чем в среди здоровых людей. При анализе частоты носительства разных вариантов гена *IL-2 T330G* достоверно установлено, что среди больных ОКИ преобладали носители гетерозиготного варианта *TG* — 56,48% ( $\chi^2 = 17,75$ ,  $F = 0,000031$ ) и патологического генотипа *GG* — 13,89% ( $\chi^2 = 12,31$ ,  $F = 0,000663$ ),  $p \leq 0,05$ , с высокой вероятностью взаимосвязи носительства данных генотипов с риском развитием заболевания ( $OR = 3,63$  [1,97–6,68] и  $OR = 6,91$  [2,12–22,59]). Следовательно, носительство полиморфных вариантов генов *IL-1 $\beta$ T31C* и *IL-2 T330G* ассоциировано с повышенным риском развития ОКИ в случае инфицирования патогенными микроорганизмами.

**Ключевые слова:** острые кишечные инфекции, воспаление, полиморфизм, цитокины, генотип, *IL-2 T330G*, *IL-1 $\beta$  T31C*.

---

**Адрес для переписки:**

Епифанцева Наталья Владимировна  
67200, Россия, Забайкальский край, г. Чита, ул. Горького, 39-А,  
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия.  
Тел.: 8 (914) 433-55-38.  
E-mail: en1608@yandex.ru

**Contacts:**

Natalya V. Epifantseva  
67200, Russian Federation, Zabaykalsky Krai, Chita, Gorkogo str., 39-A,  
Chita State Medical Academy.  
Phone: +7 (914) 433-55-38.  
E-mail: en1608@yandex.ru

**Для цитирования:**

Епифанцева Н.В., Витковский Ю.А., Емельянова А.Н. Полиморфизм генов провоспалительных цитокинов при острых кишечных инфекциях // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 3. С. 565–569. doi: 10.15789/2220-7619-POP-1268

**Citation:**

Epifantseva N.V., Vitkovsky Y.A., Emelyanova A.N. Polymorphism of pro-inflammatory cytokine genes in acute intestinal infections // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 3, pp. 565–569. doi: 10.15789/2220-7619-POP-1268

**POLYMORPHISM OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINE GENES IN ACUTE INTESTINAL INFECTIONS**

Epifantseva N.V., Vitkovsky Y.A., Emelyanova A.N.

Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation

**Abstract.** Acute intestinal infections are widespread and hold the second place among infectious diseases, giving way solely to respiratory diseases. In this regard, much attention has been paid to examining acute intestinal infections, including immunopathogenetic mechanisms. And since proinflammatory and antiinflammatory cytokines play an important role in development of inflammatory reactions affecting disease severity and outcome, it becomes reasonable to study polymorphism of genes governing production of related molecules. Thus, the aim of our study was to examine the polymorphism in the IL-1 $\beta$  *T31C* and IL-2 *T330G* genes; such mutations were characterized by nucleotide replacement affecting the gene promoters, which influenced production rate and level of the relevant cytokines. There were enrolled 108 patients with acute intestinal infections comprising main group as well as 94 apparently healthy subjects in the control group. Genomic DNA was isolated from the whole blood leukocytes by using a DNA-express-blood reagent, followed by conducting amplification reaction with two pairs of allele-specific primers. The polymorphism in the IL-1, IL-2 genes was determined by PCR with primers purchased from Litech LLC (St. Petersburg). Data processing was carried out by using the statistical Statistica 6 suite software. While assessing the carriage rate of IL-1 $\beta$  *T31C* gene polymorphic markers by using the multiplicative inheritance model in both groups, the prevalence of the normal *T* allele and, respectively of the  $-31TT$  and  $-31TC$  genotypes with OR = 1.83 and an interval of 1.04–3.22 ( $\chi^2 = 6.35$ ,  $p = 0.04$ ,  $df = 2$ ) was found, which allowed us to identify a relationship between the carriage of IL-1 $\beta$  gene heterozygous variant and potentially elevated risk of AII. Regarding the IL-2 *T330G* gene, it was found that pathological *G* alleles was more markedly abundant in patients with acute intestinal infections compared to control group. Analyzing diverse IL-2 *T330G* carriage rate in patients with acute intestinal infections revealed that carriers of the *TG* heterozygous variant predominated — 56.48% ( $\chi^2 = 17.75$ ,  $F = 0.000031$ ), whereas pathological genotype *GG* was found in 13.89% ( $\chi^2 = 12.31$ ,  $F = 0.000663$ ,  $p \leq 0.05$ ), with high probability of the relationship between carriage of these genotypes and a risk of disease development (OR — 3.63 [1.97–6.68] and OR — 6.91 [2.12–22.59]). Hence, the carriage of polymorphic variants of the IL-1 $\beta$ *T31C* and IL-2 *T330G* genes was associated with elevated risk of developing AII in case of infection with pathogenic microorganisms.

**Key words:** acute intestinal infections, inflammation, polymorphism, cytokines, genotype, IL-2 *T330G*, IL-1 $\beta$  *T31C*.

**Введение**

Острые кишечные инфекции (ОКИ) по-прежнему занимают лидирующие позиции в структуре инфекционных заболеваний и стоят на втором месте после острых респираторных заболеваний. По данным Роспотребнадзора, в РФ за 2018 заболеваемость ОКИ, вызванными установленными бактериальными и вирусными возбудителями, составила 179,24 на 100 тыс. населения, а ОКИ неустановленной этиологии — 348,80 на 100 тыс. населения. При этом у некоторых ОКИ протекают в легкой форме с быстрым выздоровлением, а у других отмечается тяжелое течение с развитием осложнений, и в этом немаловажную роль играет носительство полиморфных вариантов генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, так как образование и высвобождение высокоактивных молекул жестко регулируется генетическими механизмами [2]. «Нормальные» аллели генов по отдельности имеют слабый эффект, но их совокупность приводит к формированию особенностей иммунитета, predisposing к развитию инфекционного заболевания [3]. Так, уровень продукции некоторых цитокинов ассоциирован с определенными аллелями этих цитокинов. Например, аллель *A* в *G308A* гена фактора некроза опухолей- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) и аллель *TC589T* интерлейкина-4 (IL-4)

ответственны за повышенную транскрипцию генов, в результате чего повышается продукция цитокинов TNF $\alpha$  и IL-4. Значительное повышение концентрации данных цитокинов способствует быстрому прогрессированию заболевания и более тяжелому течению. Для гена интерлейкина-10 (IL-10) определяется замена в трех участках:  $-1082$ ,  $-819$ ,  $-592$  [4,5,7,8].

Цель данной работы — изучить частоту встречаемости полиморфных маркеров гена IL-1 $\beta$  (*T31C*), гена IL-2 (*T330G*) при острых кишечных инфекциях.

**Материалы и методы**

Нами было проведено обследование цельной крови 108 пациентов, находившихся на стационарном лечении с диагнозом «острая кишечная инфекция». Группу контроля составили здоровые — 94 человека. Определение полиморфизма генов IL-1 $\beta$ , IL-2 осуществлялось методом ПЦР с использованием праймеров ООО «Литех» (Санкт-Петербург). Анализу подвергалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь», затем проводилась реакция амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров.

Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при соблюде-

**Таблица 1. Распространенность полиморфизма гена IL-1 (T31C)**

Table 1. Prevalence of IL-1 (T31C) gene polymorphism

Аллели и генотипы Alleles and genotypes	Случаи/Cases (n = 108)		Контроль/Control (n = 94)		Всего/Total	
	абс./abs.	отн./rel.	абс./abs.	отн./rel.	абс./abs.	отн./rel.
Аллель T/Allele T	147		126			
Аллель C/Allele C	69		62			
Генотип TT/Genotype TT	46	42,59	46	48,94	92	45,54
Генотип TC/Genotype TC	55	50,93	34	36,17	89	44,06
Генотип CC/Genotype CC	7	6,48	14	14,89	21	10,4

нии равновесия Харди–Вайнберга и для сравнения распределения частот генотипов в группах использовался критерий  $\chi^2$ . В случае малого количества наблюдений использовался точный критерий Фишера. Для оценки шанса влияния отдельных генотипов использовалась таблица сопряженности  $2 \times 2$  ( $df = 1$ ), а для оценки гетерогенности влияния генотипов на развитие заболевания — таблица сопряженности  $3 \times 2$  ( $df = 2$ ) при уровне значимости  $p \leq 0,05$ . Анализ данных проводился с использованием статистического пакета Statistica 6.

## Результаты

Уровень экспрессии рецепторов в определенной степени зависит от аллельных вариантов полиморфных локусов, частота встречаемости которых может иметь значительные различия при патологических процессах. Например, известно, что дисбаланс в продукции IL-1 (IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IL-1RI) влияет на характер протекания воспалительных заболеваний и является одним из пусковых механизмов патологических

процессов [1]. При изучении частот генотипов и аллелей гена IL-1 $\beta$  (C31T) в основной и контрольной группах условия равновесия Харди–Вайнберга были соблюдены и соответствовали 1, что позволило для дальнейшего анализа использовать мультипликативную и общую модели наследования. В результате проведенного исследования носительства полиморфных вариантов гена IL-1 $\beta$  (C31T) установлено, что во всех группах превалирует носительство нормальной аллели T, при этом в группе контроля преимущественно встречался нормозиготный генотип –31TT, у больных ОКИ преобладал гетерозиготный вариант –31TC с OR = 1,83 и интервалом 1,04–3,22 ( $\chi^2 = 6,35$ ,  $p = 0,04$ ,  $df = 2$ ), что позволило выявить взаимосвязь между носительством данного варианта гена IL-1 с повышенным риском развития ОКИ (табл. 1, 3). Согласно же мультипликативной модели наследования, где  $\chi^2 = 0,05$ ,  $p = 0,82$  при  $df = 1$  ОШ = 1,05 и 0,95, статистической значимости взаимосвязи носительства аллели –C или –T с риском развития заболевания не установлено (табл. 2).

**Таблица 2. Мультипликативная модель наследования (тест хи-квадрат, df = 1)**Table 2. Multiplicative inheritance model ( $\chi^2$  test,  $df = 1$ )

Аллели	Случаи Cases (n = 108)	Контроль Control (n = 94)	$\chi^2$	P	OR	
					знач. values	95% CI
Аллель T Allele T	0,681	0,670	0,05	0,82	1,05	0,69–1,59
Аллель C Allele C	0,319	0,330			0,95	0,63–1,45

**Таблица 3. Общая модель наследования (тест хи-квадрат, df = 2)**Table 3. General inheritance model ( $\chi^2$  test,  $df = 2$ )

Генотипы Genotypes	Случаи Cases (n = 108)	Контроль Control (n = 94)	$\chi^2$	P	OR	
					знач. values	95% CI
Генотип TT Genotype TT	0,426	0,489	6,35	0,04	0,77	0,44–1,35
Генотип TC Genotype TC	0,509	0,362			1,83	1,04–3,22
Генотип CC Genotype CC	0,065	0,149			0,40	0,15–1,03

**Таблица 4. Распространенность полиморфизма гена IL-2 T330G**

Table 4. Prevalence of IL-2 T330G gene polymorphism

Аллели и генотипы Alleles and genotypes	Случаи/Cases (n = 108)		Контроль/Control (n = 94)		Всего/Total	
	абс./abs.	отн./rel.	абс./abs.	отн./rel.	абс./abs.	отн./rel.
Аллель T/Allele T	125		149			
Аллель C/Allele C	91		39			
Генотип TT/Genotype TT	32	29,63	59	62,76	91	45,05
Генотип TC/Genotype TC	61	56,48	31	32,98	92	45,54
Генотип CC/Genotype CC	15	13,89	4	4,25	19	9,41

**Таблица 5. Сравнение частот генотипов у пациентов с ОКИ и в группе контроля (хи-квадрат, критерий Фишера, отношения рисков)**

Table 5. Comparison of genotype frequencies in patients with All and in the control group (Chi-square, F-test, odds ration)

Генотипы Genotypes	Случаи Cases (n = 108)	Контроль Control (n = 94)	$\chi^2$	P	OR		F-критерий F-criterion
					знач. values	95% CI	
Генотип TT Genotype TT	32	59					
Генотип TC Genotype TC	61	31	17,75	0,05	3,63	1,97–6,68	0,000031
Генотип CC Genotype CC	15	4	12,31	0,05	6,91	2,12–22,59	0,000663

Что же касается распространенности полиморфизма гена IL-2 T330G, то установлено, что среди больных ОКИ носителей патологической аллели G значительно больше, чем в группе здоровых людей — соотношение составило 91:39 (табл. 4). Учитывая малое количество наблюдений в группе контроля (менее 5 случаев), был использован точный критерий Фишера. При анализе частоты носительства разных вариантов генотипов гена IL-2 T330G достоверно установлено, что среди больных ОКИ преобладали носители гетерозиготного варианта TG — 56,48% ( $\chi^2 = 17,75$ , F = 0,000031) и патологического генотипа GG — 13,89% ( $\chi^2 = 12,31$ , F = 0,000663),  $p \leq 0,05$ , с высокой вероятностью взаимосвязи носительства данных генотипов с риском развития заболевания (OR — 3,63 [1,97–6,68] и OR — 6,91 [2,12–22,59]) (табл. 5).

Продукция и концентрация цитокинов зависит от носительства различных вариантов соответствующих генов: например, у носителей мутантного гомозиготного варианта –31CC отмечается повышенное содержание IL-1 $\beta$  в сыворотке крови, что, в свою очередь, приводит к активации

естественных киллеров [4, 6]. Мутация T330G затрагивает промоторную область гена IL-2 и характеризуется заменой тиминового на гуаниновый нуклеотид; можно предполагать, что именно она влияет на скорость транскрипции и трансляции кодируемого белка IL-2 Т-хелперно-индуцирующими клетками 1 клона [6].

В нашем исследовании у пациентов с ОКИ отмечено преимущественно носительство аллели G с преобладанием гетерозиготного (–330TG) и мутантного гомозиготного (–330GG) генотипов IL-2, а также гетерозиготного варианта –31TC IL-1 $\beta$  с высоким уровнем прогностической значимости.

## Заключение

В результате исследований установлено, что носительство полиморфных маркеров гена IL-2 T330G и IL-1 $\beta$  T31C может быть ассоциировано с развитием ОКИ. Выявление данных вариантов генотипов может играть роль в прогнозировании повышенного риска развития и тяжести течения ОКИ.

## Список литературы/References

- Анохова Л.И., Белокрыницкая Т.Е., Страмбовская Н.Н. Полиморфизм генов провоспалительных цитокинов у женщин с преждевременными родами // Сибирское медицинское обозрение. 2018. № 2. С. 52–55. [Anokhova L.I., Belokrinitckaya T.E., Strambovskaya N.N. Polymorphism of genes of proinflammatory cytokines in women with preterm birth. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review*, 2018, no. 2, pp. 52–55. (In Russ.)] doi: 10.20333/2500136-2018-2-52-55
- Бодиенкова Г.М., Титова Ж.В. Роль полиморфизма и экспрессии отдельных генов цитокинов в формировании патологии (обзор) // Успехи современного естествознания. 2015. № 1–4. С. 616–620. [Bodienkova G.M., Titova Z.V.

- Polymorphism and gene expression cytokines in the formation of pathology (review). *Uspekhi sovremennogo estestvoznania = Advances in Current Natural Sciences*, 2015, no. 1–4, pp. 616–620. (In Russ.)]
3. Витковский Ю.А., Епифанцева Н.В. Уровень цитокинов и иммуноглобулинов у носителей полиморфных вариантов генов ИЛ-10 участка (G1082A) и ИЛ-4 участка (C589T) среди детей с коклюшной инфекцией // Врач-аспирант. 2012. № 3.4 (52). С. 602–606. [Vitkovsky Yu.A., Epifantseva N.V. Cytokine and immunoglobulin level in polymorphic variants of IL-10 (G1082a) and il-4 (C589t) gene region carriers among children with whooping cough. *Vrach-aspirant = Postgraduate Doctor*, 2012, no. 3.4 (52), pp. 602–606. (In Russ.)]
  4. Емельянова А.Н., Емельянов А.С., Витковский Ю.А. Полиморфизм промотора гена интерлейкина-2 (Т330G) при роже // Врач-аспирант. 2013. № 4.1 (59). С. 165–169. [Emelyanova A.N., Emelyanov A.S., Vitkovsky Yu.A. Polymorphism of the interleukin-2 (Т330G) gene promoter in erysipelas. *Vrach-aspirant = Postgraduate Doctor*, 2013, no. 4.1 (59), pp. 165–169. (In Russ.)]
  5. Коненков В.И., Ракова И.А., Максимов В.Н., Воевода М.И. Аллельный полиморфизм генов про- и противовоспалительных цитокинов при инфаркте миокарда в европеоидной популяции мужчин // Бюллетень сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2006. № 2. С. 56–62. [Konenkov V.I., Rakova I.G., Maximov V.N., Voevoda M.I. Allelic polymorphism of genes pro-and anti-inflammatory cytokines at myocardial infarction in populations of men rum. *Bulleten' sibirskogo otdelenia Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of Siberian Department of the Russian Academy of Sciences*, 2006, no. 2, pp. 56–62. (In Russ.)]
  6. Остапцева А.В., Шабалдин А.В., Ахматянова В.Р., Минина В.И., Глушков А.Н., Дружинин В.Г., Зоркольева И.В., Шабалдин Е.В., Глушкова О.А., Макаренченко О.С. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма генов интерлейкина-4 у телеутов, шорцев и европеоидов Кемеровской области // Медицинская иммунология. 2006. Т. 8, № 5–6. С. 737–740. [Ostapceva A.V., Shabaldin A.V., Akhmatianova V.R., Minina V.I., Glushkov A.N., Druzhinin V.G., Zorkoltseva I.V., Shabaldin E.V., Glushkova O.A., Makarchenko O.S., Ageeva T.N. Molecular genetic analysis of interleukin 4 gene polymorphism among teleutians, shorians, and caucasians in Kemerovo Region. *Medicinskaja immunologija = Medical Immunology (Russia)*, 2006, vol. 8, no. 5–6, pp. 737–740. (In Russ.)]
  7. Casanova J.-L., Abel L. Genetics dissection of immunity to mycobacteria: the human model. *Ann. Rev. Immunol.*, 2002, vol. 20, pp. 581–620. doi: 10.1146/annurev.immunol.20.081501.125851
  8. Jones N.M., Holzman C., Friderici K.H., Jernigan K., Chung H., Wirth J., Fisher R. Interplay of cytokine polymorphisms and bacterial vaginosis in the etiology of preterm delivery. *J. Reprod. Immunol.*, 2010, vol. 87, no. 1–2, pp. 82–89. doi: 10.1016/j.jri.2010.06.158

**Авторы:**

**Епифанцева Н.В.**, к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Россия;  
**Витковский Ю.А.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Россия;  
**Емельянова А.Н.**, д.м.н., доцент, зав. кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Россия.

**Authors:**

**Epifantseva N.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation;  
**Vitkovsky Y.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation;  
**Emelyanova A.N.**, PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation.

Поступила в редакцию 10.09.2019  
 Отправлена на доработку 29.03.2020  
 Принята к печати 14.04.2021

Received 10.09.2019  
 Revision received 29.03.2020  
 Accepted 14.04.2021