

НЕОНАТОЛОГИЯ

УДК: 616.24-002:616.073.4-8:616-053.2

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ НА РАЗВИТИЕ ТЯЖЕЛОЙ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ

Салихова К.Ш.¹, Абдурахманова Ф.Р.¹, Ишниязова Н.Д.², Агзамходжаева Б.У.¹, Саидмуродова Г.Ж.¹

¹Республиканский специализированный научно – практический центр педиатрии,

²Ташкентский педиатрический медицинский институт

XULOSA

Tadqiqot maqsadi. IL-1b va IL-6 interleykinlari tarkibini, shuningdek, yangi tug'ilgan chaqaloqlarda og'ir tug'ma pnevmoniya rivojlanishida 511-pozitsiyadagi IL-1b genlari polimorfizmlari va 174-pozitsiyadagi IL-6 genlarining rolini o'rganish edi.

Materiallar va usullar. Biz asosiy guruhni tashkil etgan Rossiya Milliy pediatriya ilmiy tibbiyot markazining neonatal reanimatsiya va reanimatsiya bo'limida yotgan tug'ma pnevmoniya (KP) bilan kasallangan 106 nafar yangi tug'ilgan chaqaloqni tekshirdik. Maxsus biokimyoviy tadqiqot usullari o'tkazildi, ular Elishay yordamida qondagi IL-1b, IL-6 tarkibini aniqlashdan iborat edi. IL-1b pozitsiyasida (-511) va IL-6 (-174) pozitsiyasida promotor hududlari genlarining polimorfizmi aniqlandi.

Olingan natijalar. Bizning ma'lumotlarimiz shuni ko'rsatdiki, yangi tug'ilgan chaqaloqlarda (muddati va erta tug'ilgan) CAP bilan sitokin profilidagi nomutanosiblik mavjud, bu yallig'lanishga qarshi interleykinlar IL-1b va IL-6 darajasining oshishi bilan tasdiqlanadi.

Xulosa. IL-1b va IL-6 sitokinlarining genetik variantlari yangi tug'ilgan chaqaloqlarda tug'ma pnevmoniyaning og'ir variantlarini rivojlanishiga yordam beradi va ushbu kasallikning shakllanishiga moyil bo'lishida muhim rol o'ynaydi.

Kalit so'zlar: tug'ma pnevmoniya, yangi tug'ilgan chaqaloqlar, interleykinlar, interleykin gen polimorfizmi.

Наибольший риск смерти от пневмонии в детском возрасте наблюдается в неонатальном периоде. Врожденная пневмония (ВП) - это тяжелое заболевание лёгких новорожденных, которое развивается в первые часы после рождения в результате трансплацентарного инфицирования и проникновения возбудителей в легкие плода из околоплодных вод или при прохождении по родовым путям матери и оказывает существенное влияние на дальнейшее физическое развитие ребенка, и может способствовать формированию хронической бронхолегочной болезни [1,4].

SUMMARY

Objective. The aim of the study was to study the content of interleukins IL-1 β and IL-6, as well as the role of polymorphisms of the IL-1 β genes at position 511 and IL-6 at position 174 in newborns on the development of severe congenital pneumonia.

Materials and methods. We examined 106 newborns with congenital pneumonia (CP) who were in the neonatal resuscitation and intensive care unit of the Russian National Research Medical Center of Pediatrics, who made up the main group. Special biochemical research methods were carried out, which consisted of determining the content of IL-1 β , IL-6 in the blood using ELISA. Polymorphism of the genes of the promoter regions of IL-1 β at position (-511) and IL-6 at position (-174) was determined.

Results. Our data showed that newborns (term and premature) with CP have an imbalance in the cytokine profile, which is confirmed by an increase in the level of pro-inflammatory interleukins IL-1 β and IL-6.

Conclusions. Genetic variants of the cytokines IL-1 β and IL-6 can contribute to the development of severe variants of congenital pneumonia in newborns and play an important role in the predisposition to the formation of this disease.

Keywords: congenital pneumonia, newborns, interleukins, interleukin gene polymorphism.

В настоящее время многие авторы отмечают значительную роль цитокинов в патогенезе развития врожденной пневмонии у новорожденных. Ведущими медиаторами инфекционного воспаления являются интерлейкин - 1 β (IL-1 β) и интерлейкин - 6 (IL-6). IL-1 β – многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играющий ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета, инициирует и регулирует воспалительные, иммунные процессы, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты [2, 4,5].

Интерлейкин-6 (IL-6) участвует в развитии воспаления, иммунных реакций, в регуляции кровотока, служит ростовым фактором плазматических клеток[5,6].

Выработка цитокинов в ответ на различные экзогенные агенты является генетически детерминированной. Согласно последним данным, различия в генах, контролирующим защитные реакции организма, могут влиять на уровень продукции цитокинов и тем самым на характер развития и протекания иммунного ответа [3,4,7,9, 10].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение содержания интерлейкинов IL-1 β и IL-6 у новорожденных с врожденной пневмонией, а также влияния полиморфизмов генов IL-1 β в позиции 511 и IL-6 в позиции 174 на развитие тяжелой врожденной пневмонии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 106 новорожденных с врожденной пневмонией (ВП), находившихся в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных РСНПМЦ Педиатрии, они составили основную группу. Дети основной группы были разделены на 2 подгруппы:

- I подгруппа-55 недоношенных новорожденных со сроком гестации -31,3 \pm 0,2 нед., со средней массой тела - 1608,5 \pm 125,47 гр.

- II подгруппа-51 доношенных новорожденных с гестационным возрастом в пределах 38,1 \pm 1,3неделя, со средней массой тела 3014,6 \pm 123,5г

Контрольную группу составили 20 здоровых доношенных новорожденных.

Кроме клинико-лабораторной и рентгенологической диагностики были проведены специальные биохимические методы исследования, которые заключались в определении содержания IL-1 β , IL-6 в крови методом ИФА на аппарате RANDOX (Англия) по иммунологической технологии БИОЧИП.

Определялся полиморфизм генов промоторных

регионов IL - 1 β в позиции (-511) и IL-6 в позиции (-174). Экстракция ДНК проводилась с помощью комплекта реагентов «Рибо-преп» (AmpliSens, Россия). Детекция полиморфизма генов проведена на приборе Rotor-Gene Q (Quagen, Германия) с использованием коммерческого набора (ООО Литех, Россия) по инструкции производителя. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием прикладных программ математико-статистического анализа Microsoft Excel Version 7.0 и Open Epi V 9.2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние всех детей основной группы оценивалось как очень тяжелое, за счет выраженной дыхательной недостаточности. В клинической картине у обследуемых новорожденных ведущими были признаки интоксикации, синдром дыхательных расстройств, неврологические расстройства.

Все новорожденные основной группы нуждались в интенсивной дыхательной терапии. У младенцев обеих групп наблюдались нарушения характера и ритма дыхания (тахипноэ, периодически возникающие приступы брадипноэ, вплоть до апноэ); изменения кислотно-основного равновесия крови (снижение парциального давления кислорода, гиперкапния, снижение рН), что явилось показанием для перевода их на аппаратное дыхание. Так, 43,6% новорожденных I подгруппы и 31,4% младенцев II подгруппы находились на аппарате ИВЛ, у остальных новорожденных обеих подгрупп основным методом респираторной поддержки был метод nCPAP (32,7% и 21,6%) и кислородотерапия через носовые канюли (рис. 1).

Определение уровня интерлейкинов у новорожденных проводилось на 3-5 сутки жизни. По результатам исследования, представленного в таблице 1, можно сказать, что у новорожденных основной группы имеется дисбаланс в цитокиновом профиле, тяжелое состояние которых в значительной степени снижает их способность реагировать на воспалительный процесс должным иммунным ответом.

Таблица 1

Уровень интерлейкинов в крови у новорожденных детей на 3-5 сутки жизни

Цитокины (пг\мл)	Основная группа N=106		Контроль N=20	P<
	1 подгруппа N=55	2 подгруппа N=51		
IL-1 β	29,8 \pm 0,81	32,9 \pm 0,67	6,6 \pm 0,21	0,01
IL-6	43,2 \pm 0,6	35,2 \pm 0,8	22,1 \pm 1,5	0,01

Примечание: P- достоверность различия между основной гр. и гр.контроля

Согласно данным, содержание обоих интерлейкинов у детей основной группы было статистически достоверно повышенными по сравнению с показателями группы контроля (P<0,01). Более высокие концентрации ИЛ-6 у детей 1 подгруппы по сравнению с детьми 2 подгруппы свидетельствует о более выраженном уровне ССВО с момента рождения и указывает на низкие темпы купирования воспалительного

процесса у незрелых новорожденных детей. [9]

Были определены частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных локусов T511C гена IL-1 β и C174G гена IL-6. Контрольную группу составили 83 новорожденных без данной патологии, данные о частоте встречаемости генов и генотипов которых были получены в ходе исследования. Ни в одной из сравниваемых групп и подгрупп не было выявлено

отклонений от равновесия Харди – Вайнберга по частотам генотипов изученных локусов ($P > 0,5$).

Нами была определена частота встречаемости аллелей и генотипов полиморфного локуса T511C гена IL-1β. В основной группе частота встречаемости неблагоприятной аллели С составила 20,3%, в контрольной – почти в 2 раза меньше (11,4%). Частота встречаемости гетерозиготного генотипа Т/С составила 29,2%, в группе контроля – 20,5%. Неблагоприятный генотип С/С в основной группе встречался почти в 5 раз чаще, чем в контрольной группе и составил 5,7%

против 1,2% в контрольной группе.

Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса T511C в гене IL-1β, основной и контрольной группах выявил существенные различия. (табл. 2) Согласно таблице 2, частота распределения патологического аллеля С, определенная в исследуемых группах, статистически значимо отличается друг от друга ($\chi^2 = 5,3$; $p = 0,30$; $OR = 1,96$; $95\%CI$ 1,1–3,5), что говорит о наличии взаимосвязи увеличения частоты неблагоприятной аллели С с тяжестью течения врожденной пневмонии.

Таблица 2

Различия в частоте аллельных и генотипических вариантов полиморфного локуса T511C гена IL-1β в исследуемых группах

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		Статистическое различие
	Основная группа	Контроль	
Аллель Т	169	147	$\chi^2 = 5,3$; $p = 0,30$; $OR = 1,96$, $95\%CI$ 1,10-3,5
Аллель С	43	19	
Генотип Т/Т	69	65	$\chi^2 = 3,9$; $p = 0,67$; $OR = 0,51$, $95\%CI$ 0,26-0,99
Генотип Т/С	31	17	
Генотип С/С	6	1	$\chi^2 = 2,5$; $p = 0,54$; $OR = 4,9$, $95\%CI$ 0,7-34,2

Также между подгруппой недоношенных детей (I подгруппа) с детьми контрольной группы по частоте неблагоприятной аллели С ($\chi^2 = 5,43$; $p = 0,44$; $OR = 2,15$; $95\%CI$ 1,1-4,1) имеются значимые отличия,

а также тенденция к возрастанию риска развития тяжелого течения ВП с гомозиготным генотипом С/С в 6 раз по сравнению с контролем ($\chi^2 = 3,48$; $p = 0,38$; $OR = 6,4$; $95\%CI$ 0,9-45,3). (табл. 3).

Таблица 3

Различия в частоте аллельных и генотипических вариантов полиморфного локуса T511C гена IL-1β в исследуемых группах

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		Статистическое различие
	I подгруппа	Контрольная группа	
Аллель Т	86	147	$\chi^2 = 5,43$ $p = 0,44$; $OR = 2,15$; $95\%CI$ 1,1-4,1
Аллель С	24	19	
Генотип Т/Т	35	65	$\chi^2 = 3,57$; $p = 0,52$; $OR = 0,48$; $95\%CI$ 0,2-1,0
Генотип Т/С	16	17	
Генотип С/С	4	1	$\chi^2 = 3,48$; $p = 0,38$; $OR = 6,4$; $95\%CI$ 0,9-45,3

Таким образом, полиморфизм в промоторном регионе гена IL-1β в позиции -511 оказывает влияние на течение врожденной пневмонии у новорожденных и способствует повышению уровня синтезируемого IL-1 β. Таким образом, генетическими факторами, влияющими на развитие тяжелого течения врожденной пневмонии, являются носительство неблагоприятной аллели С (в 2 раза), патологического генотипа С/С (в 6,4 раза) локуса T511C гена IL-1β у недоношенных детей.

Была изучена частота распределения аллелей и генотипов полиморфного локуса C174G гена IL-6 в изучаемых группах. В основной группе частота встречаемости неблагоприятной аллели G составила 18,9%, в контрольной – 19,9%, однако, в подгруппе недоношенных новорожденных её частота была выше (23,6%), относительно контрольной. Также

было выявлено небольшое повышение частоты неблагоприятного гомозиготного генотипа G/G в подгруппе недоношенных новорожденных (9,1%) по сравнению с контролем (6,0%). Гетерозиготный генотип C/G также чаще встречался в этой подгруппе больных (29,1% против 27,7% в контроле). Анализ частоты распределения аллелей полиморфного локуса C174G гена IL-6 в основной группе пациентов и контроля выявил, что частота неблагоприятной аллели G статистически значимо не отличается друг от друга ($\chi^2 = 0,06$; $p = 0,45$; $OR = 0,93$; $95\%CI$ 0,55-1,56). То же самое можно сказать и о гетерозиготном ($\chi^2 = 0,04$; $p = 0,56$; $OR = 0,93$; $95\%CI$ 0,48-1,79) и гомозиготном ($\chi^2 = 0,01$; $p = 0,56$; $OR = 0,93$; $95\%CI$ 0,27-3,18) генотипах. Но всё же по частоте неблагоприятной аллели G ($\chi^2 = 3,4$; $p = 0,35$; $OR = 1,94$; $95\%CI$ 0,95-3,95) прослеживается тенденция к возрастанию риска раз-

вития тяжелой врожденной пневмонии почти в 2 раза в подгруппе недоношенных новорожденных по срав-

нению с подгруппой доношенных новорожденных (табл. 4).

Таблица 4

Различия в частоте распределения аллелей и генотипов полиморфного локуса C174G в гене IL-6 между группами новорожденных

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		Статистическое различие
	I подгруппа	II подгруппа	
Аллель С	84	88	$\chi^2 = 3,4$; $p=0,35$; $OR=1,94$; $95\%CI$ 0,95-3,95
Аллель G	26	14	
Генотип C/C	34	38	$\chi^2 = 1,95$; $p=0,61$; $OR=0,55$; $95\%CI$ 0,24-1,26
Генотип C/G	16	12	$\chi^2 = 0,42$; $p=0,50$; $OR=1,33$; $95\%CI$ 0,55-3,17
Генотип G/G	5	1	$\chi^2 = 2,51$; $p=0,50$; $OR=5,0$; $95\%CI$ 0,68-36,48

Частота распределения патологического генотипа G/G в подгруппе недоношенных новорожденных в 5 раз выше, по сравнению с подгруппой доношенных новорожденных детей ($\chi^2 = 2,51$; $p=0,50$; $OR=5,0$; $95\%CI$ 0,68-36,48), но они статистически незначимы.

Проведенное нами исследование показало, что наиболее значимыми единичными генетическими маркерами, оказывающими наибольший риск на развитие врожденной пневмонии, являются: носительство аллеля G (в 1,9 раз), генотипа G/G (в 5,0 раз) полиморфного локуса C174G гена IL-6 у недоношенных новорожденных детей;

В результате анализа межгенного взаимодействия генов цитокинов IL-1 β и IL-6, вовлеченных в регуляцию воспалительного процесса у 5 новорожденных с ВП выявлены оба полиморфизма генов, которые взаимодействуя между собой, способствуют повышению риска развития тяжелой ВП.

ВЫВОДЫ

Таким образом, полученные нами данные показали, что у новорожденных детей (доношенных и недоношенных) с врожденной пневмонией выявлено наличие дисбаланса в цитокиновом профиле, что подтверждается повышением уровня цитокинов IL-1 β и IL-6.

Генетические варианты цитокинов IL-1 β и IL-6 могут способствовать развитию тяжелых вариантов течения врожденной пневмонии у новорожденных и играть важную роль в предрасположенности к формированию данного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богданова Т.З., Фатыхова А.И., Данилко К.В. Генетические маркеры дыхательных расстройств у новорожденных. Р.З. и др. // Вопросы практической педиатрии, 2008, №6. С.12-16.
2. Володина Н.Н. Неонатология. Клинические рекомендации. // под ред., Д.Н. Дегтярева, Д.С. и др - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. С. 220
3. Гулиев Н.Д., Рагимова Н.Д. Полиморфизм генов цитокинов у новорожденных с внутриутробными

инфекциями. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015. №6., С. 42-47.

4. Жукова А. С., Ванько Л. В., Никитина И. В., Балашова Е.Н., Ионов О. И., Дегтярев Д. Н. Содержание цитокинов в плазме крови недоношенных новорожденных детей в раннем неонатальном периоде. /Иммунология. 2017.Т.38, №3-С.143-147
5. Инвиева Е.В., Никитина И.В., Кречетова Л.В., Круг-Йенсен О.А., Вторушина В.В., и др Профиль цитокинов в плазме периферической крови недоношенных детей с врожденной пневмонией на первой неделе жизни./ Акушерство и гинекология. 2021; 8: 143-152
6. Меремьянина Е.А. Прогностическое значение полиморфных маркеров в генах цитокинов, матриксной металлопротеиназы 9 и эндотелиальной NO-синтазы в развитии пневмоний у новорожденных детей. Автореф. дис. канд. мед. наук. – Москва, 2018
7. Рагимова Н. Д., Гулиев Н.Д. Клинико-иммуногенетические особенности новорождённых с перинатальными инфекциями. / Казанский медицинский журнал, 2017 г., том 98, №3. – С. 362–369
8. Радьковская А. И., Логинова И. А. Особенности течения врожденной пневмонии у доношенных и недоношенных новорожденных/ Инновации в медицине и фармации – 2020. – С. 881–886.
9. Свитич О.А., Алиева А.И., Меремьянина Е.А., Ганковская Л.В./ Молекулярные механизмы регуляции врожденного иммунитета при инфекционной патологии: пневмония новорожденных // Аллергология и Иммунология. – 2017.– Т. 10. – № 3. – С. 152-157.
10. Свитич О.А., Алиева А.И., Меремьянина Е.А., Русанова К.В., Ганковская Л.В. Ассоциация SNP в генах цитокинов с риском развития инфекционной патологии у плода. // Российский Иммунологический Журнал. – 2016. – Т.10(19).- № 4 . – С. 489-491.