



УДК 616.24-002-053.2-056.7-074:575.21(571.62-25)

В.К. Козлов^{1,2}, Л.А. Ли², Е.Б. Наговицина², И.М. Маркин¹

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ИНТЕРЛЕЙКИНОВ В РАЗВИТИИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ

¹Дальневосточный государственный медицинский университет, 680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

²Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства,

680022, ул. Воронежская, 49, корп. 1, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: iomid@yandex.ru, г. Хабаровск

Резюме

Изучены частотные характеристики полиморфизма генов интерлейкинов IL-6-174C>G, IL-10-1082C>G, IL-10-592C>A, IL-10-891C>N, IL-12-1188A>C, и митохондриальной супероксиддисмутазы SOD2-58T>C, SOD2-60C>T, SOD2-16Ala>Val и TNF- α -308G>A, ассоциированных с риском развития внебольничной пневмонии у детей различных вариантов клинического течения. Полиморфизм генов IL-10-592C>A и SOD2-16Ala>Val ассоциирован с риском развития гипореактивного типа течения внебольничной пневмонии у детей.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, дети, генетический полиморфизм.

V.K. Kozlov^{1,2}, L.A. Li², E.B. Nagovicina², I.M. Markin¹

POLYMORPHISM OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM ENZYMES GENES AND INTERLEIKINS IN THE DEVELOPMENT OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN CHILDREN

¹Far Eastern State Medical University;

²Khabarovsk Facility of Federal State Budgetary Scientific Institution – Far Eastern Scientific Centre of Respiratory Physiology and Pathology – Scientific research institute of Mother and Child Care, Khabarovsk

Summary

The frequency responses of gene polymorphisms atIL-6-174C>G, IL-10-1082C>G, IL-10-592C>A, IL-10-891C>N, IL-12-1188A>C, mitochondrial superoxide dismutase SOD2-58T>C, SOD2-60C>T, SOD2-16Ala>Val and TNF- α -308G>A, associated with the risk of the development of community-acquired pneumonia in children with different clinical features, were investigated. Gene polymorphisms IL-10-592C>A and SOD2-16Ala>Val were associated with the risk for development of community-acquired pneumonia in children with conditionally hypo reactive process.

Key words: community-acquired pneumonia, children, gene polymorphism.

Одно из ведущих мест в структуре заболеваемости детей на сегодняшний день занимает респираторная патология. Внебольничная пневмония является наиболее распространенной формой бронхолегочных заболеваний и остается одной из ведущих причин смерти от инфекционных болезней [3, 12]. Несмотря на успехи медицины в области разработки и применения антибактериальных препаратов, сохраняется летальность от этого заболевания, при этом наибольший уровень смертности отмечается в раннем возрасте [4]. Все это определяет значимость проблемы внебольничной

пневмонии у детей не только для педиатрии, но и для клинической медицины в целом [1, 4, 5, 8, 9, 10, 11].

Результаты клинических наблюдений свидетельствуют об изменении клинических проявлений внебольничной пневмонии [7, 8]. В ряде наблюдений регистрируются минимальные типичные (классические) проявления заболевания, невыраженные локальные физикальные изменения при аускультации и перкуссии легких, что осложняет своевременную диагностику заболевания и, тем самым, отсрочивает терапию, что может оказать неблагоприятное влияние на тече-

ние и прогноз. Помимо этого, даже своевременно начатая антибиотикотерапия внебольничной пневмонии не всегда достаточно эффективна, в том числе из-за резистентности патогенов к терапии [2], отмечается склонность к затяжному и рецидивирующему течению заболевания.

Как свидетельствуют литературные данные, среди показателей риска развития бронхолегочных заболеваний у детей существенную роль играют неблагоприятные факторы антенатального периода [1, 13].

Роль наследственных факторов в предрасположенности к развитию заболеваний бронхолегочной системы бесспорна, однако реализация этой предрасположенности в фенотип болезни является следствием развертывания генетической программы при определенных внешнесредовых условиях [14].

В связи с этим целью нашего исследования явилось: оценить роль полиморфизма генов интерлейкинов и генов антиоксидантной системы в развитии внебольничной пневмонии у детей с минимальными клиническими проявлениями заболевания.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе клиники Хабаровского филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – НИИ охраны материнства и детства. В период с 1.04.15 по 18.12.15 обследовано 75 детей в возрасте от 6 месяцев до 17 лет с диагнозом внебольничная пневмония. В 100 % случаев диагноз внебольничная пневмония в обеих группах был верифицирован данными рентгенографии органов грудной клетки. Родители всех пациентов были проинформированы о цели исследования, получено их добровольное информированное согласие на проведение диагностических мероприятий.

Для реализации цели было выделено 2 клинические группы:

1-я группа – типичное (реактивное) течение заболевания, сопровождающееся отчетливой клинической картиной заболевания – острое начало, наличие локальных физикальных изменений в легких при перкуссии и аускультации, наличие воспалительных изменений в гемограмме.

2-я группа – условно гипореактивное течение, характеризующееся слабовыраженными клиническими проявлениями заболевания – субфебрилитет, длительный кашель, минимальные физикальные изменения в легких при перкуссии и аускультации, незначительные проявления симптомов интоксикации, минимальные воспалительные изменения в гемограмме. В группу 1 включено 30 детей, в группу 2 – 31 пациент. Группу сравнения составили 30 практически здоровых детей I и II группы здоровья, не переносившие бронхолегочных заболеваний. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Молекулярно-генетическое исследование полиморфизма генов проводилось с помощью тест-систем

ООО НТП «Литех» (г. Москва) методом ПЦР с использованием комплекта реагентов «SNP-экспресс». Исследуемым материалом для анализа являлась цельная венозная кровь. ДНК выделяли с использованием комплекта реагентов «SNP-экспресс» из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь». Выделенную ДНК замораживали и хранили при -20°C . Изучение полиморфных вариантов исследуемых генов проводили с помощью амплификации соответствующих участков генома методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), с двумя парами аллель-специфичных праймеров на амплификаторах CFX-96 (Biorad, США) и Терцик (ДНК-технология, Москва). Разделение продуктов амплификации производилось методом горизонтального электрофореза, визуализация результатов на УФ-транслюминаторе. Фрагменты анализируемой ДНК проявляются в виде светящихся оранжево-красных полос при облучении УФ-излучением с длиной волны 310 нм. Исследование полиморфизма генов IL-6-174C>G, IL-10-1082C>G, IL-10-592C>A, IL-10-891C>N, IL-12-1188A>C, SOD2-58T>C, SOD2-60C>T, SOD2-16Ala>Val и TNF- α -308G>A. Статистическая обработка проведена на персональном компьютере с применением пакета «Statistica» для «Windows» (версия 10) и пакет «Анализ данных» для Microsoft Excel 2007. Критическая величина уровня значимости принята равной 0,05. Для оценки относительного риска развития внебольничной пневмонии использовался показатель отношения шансов (oddsratio, OR) [6].

Результаты и обсуждение

Изучение частот генотипов и аллелей искомым маркеров во всех группах соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (табл. 1). Во всех группах исследования при анализе таблиц сопряженности диагностировано отсутствие связи полиморфизма гена IL-6-174C>G, гена IL-10-1082C>G, а также генов SOD2-58T>C, SOD2-60C>T с развитием внебольничной пневмонии у детей.

Анализ полиморфизма гена IL-10-592C>A (табл. 2) показал достоверное преобладание частоты гомозиготного варианта A/A – 19,3 % в группе детей с внебольничной пневмонией при отсутствии данного полиморфизма в группе сравнения ($p<0,05$) и гетерозиготного варианта гена SOD2-16Ala>Val в 58,1 % группы внебольничная пневмония против 23,3 % в группе сравнения ($p<0,05$).

У носителей гомозиготного варианта гена IL-10-592C>A (OR=15,55; 95 % CI 0,84-46,5) и гетерозиготного варианта гена SOD2 – 16Ala>Val (OR=4,55; 95 % CI 1,5-13,76) повышен риск развития внебольничной пневмонии условно гипореактивного течения.

Таким образом, полиморфизм генов IL-10-592C>A и SOD2 – 16Ala>Val ассоциирован с риском развития гипореактивного типа течения внебольничной пневмонии у детей.

Таблица 1

Частоты генотипов и аллелей генов IL-6, 10, 12, SOD2 и TNF-α в группе 1 детей больных внебольничной пневмонией и группы сравнения

Полиморфизм гена		Внебольничная пневмония группа 1 (n=30)	Группа сравнения, (n=30)	df	χ^2	P	Величина V-критерия Крамера
IL 10-1082 C>G	C/C	4 (13,3 %)	8 (26,7 %)	2	1,67	0,43	0,2
	C/G	20 (66,7 %)	17 (56,7 %)				
	G/G	6 (20 %)	5 (16,6 %)				
	C	0,467	0,550	1	0,83	0,36	0,2
	G	0,533	0,450				
IL 10-592 C>A	C/C	16 (53,3 %)	18 (60 %)	2	0,27	0,87	0,07
	C/A	14 (46,7 %)	12 (40 %)				
	A/A	—	—				
	C	0,767	0,800	1	0,2	0,66	—
	A	0,233	0,200				
IL 10-819 C>T	C/C	16 (53,3 %)	20 (66,7 %)	2	1,11	0,57	0,2
	C/T	14 (46,7 %)	10 (33,3 %)				
	T/T	—	—				
	C	0,767	0,833	1	0,83	0,36	—
	T	0,233	0,167				
IL 12-1188 A>C	A/A	24 (80 %)	17 (56,7 %)	2	6,48	0,04	0,2
	A/C	6 (20 %)	8 (26,7 %)				
	C/C	—	5 (16,6 %)				
	A	0,900	0,700	1	7,5	0,006	0,4
	C	0,100	0,300				
SOD2-16 Ala>Val	A/A	6 (20 %)	15 (50 %)	2	8,98	0,01	0,4
	A/V	18 (60 %)	7 (23,3 %)				
	V/V	6 (20 %)	8 (26,7 %)				
	A	0,500	0,617	1	1,67	0,2	0,1
	V	0,500	0,383				
TNF α -308 G>A	G/G	20 (66,7 %)	23 (76,7 %)	2	2,28	0,32	0,06
	G/A	8 (26,7 %)	7 (23,3 %)				
	A/A	2 (6,7 %)	—				
	G	0,800	0,883	1	1,56	0,21	0,2
	A	0,200	0,117				
IL 6-174 C>G	C/C	6 (20 %)	5 (16,6 %)	2	2,9	0,2	0,03
	C/G	18 (60 %)	13 (43,4 %)				
	G/G	6 (20 %)	12 (40 %)				
	C	0,500	0,383	1	1,66	0,2	0,2
	G	0,500	0,617				

Примечание. df – число степеней свободы, p – достигнутый уровень значимости, χ^2 – значение хи-квадрат.

Таблица 2

Частоты генотипов и аллелей генов IL-6, IL-10, IL-12, SOD2 и TNF-α в группе 2 детей больных внебольничной пневмонией и группы сравнения

Полиморфизм гена		Внебольничная пневмония группа 2 (n=31)	Группа сравнения, (n=30)	df	χ^2	P	Величина V-критерия Крамера
IL 10-1082 C>G	C/C	9 (29 %)	8 (26,7 %)	2	0,04	0,98	0,03
	C/G	17 (54,9 %)	17 (56,7 %)				
	G/G	5 (16,1 %)	5 (16,6 %)				
	C	0,565	0,550	1	0,03	0,87	0,03
G	0,435	0,450					
IL 10-592 C>A	C/C	15 (48,4 %)	18 (60 %)	2	6,44	0,04	0
	C/A	10 (32,3 %)	12 (40 %)				
	A/A	6 (19,3 %)	—				
	C	0,645	0,800	1	3,64	0,06	0,4
	A	0,355	0,200				
IL 10-819 C>T	C/C	17 (54,9 %)	20 (66,7 %)	2	3,28	0,19	0,06
	C/T	11 (35,5 %)	10 (33,3 %)				
	T/T	3 (9,6 %)	-				
	C	0,726	0,833	1	2,05	0,15	0,3
	T	0,274	0,167				
IL 12-1188 A>C	A/A	22 (70,9 %)	17 (56,7 %)	2	5,68	0,06	0,03
	A/C	9 (29,1 %)	8 (26,7 %)				
	C/C	—	5 (16,6 %)				
	A	0,855	0,700	1	4,24	0,04	0,4
	C	0,145	0,300				
SOD2-16 Ala>Val	A/A	11 (35,5 %)	15 (50 %)	2	9,04	0,01	0,3
	A/V	18 (58,1 %)	7 (23,3 %)				
	V/V	2 (6,4 %)	8 (26,7 %)				
	A	0,645	0,617	1	0,11	0,74	0,2
	V	0,355	0,383				
TNF α-308 G>A	G/G	22 (70,9%)	23 (76,7 %)	2	4,34	0,11	0,06
	G/A	5 (16,1 %)	7 (23,3 %)				
	A/A	4 (13 %)	—				
	G	0,790	0,883	1	1,92	0,17	0,3
	A	0,210	0,117				
IL 6-174 C>G	C/C	7 (22,55)	5 (16,6 %)	2	2,17	0,34	0,02
	C/G	17 (54,9 %)	13 (43,4 %)				
	G/G	7 (22,55 %)	12 (40 %)				
	C	0,500	0,383	1	1,68	0,19	0,2
	G	0,500	0,617				

Примечание. df – число степеней свободы, p – достигнутый уровень значимости, χ^2 – значение хи-квадрат.

Литература

- Безлер Ж.А. Особенности течения пневмоний у детей раннего возраста // Актуальные проблемы педиатрии: материалы конгр. – Москва, 2011. – С. 66.
- Белевский А.С. Современные возможности адъювантной терапии внебольничной пневмонии // Фарматека. – 2013. – № 6. – С. 49-52.
- Васильева Е.И., Шевцов Д.А., Мизерницкий Ю.Л. Заболеваемость и клиническая характеристика пневмоний у детей // Материалы конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2010. – С. 125.
- Внебольничная пневмония у детей: распространенность, диагностика, лечение и профилактика. Научно-практическая программа. Российское респираторное общество. – М., 2012. – 64 с.
- Галкина Е.В. Пневмонии у детей: причины развития и современные возможности профилактики // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 23-28.
- Зайцев В.М. Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика: учебное пособие. – СПб.: Фолиант, 2006. – 432 с.
- Пикуза О.И. Характеристика липидного обмена и процессов перекисидации при различных клинических формах пневмонии у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2010. – № 2. – С. 73-76.
- Таточенко В.К. Внебольничная пневмония у детей // Фарматека. – 2012. – № 1. – С. 58-63.
- Царькова С.А. Пневмонии у детей: старые проблемы и новые возможности // Педиатрическая фармакология. – 2011. – Т. 8, № 1. – С. 12-16.
- Якимова С.С. Внебольничные пневмонии: современная антимикробная терапия // Consilium Medicum. – 2009. – Т. 11, № 11. – С. 8-12.
- Bamba M., et al. Prospective surveillance for atypical pathogens in children with community-acquired pneumonia in Japan // Infect Chemother. – 2006. – Vol. 12, № 1. – P. 36-41.
- Borthra M., Lodha R., Kabra S.K. Tobramycin for the treatment of bacterial pneumonia in children // Expert opinion on pharmacotherapy. – 2012. – Т. 13, № 4. – P. 565-571.

13. Grant C.C., Milne T., Leversha A., Coster G., Wall C.R., Scragg R., Robinson E.M., Crengle S., Tukuitonga C., Emery D., Aickin R., Forrest C.B. Risk factors for community-acquired pneumonia in pre-school-aged children // *Journal of paediatrics and child health*. – 2012. – Т. 48, № 5. – P. 402-412.

14. Kelada S.N., Eaton D.L., Wang S.S., Rothman N.R., Khoury M.J. The role of genetic polymorphisms in environmental health // *Environ Health Perspect.* – 2003. – № 111 (8). – P. 1055-64.

Literature

1. Bezler J.A. The course of pneumonia in young children // *Actual problems of Pediatrics: stamping materials*. – М., 2011. – P. 66.

2. Belevsky A.S. Modern possibilities of adjuvant therapy for community-acquired pneumonia // *Farmateka*. – 2013. – № 6. – P. 49-52.

3. Vasilyeva E.L., Shevtsov D.A., Mizernitsky J.L. Incidence and clinical characteristics of pneumonia in children // *Materials Congress on respiratory diseases*. – М., 2010. – P. 125.

4. Community-acquired pneumonia in children: prevalence, diagnosis, treatment and prevention. Scientific-practical program. Russian respiratory society. – М., 2012. – 64 p.

5. Galkina E.V. Pneumonia in children: Causes and development of modern prevention opportunities // *Problems of modern pediatrics*. – 2011. – Vol. 10, № 4. – P. 23-28.

6. Zaitsev V.M., Livonia V.G., Marinkin V.I. Applied Medical Statistics: Textbook. – Spb: Folio, 2006. – 432 p.

7. Pikuz O.I. Characteristics of lipid peroxidation processes and in different clinical forms of pneumonia in children // *Russian Gazette Perinatology and pediatrics*. – 2010. – № 2. – С. 73-76.

8. Tatochenko V.K. Community-acquired pneumonia in children // *Farmateka*. – 2012. – № 1. – P. 58-63.

9. Tsar'kova S.A. Pneumonia in children: old problems and new opportunities // *Pediatric Pharmacology*. – 2011. – Vol. 8, № 1. – P. 12-16.

10. Yakimov S.S. Community-acquired pneumonia: a modern antimicrobial therapy // *Consilium Medicum*. – 2009. – Vol. 11, № 11. – P. 8-12.

11. Bamba M., et al. Prospective surveillance for atypical pathogens in children with community-acquired pneumonia in Japan // *Infect Chemother.* – 2006. – Vol. 12, № 1. – P. 36-41.

12. Borthra M., Lodha R., Kabra S.K. Tobramycin for the treatment of bacterial pneumonia in children // *Expert opinion on pharmacotherapy*. – 2012. – Vol. 13, № 4. – P. 565-571.

13. Grant C.C., Milne T., Leversha A., Coster G., Wall C.R., Scragg R., Robinson E.M., Crengle S., Tukuitonga C., Emery D., Aickin R., Forrest C.B. Risk factors for community-acquired pneumonia in pre-school-aged children // *Journal of paediatrics and child health*. – 2012. – Vol. 48, № 5. – P. 402-412.

14. Kelada S.N., Eaton D.L., Wang S.S., Rothman N.R., Khoury M.J. The role of genetic polymorphisms in environmental health // *Environ Health Perspect.* – 2003. – № 111 (8). – P. 1055-64.

Координаты для связи с авторами: Козлов Владимир Кириллович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой детских болезней ДВГМУ, чл.-корр. РАН, заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель ХФ ДНЦ ФПД НИИ ОМИД, e-mail: iomid@yandex.ru; Ли Людмила Алексеевна – врач-педиатр ХФ ДНЦ ФПД НИИ ОМИД, e-mail: mila_kozlova@mail.ru; Наговицина Елена Борисовна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник ХФ ДНЦ ФПД НИИ ОМИД, e-mail: nebo59@yandex.ru; Маркин Иван Михайлович – студент 4-го курса педиатрического факультета ДВГМУ, e-mail: halfman93@mail.ru.



УДК 612.017.1:616.921.5

Л.П. Малезик, Н.И. Карпова, М.С. Малезик, Д.Ц. Нимаева, В.Б. Цырендоржиева

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ЦИТОКИНОВ ПРИ ПОЛИМОРФИЗМЕ ГЕНОВ TOLL-4 (ASP299GLY) И TOLL-6 (SER249PRO) РЕЦЕПТОРОВ У ДЕТЕЙ, ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Читинская государственная медицинская академия,
672090, ул. Горького, 39а, тел. 8-(3022)-32-00-85, e-mail: macadam@mail.chita.ru, г. Чита

Резюме

В работе анализируется продукция цитокинов воспаления у детей часто болеющих ОРВИ и являющихся носителями полиморфизма Toll-4 (Asp299Gly) и Toll-6 (Ser249Pro) рецепторов. Установлено, что в первые дни забо-