

# Этнопопуляционные особенности распределения полиморфизма гена *IL-1 $\beta$* при *Helicobacter pylori*-ассоциированной гастродуоденальной патологии

Агеева Е.С.<sup>1</sup>, Штыгашева О.В.<sup>1</sup>, Рязанцева Н.В.<sup>2</sup>, Харьков В.Н.<sup>3</sup>, Степанов В.А.<sup>3</sup>

## The etno-population features of *IL-1 $\beta$* gene polymorphism distribution at *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal pathology

Ageyeva Ye.S., Shtygasheva O.V., Ryzantseva N.V., Khar'kov V.N., Stepanov V.A.

<sup>1</sup> Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

<sup>3</sup> НИИ медицинской генетики СО РАМН, г. Томск

© Агеева Е.С., Штыгашева О.В., Рязанцева Н.В. и др.

Цель работы — выявить особенности ассоциации полиморфизмов генов интерлейкина-1 *IL-1* и антагониста рецептора интерлейкина-1 *IL-1Ra* у монголоидов и европеоидов, проживающих в Республике Хакасия с *Helicobacter pylori*-ассоциированной гастродуоденальной патологией (хроническим гастритом и язвенной болезнью). Установлено, что среди хакасов наиболее распространенными являются генотипы CC *IL-1 $\beta$*  и R4R4 *IL-1Ra*. У европеоидов между CC +3953 *IL-1 $\beta$*  и R2R3 *IL-1Ra* и риском развития язвенной болезни обнаружена ассоциативная взаимосвязь.

**Ключевые слова:** *Helicobacter pylori*, язвенная болезнь, хакасы, Th1/Th2-иммунный ответ, аллельный полиморфизм генов, интерлейкин-1.

The aim of this study was to reveal the features of association polymorphisms of interleukin-1 *IL-1* and the antagonist of receptor for interleukin-1 *IL-1Ra* gene polymorphism in Mongoloids and Caucasoid from Khakassia with HP-associated gastroduodenal pathology (chronic gastritis and gastric ulcer). It was revealed that among Khakasses the most widespread genotypes among Khakasses are CC *IL-1 $\beta$*  and R4R4 *IL-1Ra*. The association of CC +3953 and R2R3 genotypes with GU risk in Caucasoids was found.

**Key words:** *Helicobacter pylori*, gastric ulcer, Khakasses, Th1/Th2-immune response, allelic polymorphism genes, interleukin-1.

УДК 616.33/.342-02:579.835.12:575.174.015.3

### Введение

Эпидемиологическое исследование распространенности язвенной болезни (ЯБ) у жителей Хакасии показало, что ее частота составляет 8,9% у пришлого и 4,5% — у коренного населения при контаминации *Helicobacter pylori* (*H.p.*) 97,8 и 95,2% соответственно. Исследования выявили этноэкологическую обусловленность распределения штаммов *H.p.*: у представителей пришлого населения с ЯБ связаны S<sub>1</sub>-, S<sub>2</sub>-субтипы VacA *H.p.*, у коренного населения — CagA [5, 8]. При изучении иммунофенотипа клеточного инфильтрата собственной пластинки слизистой оболочки желудка были установлены очевидные различия функциональных свойств иммунной системы. Оказалось, что у ко-

ренных жителей более выражена по сравнению с пришлыми активация Т-клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа. В связи с этим была высказана гипотеза о наличии более эффективного антибактериального иммунного ответа у хакасов по сравнению с европеоидами [1].

В литературе описаны феномены «африканской загадки», «азиатской загадки», показывающие специфичность различных изолятов *H.p.* и их привязанность к разным этносам [15, 17]. Данный факт предполагает существование генетически детерминированных особенностей иммунного ответа и является основой разнообразия *H.p.*-ассоциированных заболеваний [4].

Известно, что *H.p.* вызывает в слизистой оболочке желудка хроническое воспаление. Воспалительный

процесс регулируется комплексом цитокинов, уровень которых определяется полиморфизмом кодирующих их генов [11, 16]. Одним из наиболее важных цитокинов *H.p.*-ассоциированного воспаления является IL-1 [10]. Интерлейкин объединяет ключевые механизмы развития гастроудоденальной патологии: выраженность провоспалительной реакции, проапоптотическое действие, гипоацидный эффект [3, 9]. Полиморфизм генов подразумевает существование высоко- и низкопродуцирующих вариантов. Генотипы TT +3953 гена *IL-1β* и R2R2 гена *IL-1Ra* ассоциированы с более высокой активностью промоторов генов и приводят к гиперпродукции цитокинов [2].

Цель работы — изучение особенностей распределения полиморфизма генов интерлейкина-1β (*IL-1β*) и антагониста рецептора IL-1 *IL-1Ra* у коренного и пришлого населения Хакасии и выявление возможных связей с *H.p.*-ассоциированной гастроудоденальной патологией.

## Материал и методы

Обследовано 123 этнически чистых хакаса (коренное население) и 119 европеоидов (русских, пришедшее население). В группы исследования были включены 122 больных хроническим гастритом (ХГ) (64 хакаса и 58 европеоидов), 60 больных ЯБ двенадцатиперстной кишки (29 хакасов и 31 европеоид), сопоставимых

по полу. Средний возраст хакасов составил (44,3 ± 9,3) года, европеоидов — (42,7 ± 10,8) года (от 17 до 55 лет). Контрольная группа состояла из 60 практически здоровых доноров (30 хакасов и 30 европеоидов) с аналогичными характеристиками по полу и возрасту.

Диагноз ХГ и ЯБ основывался на данных эндоскопического исследования и морфометрии. Для выявления *H.p.*-инфекции использовали гистоскопический метод с окраской по Гимзе и быстрый уреазный HELPII-тест. Специфические иммуноглобулины G к *H.p.* определяли в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа в соответствии с инструкцией («ИмДи-спектр», г. Новосибирск).

Для исследования аллельных полиморфизмов генов ДНК выделяли из венозной крови методом фенолхлороформной экстракции. Амплификацию С +3953T *IL-1β* проводили с использованием следующих праймеров: F 5' GTTGTTCATCAGACTTTGACC 3' и R 5'

TTCAGTTCATATGGACCAGA 3'. Наличие аллеля С формирует сайт рестрикции для Taq I [14].

Исследование полиморфизма *IL-1Ra* проводили с использованием праймеров: F 5' CTCAGCAACACTCCTAT 3' и R 5' TCCTGGTCTGCAGGTAА 3', фланкирующих полиморфный регион с переменным количеством тандемных повторов (VNTR) — 86 п.н. [13].

Продукты полимеразной цепной реакции анализировали с помощью электрофореза в 4%-м агарозном геле с последующей визуализацией с бромистым этидием под ультрафиолетовым светом. В качестве маркера размера ДНК использовали плазмиду pUC19, расщепленную рестриктазой MspI («Сибэнзим», г. Новосибирск).

Оценку и сравнение параметров распределения уровней *IL-1β* и *IL-1Ra* у больных ХГ, ЯБ и в контроле проводили с помощью общепринятых статистических процедур. Для сравнения частот аллелей использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность. Анализ ассоциации полиморфизмов с ХГ, ЯБ — с помощью критерия отношения шансов (ОШ).

## Результаты и обсуждение

Установлено, что у хакасов чаще, чем у европеоидов, встречался аллель С +3953 гена *IL-1β*. Наиболее распространенным генотипом были гомозиготы СС +3953 *IL-1β*. У больных ЯБ количество гомозигот СС было больше, чем у больных ХГ и здоровых доноров (84,0; 63,5 и 73,2% соответственно,  $p < 0,05$ ). Гетерозиготы СТ встречались чаще у пациентов с ХГ (36,5%), чем у больных ЯБ (16,0%;  $p < 0,05$ ) и здоровых доноров (25,2%). Гомозиготы ТТ в проведенном исследовании были редким генотипом и обнаружены только в контрольной группе (1,6%) (табл. 1).

У европеоидов доминирующим генотипом являлся СС +3953 *IL-1β*, который чаще встречался у больных ХГ и ЯБ по сравнению с контролем (58,9; 70,6 и 45,6% соответственно,  $p < 0,05$ ). У представителей европеоидной популяции выявлена взаимосвязь между наличием генотипа СС +3953 *IL-1β* и риском развития ЯБ (ОШ 2,9; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 1,6—5,6). У больных ЯБ частота встречаемости СТ +3953 *IL-1β* была ниже, чем в контроле (17,6 и 33,3% соответственно). Такая же закономерность определялась в отношении ТТ +3953 *IL-1β* у пациентов с ЯБ относительно контро-

ля (11,8 и 21,1% соответственно,  $p < 0,05$ ). У пациентов с ХГ частота генотипов СТ и ТТ +3953 *IL-1β* составляла 24,8 и 16,3% соответственно (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Распределение частот генотипов и аллелей гена *C+3953 T IL-1β* у хакасов и европеоидов — носителей *Helicobacter pylori*, больных хроническим гастритом и язвенной болезнью, %

Показатель	Хакасы			Европеоиды		
	Контроль	Больные		Контроль	Больные	
ХГ		ЯБ	ХГ		ЯБ	
	<i>Генотипы</i>					
CC	73,2	63,5	84,0 <sup>2</sup>	45,6 <sup>3</sup>	58,9 <sup>1</sup>	70,6 <sup>1,3</sup>
CT	25,2	36,5	16,0 <sup>2</sup>	33,3	24,8	17,6 <sup>1</sup>
TT	1,6	0	0	21,1 <sup>3</sup>	16,3	11,8
	<i>Аллели</i>					
C	85,8	81,7	92,0 <sup>2</sup>	62,2 <sup>3</sup>	71,3	79,4 <sup>1,3</sup>
T	14,2	18,3	8,0 <sup>2</sup>	37,8 <sup>3</sup>	28,7	20,6 <sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>  $p < 0,05$  — достоверность различий показателей по сравнению с контролем.

<sup>2</sup>  $p < 0,05$  — достоверность различий показателей по сравнению с больными хроническим гастритом.

<sup>3</sup>  $p < 0,05$  — при сравнении европеоидов и хакасов.

При оценке полиморфизма гена *IL-1Ra* у хакасов удалось обнаружить, что основным генотипом, который доминировал во всех обследованных группах хакасов, был вариант R4R4 (75,4% — у больных ХГ, 76,0% — у пациентов с ЯБ и 79,6% — в контроле). Вторым по частоте встречаемости оказался R3R4, доля которого у пациентов с ХГ составляла 14,2%, у больных ЯБ — 20,0%, у здоровых доноров — 10,7%. Редкими генотипами были гомозиготы R3R3 и R2R2, а также гетерозиготы R2R4 *IL-1Ra* (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Распределение частот генотипов и аллелей гена *IL-1Ra* у хакасов и европеоидов — носителей *Helicobacter pylori*, больных хроническим гастритом и язвенной болезнью, %

Показатель	Хакасы			Европеоиды		
	Контроль	Больные		Контроль	Больные	
ХГ		ЯБ	ХГ		ЯБ	
	<i>Генотипы</i>					
R2R2	2,9	1,7	0	5,1	9,5 <sup>3</sup>	12,4
R2R3	0,0	0,0	0,0	2,9	12,2 <sup>1</sup>	18,1 <sup>1</sup>
R2R4	0	1,7	0	19,1	14,3 <sup>3</sup>	21,7
R3R3	6,8	7,0	4,0	11,6	9,7	17,4 <sup>3</sup>
R3R4	10,7	14,2	20,0 <sup>1</sup>	27,4 <sup>3</sup>	21,8 <sup>3</sup>	11,5 <sup>1,2</sup>
R4R4	79,6	75,4	76,0	33,9 <sup>3</sup>	32,5 <sup>3</sup>	18,9 <sup>1,2,3</sup>
	<i>Аллели</i>					
R2	2,9	2,6	0	16,1 <sup>3</sup>	22,8 <sup>3</sup>	32,3 <sup>1</sup>
R3	12,2	14,1	14,0	26,8 <sup>3</sup>	26,7 <sup>3</sup>	32,2 <sup>3</sup>

R4 | 84,9 83,3 86,0 57,1<sup>3</sup> 50,5<sup>3</sup> 35,5<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>  $p < 0,05$  — достоверность различий показателей по сравнению с контролем.

<sup>2</sup>  $p < 0,05$  — с больными хроническим гастритом.

<sup>3</sup>  $p < 0,05$  — при сравнении европеоидов и хакасов.

У пациентов с ХГ — представителей европеоидной популяции чаще встречались R2R2 и R2R3 *IL-1Ra* по сравнению с контролем. Их частота при ХГ составила 9,5 и 12,2% соответственно. В контрольной группе эти показатели составили 5,1 и 2,9% соответственно. Их доля была незначительной относительно контроля. Среди европеоидов, больных ЯБ, частота генотипов R2R2, R2R3 и R2R4 *IL-1Ra* составила 12,4; 18,1 и 21,7% соответственно и была выше, чем в контроле (табл. 2). Между генотипом R2R3 *IL-1Ra* и риском развития ЯБ установлена ассоциативная взаимосвязь (ОШ 7,1; 95%-й ДИ 1,9—31,4). Доля всех остальных генотипов по сравнению с контролем так же как и у больных ХГ была незначительной (табл. 2).

Ассоциация разных субтипов *H.p.* с риском развития ЯБ у европеоидов и монголоидов (S<sub>1</sub>-, S<sub>2</sub>-субтипы VacA *H.p.* у пришлых жителей, CagA — у коренных жителей) оказывает влияние на формирование существенных различий в патогенезе *H.p.*-ассоциированных заболеваний желудка.

При обследовании европеоидов и хакасов зарегистрированы значительные отличия в клинических проявлениях ЯБ. Среди мужчин-европеоидов синдром язвенно-подобной диспепсии регистрировался в 3 раза чаще, изжога — в 2,8 раза по сравнению с мужчинами-хакасами. Синдром правого подреберья регистрировался среди женщин-европеоидов в 3,5 раза чаще, чем у женщин-хакасов. Частота эзофагита и недостаточности кардии была достоверно выше у лиц с ЯБ в обеих популяциях по сравнению с больными ХГ. Частота эрозий гастродуоденальной зоны равнялась 36,2% у европеоидов с ЯБ и 17,8% в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). У хакасов эти показатели составляли соответственно 13,5 и 11,3% ( $p > 0,05$ ). ЯБ у европеоидов чаще обострялась и носила более агрессивный характер как по частоте клинических синдромов, так и по характеру осложнений. Так, язвенные кровотечения отмечены у 17,3% европеоидов, перфорации желудка — у 4,3%, стеноз привратника — у 4,9%, а среди хакасов эти показатели составляли соответственно 8,2 ( $p < 0,05$ ); 4,7 ( $p > 0,05$ ) и 2,4% ( $p > 0,05$ ) [7].

Полученные ранее данные свидетельствуют о том, что у европеоидов с ЯБ регистрировались низкие величины рН в теле желудка. При этом отмечалось ухудшение ощелачивающей функции в антральном отделе. Среди хакасов с ЯБ высокая кислотность в теле желудка фиксировалась на 36% чаще, чем у пациентов с ХГ, хотя данные отличия не были достоверными [7]. С одной стороны, эти факты противоречат характеру распределения заболевания у хакасов и европеоидов, так как высокая кислотность является «фактором агрессии» [12]. С другой стороны, особенности кислотопродукции у хакасов и европеоидов также могут быть связаны с характером экспрессии IL-1 $\beta$ , одного из ингибиторов кислотной продукции.

Необходимо отметить, что провоспалительное действие IL-1 $\beta$  зависит не только от повышения или понижения экспрессии IL-1 $\beta$  или IL-1Ra, но и от комбинации IL-1 $\beta$  и IL-1Ra. Эффекты IL-1 $\beta$  реализуются после взаимодействия со специфическим мембранным рецептором. Регулятором эффектов IL-1 $\beta$  является антагонист IL-1Ra, который, связываясь с рецептором, подавляет потенциально повреждающий провоспалительный эффект IL-1 $\beta$ . Высокая продукция IL-1Ra подавляет эффекты IL-1 $\beta$ , но одновременно с этим по принципу отрицательной обратной связи увеличивается продукция IL-1 $\beta$ , развивается хроническое персистирующее воспаление. Продукция IL-1Ra тоже увеличивается.

Высокопродуцирующий генотип R2R2 IL-1Ra был редким у хакасов и не встречался у больных этой группы, страдающих язвенной болезнью. Наиболее распространенными вариантами среди представителей коренного населения являлись генотипы CC IL-1 $\beta$  и R4R4 IL-1Ra, ассоциированные с низким уровнем экспрессии соответствующих белковых молекул, а следовательно, возможно, с мягким провоспалительным эффектом. Выявленные особенности клинических проявлений у хакасов и европеоидов могут быть связаны с наличием у хакасов наиболее распространенных генотипов R3R4 и R4R4 *IL-1Ra*, а у европеоидов – генотипов R2R2 и R2R3 *IL-1Ra*. Для R2R3 *IL-1Ra* была показана ассоциация с риском развития язвенной болезни у европеоидов (ОШ = 7,1, 95%-й ДИ 1,9–31,4).

IL-1 $\beta$  инициирует мощный воспалительный ответ, в результате чего происходит выраженное повреждение собственного эпителия, разрушение желез, изме-

няется рН содержимого желудка, что приводит к элиминации патогена. Однако, «покидая» антральный отдел, *H.p.* мигрируют в тело желудка, формируя популяционные особенности локализации язвенных дефектов. Действительно, соотношение язв двенадцатиперстной кишки, антрального отдела и тела желудка составило среди русских 3,5 : 0,8 : 1,0, у хакасов — 1,7 : 1,0 : 1,0 [7].

В целом при сравнении полученных результатов с данными литературы показано, что ассоциации полиморфизмов VNTR *IL-1Ra* и C +3953T *IL-1 $\beta$*  с ЯБ и ХГ среди хакасов имеют распределение, характерное и для других этнических групп коренного населения, проживающего на территории Сибири. В частности, выявлено, что телеуты Кемеровской области имеют подобные хакасам особенности распределения частот аллелей и генотипов VNTR *IL-1Ra* [6].

## Заключение

Обнаруженные в результате настоящего исследования иммуногенетические особенности являются одним из объяснений дифференциации иммунного реагирования и клинических признаков *H.p.*-ассоциированной гастродуоденальной патологии у представителей монголоидной и европеоидной популяций, проживающих на территории Республики Хакасия. Резюмируя анализ популяционных особенностей ассоциации полиморфизма генов системы интерлейкина-1, нужно отметить, что наиболее распространенные среди хакасов низкопродуцирующие полиморфные варианты генов интерлейкинов формируют иммунный ответ, характеризующийся более выраженной по сравнению с пришлым населением активацией Т-клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа. Это свидетельствует о наличии более эффективного антибактериального иммуногенотипа у хакасов. В то же время более агрессивное течение ЯБ, характерное для европеоидов, может быть связано с действием разных факторов, приводящих к прогрессированию местного воспаления, в том числе и с характером распределения полиморфных генов интерлейкинов системы IL-1.

## Литература

1. Агеева Е.С., Штыгашева О.В., Цуканов В.В., Рязанцева Н.В. Иммунологические особенности течения гастродуоденальной патологии у жителей Хакасии // Иммунология. 2009. № 3. С. 162—165.

2. Громова А.Ю., Симбирцев А.С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека // Цитокины и воспаление. 2005. № 2. С. 24—35.
3. Кононов А.В. Генетическая регуляция и фенотип воспаления при *Helicobacter pylori*-инфекции // Арх. патологии. 2009. № 71 (5). С. 57—63.
4. Кононов А.В., Поморгайло Е.Г., Филипенко М.Л. и др. Полиморфизм генов IL-1 $\beta$ , антагониста его рецепторов и фенотип воспалительной реакции слизистой оболочки желудка при хеликобактерной инфекции // Молекулярная медицина. 2010. № 1. С. 42—45.
5. Цуканов В.В., Баркалов С.В., Тонких Ю.А., и др. Распространенность *СagA*-штаммов *Helicobacter pylori* и язвенная болезнь у населения Восточной Сибири // Терапевт. арх. 2007. № 2. С. 15—18.
6. Шабалдин А.В., Остапцева А.В., Ахматьянова В.Р. и др. Полиморфизм гена рецепторного антагониста интерлейкина-1 у пришлого и коренного населения Кемеровской области // Иммунология. 2007. № 2. С. 72—74.
7. Штыгашева О.В., Агеева Е.С., Харьков В.Н., Степанов В.А. Гены и болезни хакасов. Красноярск: Поликор, 2010. 296 с.
8. Штыгашева О.В., Цуканов В.В. Ассоциация *сag A* и *vac A* штаммов *Helicobacter pylori* и язвенной болезни в организованный популяции г. Абакана // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2004. № 2. С. 84—87.
9. Camargo M.C., Mera R., Correa P. et al. Interleukin-1B and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2006. V. 15. P. 1674—1687.
10. El-Omar E.M., Carrington M., Chow W.H. et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of cancer // Nature. 2000. V. 404. P. 398—402.
11. Hwang I.R., Kodama T., Kikuchi S. et al. Effect of polymorphisms on gastric mucosal interleukin-1 beta production in *Helicobacter pylori* infection // Gastroenterology. 2002. V. 123. P. 1793—1803.
12. Goodwin, C.D. Duodenal ulcer, *Campylobacter pylori* and the «leaking roof» concept // Lancet. 1988. V. 2. P. 1467—1469.
13. Joos L., McIntyre L., Ruan J., et al. Association of IL-1B and IL-1 receptor antagonist haplotypes with rate of decline in lung function in smokers // Thorax. 2001. V. 56. P. 863—866.
14. Laine M.L., Farre M.A., Bart J. et al. The mouthwash: a non-invasive sampling method to study cytokine gene polymorphisms // Periodontol. 2000. V. 71 (8). P. 1315—1318.
15. Perez-Perez G.I., Rothenbacher D., Brenner H. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection // Helicobacter. 2004. V. 9. P. 1—6.
16. Rad R., Dossymbekova A., Neu B. et al. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonization during *Helicobacter pylori* infection // Gut. 2004. V. 53. P. 1082—1089.
17. Yamaoka Y., Malaty H.M., Osato M.S. Conservation of *Helicobacter pylori* genotypes in different ethnic groups in Houston, Texas. J.Infect.Dis. 2000. Vol. 181 (6). P. 2083—2086.

Поступила в редакцию 21.04.2011 г.

Утверждена к печати 28.04.2011 г.

#### Сведения об авторах

**Е.С. Агеева** — канд. мед. наук, зав. кафедрой фундаментальной медицины и гигиены ХГУ им. Н.Ф. Катанова (г. Абакан).

**О.В. Штыгашева** — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой внутренних болезней ХГУ им. Н.Ф. Катанова (г. Абакан).

**Н.В. Рязанцева** — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фундаментальных основ клинической медицины СибГМУ (г. Томск).

**В.Н. Харьков** — канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории эволюционной генетики НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск).

**В.А. Степанов** — д-р биол. наук, профессор, руководитель лаборатории эволюционной генетики НИИ медицинской генетики СО РАМН (г. Томск).

#### Для корреспонденции

Агеева Елизавета Сергеевна, тел. 8 (390-2) 34-27-20; e-mail: Ageevaeliz@rambler.ru