

УДК 575.174.015.3: 616-092.11
DOI 10.25587/SVFU.2022.29.4.002*А.Н. Емельянова, А.С. Емельянов, Г.А. Чупрова,
Н.В. Епифанцева, Ю.А. Витковский*

ПОЛИМОРФИЗМ ПРОМОТОРНЫХ РЕГИОНОВ ГЕНА *IL-10* (*C819T, G1082A*) И ИХ ВЛИЯНИЕ НА СОДЕРЖАНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА 10 И ПОКАЗАТЕЛЬ ЛИМФОЦИТАРНО- ТРОМБОЦИТАРНОЙ АДГЕЗИИ ПРИ ГРИППЕ А(Н3Н2)

Аннотация. Инфекция гриппа А, как известно, индуцирует сильный провоспалительный цитокиновый ответ как в респираторных, так и в экстрареспираторных тканях. Интерлейкин-10 – мощный противовоспалительный фактором межклеточных взаимодействий, в том числе и основных участников адаптивного клеточного и гуморального иммунитета – лимфоцитов и тромбоцитов (лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия). Интерлейкин-10 даже в минимальных концентрациях способствует эффективной регуляции клеточного гомеостаза. При этом генетические дефекты в генах противовоспалительных цитокинов могут способствовать различной продукции кодируемых молекул, что обуславливает индивидуальные особенности течения инфекционного процесса у носителей полиморфных мутаций. В исследование методом сплошной выборки были включены больные гриппом А(Н3Н2) (89 человек). Контрольную группу составили 96 практически здоровых доноров. Определение SNP генов осуществлялось методом ПЦР с использованием стандартных наборов НПФ «Литех» (Москва). С помощью световой микроскопии определяли показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) по методу Ю.А. Витковского и др. (1999). Измерение уровня цитокина проводили методом твердофазного ИФА с использованием набора реагентов ООО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Установлено, что шанс развития гриппа А(Н3Н2) возрастает у лиц-носителей аллели *T* (2,18 [CI95 %: 1,33-3,58]) ($p=0,002$) и гетерозиготного варианта *C/T* (2,88 [CI95 %:

ЕМЕЛЬЯНОВА Альвина Николаевна – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии Читинской государственной медицинской академии, тел.: +7-914-494-80-37, e-mail: alvina1963@yandex.ru

EMEL'YANOVA Alvina Nikolaevna – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Chita State Medical Academy, Chita; +7-914-494-80-37, e-mail: alvina1963@yandex.ru

ЕМЕЛЬЯНОВ Артур Сергеевич – к.м.н., доцент кафедры нормальной физиологии Читинской государственной медицинской академии, тел.: +7-964-466-39-62, e-mail: artur1926@yandex.ru

EMEL'YANOV Artur Sergeevich – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Normal Physiology, Chita State Medical Academy, Chita; +7-964-466-39-62, e-mail: artur1926@yandex.ru

ЧУПРОВА Галина Александровна – ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Читинской государственной медицинской академии, тел.: +7-914-507-46-22, e-mail: Garden.89.89@mail.ru

CHUPROVA Galina Alexandrovna – Assistant, Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Chita State Medical Academy, Chita; +7-914-507-46-22, e-mail: Garden.89.89@mail.ru

ЕПИФАНЦЕВА Наталья Владимировна – к.м.н., доцент, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Читинской государственной медицинской академии, тел.: +7-914-433-55-38, e-mail: en1608@yandex.ru

EPIFANTSEVA Natalya Vladimirovna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Chita State Medical Academy, Chita; +7-914-433-55-38, e-mail: en1608@yandex.ru

ВИТКОВСКИЙ Юрий Антонович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии Читинской государственной медицинской академии, тел.: +7-914-468-77-66, e-mail: yuvitkovsky@rambler.ru

VITKOV'SKY Yuri Antonovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Chita State Medical Academy, Chita; +7-914-468-77-66, e-mail: yuvitkovsky@rambler.ru

1,56-5,32]) ($p=0,002$) гена *IL-10 C819T*, аллели *A* (4,23 [CI95 %: 2,50-7,14]) ($p=0,002$) и гетерозиготного варианта *G/A* (5,60 [CI95 %: 2,84-11,04]) ($p=0,001$) гена *IL-10 G1082A*. Среди больных гриппом А(Н3N2) у обладателей гомозигот *C/C* и *G/G* определялась минимальная концентрация IL-10, а максимальная – у носителей вариантов *T/T* и *A/A*. Наивысшая способность к лимфоцитарно-тромбоцитарному розеткообразованию при гриппе А(Н3N2) выявляется у лиц-носителей генотипа *C/C* и *G/G* промоторов гена *IL-10* (*C819T*, *G1082A*). Содержание IL-10 и показатели функции лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при гриппе А(Н3N2) зависят от носительства генотипов промоторных регионов *C819T* и *G1082A* гена *IL-10*.

Ключевые слова: грипп, полиморфизм генов интерлейкина 10 (*C819T*, *G1082A*), IL-10, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия.

*A.N. Emelyanova, A.S. Emelyanov, G.A. Chuprova,
N.V. Epifantseva, Yu.A. Vitkovsky*

INTERLEUKIN-10 GENE PROMOTER POLYMORPHISM (*C819T*, *G1082A*) AND ITS INFLUENCE ON INTERLEUKIN 10 CONCENTRATION AND LYMPHOCYTE PLATELET ADHESION IN INFLUENZA A(H3N2)

Abstract. Influenza A(H1N1)pdm09-infection is known to induce exuberant proinflammatory cytokine response in both respiratory and extra-respiratory tissues. Interleukin 10 is a powerful anti-inflammatory factor in intercellular interactions, including the main participants in adaptive cellular and humoral immunity – lymphocytes and platelets (lymphocyte-platelet adhesion). Interleukin 10 contributes to the effective regulation of cellular homeostasis in minimal concentrations. Genetic defects in the genes of anti-inflammatory cytokines can contribute to different production of encoded molecules, which determines the individual characteristics of the course of the infectious process in carriers of polymorphic mutations. The study was performed in 89 patients with influenza A(H3N2) and 96 healthy residents. Gene polymorphism of IL-10 was detected by PCR method. Amplification of IL-10 gene fragments was performed in a thermal cycler (Model “BIS”-M111, Novosibirsk). The percentage of lymphocyte-platelet aggregates (LTA) determined by light microscopy (method of Yu.A. Vitkovsky (1999)). The cytokine level measured by solid-phase ELISA using a set of reagents of Vector-Best (Novosibirsk). The program Statistica 10.0 was used for data processing. Such methods as Equilibrium Hardy-Weinberg, χ^2 -test and odds ratio descriptive statistics were used. It was found that the chance of developing influenza A(H3N2) increases in persons carrying the allele *T* 2,18 [CI95 %: 1,33-3,58]) ($p=0,002$), heterozygous *C/T* variant (2,88 [CI95 %: 1,56-5,32]) ($p=0,002$) of the IL-10 gene promoter (*C819T*) and allele *A* (4,23 [CI95 %: 2,50-7,14]) ($p=0,002$), heterozygous *G/A* (5,60 [CI95 %: 2,84-11,04]) ($p=0,001$) of the IL-10 gene promoter (*G1082A*). Among influenza A(H3N2) patients, the *C/C* and *G/G* homozygous carriers had the lowest concentration of IL-10, while the highest concentration was found in the carriers of the *T/T* and *A/A* variants. Carriers of the *C/C* and *G/G* genotype of the IL-10 gene promoter (*C819T*, *G1082A*) have the highest ability for lymphocytic-platelet adhesion in influenza A(H3N2).

Keywords: influenza, gene polymorphism of interleukin 10 (*C819T*, *G1082A*), IL-10, lymphocyte-platelet adhesion.

Введение.

Вирус гриппа А, обладая способностью к изменению своей поверхностной структуры посредством изменчивости поверхностных белков гемагглютинина (Н) и нейраминидазы (N), способен вызывать эпидемии и пандемии [1].

По мнению ученых, фактором, способствующим более широкому распространению гриппа А(Н3N2), являются его более частые, по сравнению с гриппом А(Н1N1), антигенные мутации [2], которые приводят к недостаточно быстрой адаптации иммунной системы к изменчивому вирусу и нарушению выработки дифференцированного иммунного ответа. Следствием этого являются повсеместное распространение, высокая восприимчивость, короткие интервалы между эпидемиями и вовлечение всех групп населения, в т. ч. детей, подростков и пожилых людей [3, 4].

Проведенные к настоящему времени научные работы показали регулируемую роль цитокинов и хемокинов в иммунном ответе при различных патологических процессах [5]. Так, показана важная роль интерлейкина 10 (ИЛ-10, IL-10) в патогенезе ОРВИ в качестве ингибитора гиперактивации иммунокомпетентных клеток, часто приводящей к повышенной выработке провоспалительных цитокинов [5].

Инфекция гриппа А, как известно, индуцирует сильный провоспалительный цитокиновый ответ как в респираторных, так и в экстрареспираторных тканях [6]. При гриппе сообщалось о нарушении регуляции продукции фактора некроза опухоли (TNF)- α , интерлейкина (IL)-1 β , IL-6 и IL-17A, которые способствуют провоспалительному ответу, и IL-10, противовоспалительного цитокина [7].

IL-10 – мощный противовоспалительный фактором межклеточных взаимодействий [8-10], в том числе и основных участников адаптивного клеточного и гуморального иммунитета – лимфоцитов и тромбоцитов (лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия) [11]. Интерлейкин-10 даже в минимальных концентрациях способствует эффективной регуляции клеточного гомеостаза посредством активации/торможения эффекторных клеточных функций [8-11].

При этом генетические дефекты в генах противовоспалительных цитокинов могут способствовать различной продукции кодируемых молекул, что обуславливает индивидуальные особенности течения инфекционного процесса у носителей полиморфных мутаций [12].

Цель исследования: изучение частоты полиморфных вариантов промоторных регионов гена IL-10 (C819T, G1082A), а также их влияния на содержание интерлейкина 10 и показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии в крови практически здоровых доноров и пациентов с гриппом А(Н3N2).

Материалы и методы.

В исследование методом сплошной выборки были включены больные с диагнозом «Грипп А(Н3N2), средней степени тяжести» (89 человек, медиана возраста – 52,5 [36,5; 71,0] лет) эпидемических сезонов 2016 – 2017 гг. и 2017 – 2018 гг. Диагноз гриппа А(Н3N2) выставлен на основании эпидемиологического анамнеза, клинико-анамнестических и лабораторных данных (мазок из носо- и ротоглотки методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)). Критерии включения: давность заболевания не более 5 суток, наличие 1 или нескольких симптомов катарального воспаления дыхательных путей, наличие 1 или нескольких симптомов интоксикации, повышение t° тела $\geq 37,4^{\circ}\text{C}$.

Клинически и анамнестически у всех обследованных лиц были исключены любые иные инфекционные заболевания, обострение хронических воспалительных процессов, выраженная аутоиммунная патология, наличие тяжелой сопутствующей патологии, сахарный диабет и другие эндокринные заболевания, наследственные и психические болезни, у женщин – беременность и ранний послеродовый период.

Контрольную группу составили 96 практически здоровых доноров с аналогичными исследуемой группой характеристиками по полу и возрасту, не имеющие хронических инфекционных заболеваний, аллергических и аутоиммунных реакций, острых вирусных и бактериальных инфекций.

Для переноса данных с исследуемой выборочной совокупности на генеральную, которой являются представители европеоидной расы, родившиеся и проживающие на территории Забайкальского края (930017 человек по данным Федеральной службы государственной статистики), при уровне надежности 80 % и доверительной погрешности 5 % минимальный размер необходимой выборки составляет 164 человека (в исследование включено 185 человек). В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki) (1964, 2013 – поправки) и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Определение SNP-генов осуществлялось методом ПЦР с использованием стандартных наборов НПФ «Литех» (Москва). Амплификацию фрагментов гена *IL-10* (*C819T*, *G1082A*) проводили в термочиклере (модель «Бис»-M111, ООО «Бис-Н», Новосибирск) с электрофоретической детекцией продуктов в 3 % агарозном геле. Определение показателя лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) проводили по методу Ю.А. Витковского и др. (1999). Измерение уровня интерлейкина 10 проводили методом твердофазного ИФА с использованием набора реагентов ООО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Статистическая обработка осуществлялась при помощи электронных программ Microsoft Excel 2007, STATISTICA 10.0 с определением статистической значимости различий при $p < 0,05$. При нормальном распределении признака использовали параметрические методы статистики. Результаты представлены как медиана (Me) с интерквартильным интервалом (25 и 75 перцентили). Для сравнения частот аллелей и генотипов по качественному бинарному признаку применяли критерий χ^2 . Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом рассчитывали показатель отношения шансов (OR) с расчетом для него 95 % доверительного интервала (CI).

Результаты и обсуждение.

В ходе молекулярно-генетического исследования обнаружены все искомые мутации промоторных регионов *C819T*, *G1082A* гена *IL-10* в гомо- и гетерозиготном состоянии с частотным подчинением равновесию Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Распределение частот аллелей и генотипов тестируемых групп значительно отличалось между собой (табл. 1).

В группе пациентов в 1,2 раза реже выявлялась аллель *C* гена *IL-10* (*C819T*) с частотой 0,697, и в 1,8 раза чаще аллель *T* – с частотой 0,303, чем в группе здоровых лиц ($\chi^2=9,68$; $p=0,002$) (табл. 1).

Распределение генотипов среди здоровых резидентов оказалось следующим: *C/C* – 69,8 %, *C/T* – 27,1 %, *T/T* – 3,1 % ($\chi^2=12,85$; $p=0,002$). Среди пациентов с гриппом А(Н3N2) преобладал гетерозиготный генотип *C/T* (51,7 %), и реже всего обнаруживался гомозиготный вариант *T/T* – 4,5 % ($\chi^2=12,85$; $p=0,002$) (табл. 1).

Носительство SNP *IL-10* (*G1082A*) у больных гриппом А(Н3N2) и здоровых лиц оказалось различным. В группе больных превалировала мажорная аллель *G* с частотой 0,624, а минорная аллель *A* – с частотой 0,376, что в 3 раза чаще, чем в контрольной группе ($\chi^2=31,48$; $p=0,002$) (табл. 1).

Таблица 1 – Встречаемость SNP *IL-10* у здоровых лиц и больных гриппом А(Н3N2)

Группа	Аллель	Частота аллели, P	χ^2 ; p	Генотип	Частота генотипа, %	χ^2 ; p
C819T						
Больные грип- пом A(H3N2) (n=89)	C	0,697	9,68 p=0,002	CC	43,8	12,85 p=0,002
	T	0,303		CT	51,7	
				TT	4,5	
Контрольная группа (n=96)	C	0,833		CC	69,8	
	T	0,167		CT	27,1	
				TT	3,1	
G1082A						
Больные грип- пом A(H3N2) (n=89)	G	0,624	31,48 p=0,002	GG	36,0	35,54 p=0,001
	A	0,376		GA	52,8	
				AA	11,2	
Контрольная группа (n=96)	G	0,875		GG	79,2	
	A	0,125		GA	16,7	
				AA	4,2	

Выявлено, что у пациентов гомозиготные варианты *G/G* встречались в 36,0 % случаев, гомозиготные варианты *A/A* – в 11,2 %, преобладающими были гетерозиготы *G/A* – 52,8 % ($\chi^2=35,54$; $p=0,001$). В контрольной группе выявлялись все возможные генотипы, подчиняемые закону Харди-Вайнберга (табл. 1).

Исходя из полученных данных, вероятность развития заболевания для лиц-носителей аллели *C* гена *IL-10* (*C819T*) составляет 0,46 [CI95 %: 0,28-0,75], для обладателей аллели *T* – 2,18 [CI95 %: 1,33-3,58]. Шанс развития гриппа А(Н3N2) у носителей генотипа *IL-10* (*819CC*) равен 0,34 [CI95 %: 0,18-0,62], у обладателей генотипа *IL-10* (*819CT*) – 2,88 [CI95 %: 1,56-5,32] (табл. 1).

В участке SNP *IL-10* (*G1082A*) шанс развития заболевания у носителей генотипа *1082GG* равен 0,15 [CI95 %: 0,08-0,28], для носителей генотипов *1082GA* – 5,60 [CI95 %: 2,84-11,04]; для резидентов, несущих аллель *G* – 0,24 [CI95 %: 0,14-0,40], с аллелью *A* – 4,23 [CI95 %: 2,50-7,14] (табл. 1).

При изучении контактных взаимодействий клеток было установлено, что у больных гриппом А(Н3N2) повышается интенсивность розеткообразования между тромбоцитами и лимфоцитами. Так, у пациентов-носителей варианта *C/C* гена *IL-10* (*C819T*) выявлялось 28,7 % ([25,8;32,1], $p_1<0,001$) коагрегатов, варианта *C/T* – 24,1 % ([22,1;27,2], $p_1<0,001$), варианта *T/T* – 20,8 % ([16,8;23,4], $p_1<0,001$) (табл. 2).

Примерно такое же количество лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов обнаруживалось у обладателей варианта *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) – 28,3 % ([25,4;31,6], $p_1<0,001$), варианта *G/A* – 24,3 % ([21,7;26,9], $p_1<0,001$), варианта *A/A* – 21,1 % ([16,4;23,7], $p_1<0,001$), тогда как в норме этот показатель составлял 14-16 % (табл. 3).

На 5 – 6 сутки различий в содержании исследуемых показателей не выявлено: относительный показатель ЛТА среди пациентов составил 17,3 % [14,6;19,8], абсолютный – $0,38 \cdot 10^9/\text{л}$ [0,29;0,42], что достоверно не отличалось от аналогичных параметров среди здоровых ($p>0,05$).

Таблица 2 – Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных гриппом А(Н3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-10* (*C819T*) (Me, $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Наблюдаемые группы	Абсолютное содержание лимфоцитов, *10 ⁹ /л	Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия		
		Показатель ЛТА		Степень ЛТА
		Относит., %	Абсол., *10 ⁹ /л	
Генотип C/C				
Контрольная группа (n=67)	1,98 [1,76;2,31]	14,9 [13,8;15,6]	0,28 [0,23;0,35]	3,5 [2,7;3,9]
Больные гриппом (n=39)	3,6 [3,10;3,91] p ₁ <0,01	28,7 [25,8;32,1] p ₁ <0,001	0,93 [0,82;1,17] p ₁ <0,001	4,3 [3,6;4,8] p ₁ <0,05
Генотип C/T				
Контрольная группа (n=26)	1,87 [1,63;2,29]	14,7 [13,2;15,3]	0,24 [0,19;0,31]	3,3 [2,4;3,6]
Больные гриппом (n=46)	3,2 [2,85;3,67] p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	24,1 [22,1;27,2] p ₁ <0,001 p ₂ >0,05	0,79 [0,61;0,97] p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	3,9 [3,3;4,8] p ₁ <0,05 p ₂ >0,05
Генотип T/T				
Контрольная группа (n=4)	1,66 [1,52;1,91]	14,1 [12,5;14,9]	0,20 [0,15;0,27]	3,1 [2,2;3,4]

Больные гриппом (n=3)	2,7 [2,44;3,61] $p_1<0,01$ $p_2>0,05$ $p_3>0,05$	20,8 [16,8;23,4] $p_1<0,001$ $p_2>0,05$ $p_3>0,05$	0,64 [0,53;0,74] $p_1<0,001$ $p_2>0,05$ $p_3>0,05$	3,7 [3,2;4,2] $p_1<0,05$ $p_2>0,05$ $p_3>0,05$
--------------------------	--	--	--	--

Примечание: p_1 – статистическая значимость различий с контролем; p_2 – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготными вариантами C/C; p_3 – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготными вариантами C/T.

Таблица 3 – Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных гриппом A(H3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-10* (G1082A) (Me, $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Наблюдаемые группы	Абсолютное содержание лимфоцитов, *10 ⁹ /л	Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия		
		Показатель ЛТА		Степень ЛТА
		Относит., %	Абсол., *10 ⁹ /л	
Генотип G/G				
Контрольная группа (n=76)	1,93 [1,73;2,26]	14,8 [13,9;15,3]	0,26 [0,21;0,35]	3,4 [2,6;3,7]
Больные гриппом (n=32)	3,5 [3,08;3,84] p ₁ <0,01	28,3 [25,4;31,6] p ₁ <0,001	0,92 [0,81;1,13] p ₁ <0,001	4,2 [3,5;4,7] p ₁ <0,05
Генотип G/A				
Контрольная группа (n=16)	1,84 [1,57;2,14]	14,5 [13,3;15,1]	0,23 [0,18;0,32]	3,2 [2,3;3,5]
Больные гриппом (n=47)	3,3 [2,79;3,58] p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	24,3 [21,7;26,9] p ₁ <0,001 p ₂ >0,05	0,78 [0,63;0,95] p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	3,9 [3,3;4,8] p ₁ <0,05 p ₂ >0,05
Генотип A/A				
Контрольная группа (n=4)	1,62 [1,53;1,88]	13,9 [12,2;14,6]	0,21 [0,16;0,25]	3,0 [2,4;3,3]
Больные гриппом (n=10)	2,8 [2,51;3,46] p ₁ <0,01 p ₂ >0,05 p ₃ >0,05	21,1 [16,4;23,7] p ₁ <0,001 p ₂ >0,05 p ₃ >0,05	0,62 [0,51;0,73] p ₁ <0,001 p ₂ >0,05 p ₃ >0,05	3,6 [3,1;3,9] p ₁ <0,05 p ₂ >0,05 p ₃ >0,05

Примечание: p_1 – статистическая значимость различий с контролем; p_2 – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготными вариантами G/G; p_3 – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготными вариантами G/A.

Таблица 4 – Содержание IL-10 в крови больных гриппом A(H3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-10* (C819T), пкг/мл (Me, $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Генотип	Здоровые лица	Больные гриппом	p
C/C	0,7 [0,3;1,0]	10,8 [6,5;13,9]	$p_1<0,001$
C/T	0,8 [0,5;1,2]	14,7 [10,2;19,2]	$p_1<0,001$ $p_2>0,05$
T/T	1,1 [0,6;1,3]	18,4 [15,1;22,8]	$p_1<0,001$ $p_2>0,05$ $p_3>0,05$

Примечание: p_1 – статистическая значимость различий с контролем; p_2 – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготами C/C; p_3 – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготами C/T.

Таблица 5 – Содержание IL-10 в крови больных гриппом A(H3N2) в зависимости от генотипа полиморфизма промотора гена *IL-10* (*G1082A*), пкг/мл (Me, $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Генотип	Здоровые лица	Больные гриппом	p
<i>G/G</i>	0,7 [0,3;1,0]	11,2 [6,8;13,5]	$p_1 < 0,001$
<i>G/A</i>	0,8 [0,5;1,2]	14,9 [10,7;18,8]	$p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
<i>A/A</i>	1,1 [0,6;1,3]	19,1 [14,8;22,3]	$p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$

Примечание: p_1 – статистическая значимость различий с контролем; p_2 – статистическая значимость различий по сравнению с гомозиготами *G/G*; p_3 – статистическая значимость различий по сравнению с гетерозиготами *G/A*.

При сопоставлении концентрации IL-10 в крови пациентов с гриппом A(H3N2) в зависимости от полиморфных вариантов гена *IL-10* было отмечено ее увеличение независимо от генотипа по сравнению с группой здоровых лиц при отсутствии иммунной стимуляции ($p_1 < 0,001$) (табл. 4, 5).

Так, у лиц-носителей гомозигот *C/C* гена *IL-10* (*C819T*) и гомозигот *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) определялась минимальная концентрация кодируемого цитокина – 10,8 пкг/мл [6,5;13,9] и 11,2 пкг/мл [6,8;13,5] соответственно (табл. 4). При этом максимальная концентрация выявлялась у обладателей вариантов *T/T* гена *IL-10* (*C819T*) и *A/A* гена *IL-10* (*G1082A*) по сравнению с контрольной группой ($p_1 < 0,001$) (табл. 5).

Таким образом, у лиц-носителей гомозигот *C/C* гена *IL-10* (*C819T*) и гомозигот *G/G* гена *IL-10* (*G1082A*) определялись минимальная концентрация кодируемого цитокина IL-10 и наибольшие параметры лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования.

Как же объяснить полученные результаты?

Интерлейкин-10 как модулятор противовоспалительного иммунного ответа играет существенную роль в поддержании баланса про- и противовоспалительных факторов, влияя на развитие, течение и исход многих заболеваний [5].

Так, например, Alagarasu K. et al. установили, что SNP *IL-10 rs1800896-rs1800872* ассоциированы с тяжелым заболеванием у субъектов Западной Индии, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 [13].

Choudhary M.L. et al. также подтвердили, что генотип *IL-10 rs1800896 C/A* был в значительной степени связан со смертельным исходом при инфекциях гриппа A/H1N1pdm09 в индийской популяции [14].

В работе Rogo L.D. et al. показано, что полиморфизмы генов, участвующих в воспалительном и противовоспалительном процессах, влияют на исход заболевания, а именно генотипы *G/G* и *G/T* *IL-10* (*rs1800872*) были связаны с повышенным риском заражения вирусом гриппа A/H3N2 в иранской популяции [15].

С другой стороны, сила влияния факторов на патогены в процессе эволюции при выборе аллелей гена *IL-10* позволила сформировать разные структуры гаплотипических блоков, которые в значительной степени влияют на уровень продукции этого цитокина [5].

Так, Витковским Ю.А. и соавт. установлено, что противовоспалительные цитокины существенно ингибируют лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию: IL-10 угнетает деятельность Th1, являющихся продуцентами IL-2, следовательно, увеличение в крови IL-4 и IL-10 будет сопровождаться уменьшением ЛТА, что, в свою очередь, приведет к прекращению миграции клеток, осуществляющих иммунный ответ [11].

В настоящем исследовании такое изменение параметров лимфоцитарно-тромбоцитарного взаимодействия объясняются уровнем цитокинов у обладателей различных SNP: способность лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования оказалась максимальной у носителей варианта генотипа *C/C* гена *IL-10 (C819T)* и *G/G* гена *IL-10 (G1082A)* на фоне минимальной концентрации IL-10 при этих вариантах генотипов.

Заключение.

Таким образом, носительство аллели *T*, гетерозиготного варианта *C/T* гена *IL-10 (C819T)*, аллели *A*, гетерозиготного варианта *G/A* гена *IL-10 (G1082A)* увеличивают вероятность развития гриппа А(Н3N2). Содержание IL-10 и показатели функции лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования при гриппе А(Н3N2) также зависят от носительства SNP промоторных регионов *C819T* и *G1082A* гена *IL-10*.

Литература

1. Викулов Г.Х. Новые и возвращающиеся респираторные вирусные инфекции: алгоритмы диагностики и терапии // ПМЖ. Медицинское обозрение. – 2018. – № 2 (8(1)). – С. 5-11.
2. Yang H, Carney PJ, Chang JC, Villanueva JM, Stevens J. Structure and receptor binding preferences of recombinant hemagglutinins from avian and human H6 and H10 influenza A virus subtypes. J Virol. 2015;89(8):4612-23. DOI: 10.1128/JVI.03456-14.
3. Хасанова Р.Р. Заболеваемость и смертность населения России от гриппа в 2008-2019 гг. // Экономическое развитие России. – 2020. – № 4. – С. 88–92. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/zabolevaemost-i-smernost-naseleniya-rossii-ot-grippa-v-2008-2019-gg> (дата обращения: 20.11.2022).
4. Емельянов А.С., Чупрова Г.А., Емельянова А.Н. и др. Генетический полиморфизм Toll-подобного рецептора-3 у больных гриппом А(Н3N2) и гриппом В // Забайкальский медицинский вестник. – 2021. – № 1. – С. 17-21. DOI: 10.52485/19986173-2021-1-17
5. Гончарова И.А., Брагина Е.Ю., Жалсанова И.Ж., и др. Эффект полиморфизма генов *IL10* (rs1800872) и *CXCL10* (rs4386624, rs4256246) в развитии инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной природы // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2019. – № 5 (4). С. 32-43. DOI:10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-3
6. Short K.R. [et al.] Proinflammatory Cytokine Responses in Extra-Respiratory Tissues During Severe Influenza. J Infect Dis. 2017;216(7):829-833. DOI: 10.1093/infdis/jix281.
7. Thomas M. [et al.] Proinflammatory chemokines are major mediators of exuberant immune response associated with Influenza A (H1N1) pdm09 virus infection. J Med Virol. 2017;89(8):1373-1381. DOI: 10.1002/jmv.24781.
8. Wei H. [et al.] Interleukin-10 Family Cytokines Immunobiology and Structure. Adv Exp Med Biol. 2019;1172:79-96. DOI: 10.1007/978-981-13-9367-9_4.
9. Kumar R., Ng S., Engwerda C. The Role of IL-10 in Malaria: A Double Edged Sword. Front Immunol. 2019;10:229. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00229.
10. Wang X. [et al.] Targeting IL-10 Family Cytokines for the Treatment of Human Diseases. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2019;11(2):a028548. DOI: 10.1101/cshperspect.a028548.
11. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии // Медицинская иммунология. – 2006. – № 8 (5-6). – С. 745-753.
12. Криволицкая Т.А., Емельянова А.Н., Емельянов А.С. и др. Роль некоторых генетических полиморфизмов IL-10 в развитии ветряной оспы у военнослужащих // Молекулярная медицина. – 2022. – № 20 (1). – С. 60-64. DOI: 10.29296/24999490-2022-01-10
13. Alagarasu K. [et al.] *TNFA* and *IL10* Polymorphisms and IL-6 and IL-10 Levels Influence Disease Severity in Influenza A(H1N1)pdm09 Virus Infected Patients. Genes (Basel). 2021;12(12):1914. DOI: 10.3390/genes12121914.

14. Choudhary M.L. [et al.] Association of Single Nucleotide Polymorphisms in *TNFA* and *IL10* Genes with Disease Severity in Influenza A/H1N1pdm09 Virus Infections: A Study from Western India. *Viral Immunol.* 2018;31(10):683-688. DOI: 10.1089/vim.2018.0120.
15. Rogo L.D. [et al.] Seasonal influenza A/H3N2 virus infection and IL-1B, IL-10, IL-17, and IL-28 polymorphisms in Iranian population. *J Med Virol.* 2016;88(12):2078-2084. DOI: 10.1002/jmv.24572.

References

1. Vikulov G.H. New and reemerging respiratory viral infections: diagnostic and therapeutic algorithms. *RMJ. Medical Review.* 2018;8(1):5-11. (In Russian).
2. Yang H. [et al.] Structure and receptor binding preferences of recombinant hemagglutinins from avian and human H6 and H10 influenza A virus subtypes. *J Virol.* 2015;89(8):4612-23. DOI: 10.1128/JVI.03456-14.
3. Khasanova R.R. Morbidity and mortality of the population of Russia from influenza in 2008-2019. *Economic development of Russia.* 2020;4:88-92. (In Russian).
4. Emelyanov A.S., Chuprova G.A., Emelyanova A.N. [et al.] TOLL-like receptor-3 genetic polymorphism in patients with influenza A(H3N2) and influenza B. *Zabaikal'skiy Meditsinskiy Vestnik.* 2021;1:17-21 (In Russ., English abstract). DOI: 10.52485/19986173-2021-1-17.
5. Goncharova I.A., Bragina E.Yu., Zhalsanova I.Z., et al. Effect of IL10 (rs1800872) and CXCL10 (rs4386624, rs4256246) genes polymorphism in the development of viral and bacterial infectious diseases. *Research Results in Biomedicine.* 2019;5(4):32-43. (In Russian) DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-4-0-3.
6. Short K.R. [et al.] Proinflammatory Cytokine Responses in Extra-Respiratory Tissues During Severe Influenza. *J Infect Dis.* 2017;216(7):829-833. DOI: 10.1093/infdis/jix281.
7. Thomas M. [et al.] Proinflammatory chemokines are major mediators of exuberant immune response associated with Influenza A (H1N1) pdm09 virus infection. *J Med Virol.* 2017;89(8):1373-1381. DOI: 10.1002/jmv.24781.
8. Wei H. [et al.] Interleukin-10 Family Cytokines Immunobiology and Structure. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1172:79-96. DOI: 10.1007/978-981-13-9367-9_4.
9. Kumar R., Ng S., Engwerda C. The Role of IL-10 in Malaria: A Double Edged Sword. *Front Immunol.* 2019;10:229. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00229.
10. Wang X. [et al.] Targeting IL-10 Family Cytokines for the Treatment of Human Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2019;11(2):a028548. DOI: 10.1101/cshperspect.a028548.
11. Vitkovsky Yu.A., Kuznick B.I., Solpov A.V. Pathogenetic significance of lymphocyte-to-platelet adherence. *Medical Immunology (Russia).* 2006. 8(5-6). 745-753. in Russian. DOI: 10.15789/1563-0625-2006-5-6-745-753.
12. Krivolutskaia T.A., Emelyanova A.N., Emelyanov A.S., [et al.] The role of some genetic polymorphisms of IL-10 IN the development of varicella in military personnel. *Molekulyarnaya meditsina.* 2022; 20 (1):60-64 (in Russian). DOI: 10.29296/24999490-2022-01-10
13. Alagarasu K. [et al.] TNFA and IL10 Polymorphisms and IL-6 and IL-10 Levels Influence Disease Severity in Influenza A(H1N1)pdm09 Virus Infected Patients. *Genes (Basel).* 2021;12(12):1914. DOI: 10.3390/genes12121914.
14. Choudhary M.L. [et al.] Association of Single Nucleotide Polymorphisms in TNFA and IL10 Genes with Disease Severity in Influenza A/H1N1pdm09 Virus Infections: A Study from Western India. *Viral Immunol.* 2018;31(10):683-688. DOI: 10.1089/vim.2018.0120.
15. Rogo L.D. [et al.] Seasonal influenza A/H3N2 virus infection and IL-1B, IL-10, IL-17, and IL-28 polymorphisms in Iranian population. *J Med Virol.* 2016;88(12):2078-2084. DOI: 10.1002/jmv.24572.