

## ГУМОРАЛЬНЫЙ ОТВЕТ ПРИ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ И РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-10G1082A В ЭКСПРЕССИИ ЭФФЕКТОРНЫХ МОЛЕКУЛ

Епифанцева Н.В.

*ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия Минздрава России»,  
Чита, e-mail: en1608@yandex.ru*

В работе рассмотрены иммунопатогенетические аспекты гуморального звена иммунного ответа при кишечных инфекциях и влияние однонуклеотидного полиморфизма гена интерлейкина-10 в позиции G1082A на индукцию эффекторных молекул. Исследование проводилось при участии пациентов с диагнозом «острая кишечная инфекция» (108 человек) и группы контроля из 20 человек. В исследуемых группах с письменного согласия участников осуществляли забор крови с последующим определением иммуноглобулинов класса А, М и G с подклассами и амплификацией участка G1082A гена интерлейкина-10. Для определения эффекторных белков и сепарирования нуклеиновых кислот использовали тест-системы «Вектор-Бест» (Новосибирск) и «ДНК-ЭКСПРЕСС-кровь» (научно-производственная фирма «Литех», РФ), полученные данные подвергали статистической обработке с использованием электронных программ. В результате проведенной работы установлено, что у пациентов с острой кишечной инфекцией повышен уровень иммуноглобулинов класса М, А, секреторного иммуноглобулина А, общего G с гипопродукцией подклассов G1 и G4. Влияние полиморфного гена G1082A интерлейкина-10 отмечено у носителей рецессивного аллеля А в гомогенном варианте -1082AA с регистрацией наибольших показателей общих иммуноглобулинов со статистически высокой значимостью концентрации иммуноглобулина класса М. Среди носителей доминантного аллеля G в группе пациентов с гомозиготным вариантом GG, на фоне низкого уровня иммуноглобулинов класса М, заболевание имело более яркий симптомокомплекс и длительное течение. Таким образом, ген интерлейкина-10 с однонуклеотидным полиморфизмом в позиции G1082A оказывает непосредственное влияние на синтез иммуноглобулинов, что нашло свое отражение в клинической картине острых кишечных инфекций.

Ключевые слова: интерлейкин-10, иммуноглобулины, кишечная инфекция, полиморфизм.

## HUMORAL RESPONSE TO INTESTINAL INFECTION AND THE ROLE OF INTERLEUKIN-10G1082A GENE POLYMORPHISM IN THE EXPRESSION OF EFFECTOR MOLECULES

Epifantseva N.V.

*Chita State Medical Academy Ministry of Health of Russia, Chita, e-mail: en1608@yandex.ru*

The paper considers the immunopathogenetic aspects of the humoral link of the immune response in intestinal infections and the effect of the single-nucleotide polymorphism of the interleukin-10 gene at position G1082A on the induction of effector molecules. The study was conducted with the participation of patients diagnosed with acute intestinal infection (108 people) and a control group of 20 people. In the studied groups, with written consent, blood sampling was performed, followed by the determination of class A, M, and G immunoglobulins with subclasses and amplification of the G1082A region of the interleukin-10 gene. The Vector-Best (Novosibirsk) and DNA-EXPRESS-Blood (Litech) test systems were used to determine effector proteins and separate nucleic acids, and the data obtained were statistically processed using electronic systems. As a result of the work carried out, it was found that patients with acute intestinal infection have increased levels of immunoglobulins of class M, A, secretory immunoglobulin A, total G with hypoprotection of subclasses G1 and G4. The effect of the polymorphic interleukin-10 gene G1082A was noted in carriers of the recessive allele A in the homogeneous variant -1082AA by registering the highest levels of total immunoglobulins with a statistically high concentration of class M immunoglobulin. Among the carriers of the dominant G allele in the group of patients with the homozygous GG variant, against the background of low levels of class M immunoglobulins, the disease had a more pronounced symptom complex and a prolonged course. Thus, the interleukin-10 gene with a single nucleotide polymorphism at position G1082A has a direct effect on the synthesis of immunoglobulins, which is reflected in the clinical picture of acute intestinal infections.

Keywords: interleukin-10, immunoglobulins, intestinal infection, polymorphism.

## **Введение**

В иммунопатогенезе острых кишечных инфекций значительная роль отводится гуморальному иммунитету, в основе действия которого находятся антитела, участвующие в блокировании и удалении из организма патогенных микроорганизмов. При контакте иммунокомпетентных клеток с патогенном инициируется продукция специфических иммуноглобулинов, экспрессия эффекторных молекул определяется регуляторными белками, уровень которых зависит от полиморфизма генов цитокинов. Так, в результате многочисленных исследований установлена ассоциация генетических вариантов в локусах цитокинов с чувствительностью к специфическим патогенам или с иммунопатологией хозяина. Аллели однонуклеотидного полиморфизма (single-nucleotide polymorphism, SNP) генов цитокинов различаются по своей иммунной активности или ответной реакции, что приводит к последующему влиянию на развитие иммунных эффекторных функций [1, 2]. Например, баланс между цитокинами, стимулирующими иммунные ответы Т-хелперов 1-го типа (Th1-типа) и Т-хелперов 2-го типа (Th2-типа), и модуляция этих ответов регуляторными Т-клетками являются основным фактором в результате ответа хозяина на инфекцию [3].

**Цель исследования.** Определение выраженности гуморального ответа при кишечных инфекциях и роли полиморфизма гена интерлейкина-10(IL-10)*G1082A* в экспрессии защитных белков.

## **Материалы и методы исследования**

В исследовании приняли участие 108 пациентов, находившихся на лечении в Краевой клинической инфекционной больнице с острой кишечной инфекцией. Средний возраст пациентов –  $28,3 \pm 11,6$  года. В контрольную группу вошли 20 условно здоровых лиц, сопоставимых по возрасту ( $23,3 \pm 1,4$  года). Отбор исследуемых осуществляли путем определения соответствия критериям включения: возраст 15–55 лет, отсутствие сопутствующих заболеваний в стадии декомпенсации, в острый период и/или в период обострения.

На основании клинико-лабораторных исследований для определения уровня иммуноглобулинов сформированы 3 группы:

- первую группу оставили 29 испытуемых с диагнозом «вирусная диарея»;
  - вторая группа: 33 пациента с острой кишечной инфекцией (ОКИ) уточненной бактериальной этиологии;
  - третья группа – 46 исследуемых с ОКИ неустановленной этиологии.
- Этиологический поиск осуществляли путем посева кала на питательные среды, исследования кала методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и серологического исследования крови: реакция непрямой гемагглютинации (РНГА), определение титра антител (АТ) в парных

сыворотках. Активность гуморального звена иммунитета: секреторного иммуноглобулина А (sIgA), общего иммуноглобулина А (IgA), иммуноглобулина М (IgM), иммуноглобулина G (IgG) с подклассами G1, G2, G3, G4 – определяли путем исследования сыворотки крови, взятой с письменного согласия пациентов, с применением тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) с последующим анализом результатов при помощи автоматического иммуноферментного анализатора «PersonalLab» (Италия). Молекулярно-генетические исследования (определение полиморфизма гена IL-10G1082A) основывались на выделении ДНК при помощи набора «ДНК-ЭКСПРЕСС-кровь» (НПФ «Литех», РФ) с дальнейшей амплификацией участка ДНК генного локуса. Структура использованных праймеров и параметры температурных циклов описаны в литературе и геномной базе данных. Формирование исследуемых групп проводилось по наличию полиморфных вариантов гена IL-10G1082A среди пациентов с ОКИ независимо от этиологического фактора. В первую группу вошли пациенты с ОКИ, носители варианта -1082GG – 50 человек, вторая группа – 42 пациента с генотипом -1082AG, третья группа – 16 пациентов с генотипом -1082AA. Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи электронных программ Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0, с определением статистической значимости различий при достигнутом уровне значимости  $p < 0,05$  с использованием критерия Манна–Уитни (U-тест). Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при соблюдении равновесия Харди–Вайнберга и для сравнения распределения частот генотипов в группах использовали критерий  $\chi$ -квадрат при уровне значимости  $p < 0,05$ . Оценку распределения признаков проводили с помощью W-критерия Шапиро–Уилкса.

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2024 ред.)

### **Результаты исследования и их обсуждение**

При исследовании уровня иммуноглобулинов у пациентов с ОКИ независимо от этиологического фактора определялся повышенный уровень IgM и IgG. Высокий уровень IgM является первичной реакцией макроорганизма на проникновение патогена в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). Кишечные патогены: бактерии, вирусы, преодолевая первичные защитные барьеры, инвазируют слизистую оболочку кишечника и способствуют формированию очага воспаления, инициируя синтез белков гуморального иммунитета, в первую очередь IgM как молекул быстрого, но кратковременного эффекта. В дальнейшем, под влиянием Т-клеток и цитокинов В-клетки переключаются на продукцию IgG. При этом концентрация IgG значительно превышает уровень IgM, являясь основным фактором гуморального звена и способствуя длительной иммунной защите от повторного заболевания.

IgG имеют четыре подкласса: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 [4, 5], все они принимают активное участие в антибактериальной защите; к противовирусным антителам относятся преимущественно IgG1 и IgG3. При оценке экспрессии различных подклассов G установлен низкий уровень подклассов IgG1 и IgG4, с наименьшими показателями у пациентов с бактериальными диареями. При этом отмечено повышение IgG2 во всех исследуемых группах в 2–3 раза ( $p<0,05$ ). IgG1, IgG3 играют ведущую роль в формировании противовирусных и антибактериальных антител. Недостаточный уровень данных подклассов может способствовать не только развитию кишечной инфекции, но и повторным случаям заболеваний в коротком промежутке времени. При попадании кишечных патогенов в желудочно-кишечный тракт клетки слизистой оболочки реагируют на действие токсинов экспрессией защитных факторов, в первую очередь Ig A. У всех групп пациентов, как с вирусной, так и бактериальной диареей, отмечалась гиперпродукция sIgA в 9 раз и общего IgA в 2,5 раза в сравнении с группой контроля ( $p<0,01$ ) (табл. 1).

**Таблица 1**

**Уровень иммуноглобулинов при острой кишечной инфекции**

| ОКИ<br>Ig,<br>пг/мл | Вирусные<br>диареи<br>(n=29)                           | Бактериальные<br>уточненные<br>диареи<br>(n=33) | ОКИ<br>неуточненной<br>этиологии<br>(n=46) | Группа<br>контроля<br>(n=20) |
|---------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------|
| Ig G                | 45,7<br>[31,85–61,08]<br>$p^*<0,01$<br>$p^{**}<0,01$   | 47,38<br>[43,62–61,8]<br>$p^*<0,01$             | 47,82<br>[33,46–61]<br>$p^*<0,01$          | 16,482<br>[12,785–22,175]    |
| IgG1                | 2,811<br>[1,485–4,792]<br>$p^*<0,05$<br>$p^{**}>0,05$  | 1,796<br>[0,988–4,247]<br>$p^*<0,01$            | 2,384<br>[0,789–4,674]<br>$p^*<0,01$       | 6,206<br>[3,83–10,825]       |
| IgG2                | 4,588<br>[0,350–17,212]<br>$p^*<0,05$<br>$p^{**}>0,05$ | 5,35<br>[0,429–16,379]<br>$p^*<0,05$            | 2,628<br>[0,345–16,384]<br>$p^*<0,05$      | 1,968<br>[1,554–2,713]       |
| IgG3                | 0,948<br>[0,484–1,307]<br>$p^*>0,05$                   | 1,092<br>[0,367–2,419]<br>$p^*>0,05$            | 0,944<br>[0,461–1,538]<br>$p^*>0,05$       | 1,416<br>[1,085–1,85]        |

|      |                                                 |                                   |                                   |                        |
|------|-------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
|      | p**>0,05                                        |                                   |                                   |                        |
| IgG4 | 0,383<br>[0,164-0,601]<br>p*<0,01<br>p**>0,05   | 0,344<br>[0,08-0,691]<br>p*<0,01  | 0,381<br>[0,146-0,661]<br>p*<0,01 | 1,298<br>[0,714-1,755] |
| IgM  | 4,706<br>[2,636–6,811]<br>p*<0,05<br>p**>0,05   | 4,364<br>[3,17–6,421]<br>p*<0,05  | 4,668<br>[2,75–6,914]<br>p*<0,05  | 3,069<br>[2,504–3,91]  |
| IgA  | 5,186<br>[2,926–8,076]<br>p*<0,01<br>p**>0,05   | 5,882<br>[3,438–9,493]<br>p*<0,01 | 5,15<br>[3,032–8,4]<br>p*<0,01    | 2,355<br>[1,674–2,765] |
| sIgA | 26,22<br>[21,295–33,285]<br>p*<0,01<br>p**>0,05 | 26,46<br>[21,83–36,64]<br>p*<0,01 | 26,46<br>[22,56–34,52]<br>p*<0,01 | 3,04<br>[2,409–3,58]   |

Примечание. p\* – уровень статистической значимости в сравнении с группой контроля;  
p\*\* – уровень статистической значимости в сравнении вирусных диарей с ОКИ бактериальной природы.

Высокая концентрация sIgA связана с повреждающим действием кишечных патогенов на слизистую оболочку. Именно sIgA, согласно литературным данным, является основным источником гуморального иммунитета слизистых оболочек и играет важную роль в качестве первой линии защиты путем инактивации патогенов на данных поверхностях [6, 7, 8]. У пациентов с легким течением заболевания концентрация IgG, IgA, sIgA была статистически значимо выше, чем у больных со среднетяжелыми формами острой кишечной инфекции. При легком течении концентрация IgG составила 48,94 [33,565–61,69] пг/мл, IgA – 5,236 [3,076–8,616] пг/мл, sIgA – 26,46 [22,56–34,95] пг/мл, в то время как при средней степени показатели IgG, IgA и sIgA были в пределах 45,7 [3288–60,85] пг/мл, 5,186 [2,926–7,947] пг/мл, 26,22 [21,295–33,285] пг/мл (p<0,05). На основе полученных результатов установлено, что кишечные патогены независимо от этиологии, оказывая повреждающее действие на клетки кишечника, запускают иммунный каскад с итоговым повышением уровня эффекторных белков в сравнении с группой контроля.

Но необходимо отметить, что продукция данных эффекторных молекул имеет непосредственную зависимость от цитокинов, в первую очередь от IL-10 [9]. IL-10 индуцирует выработку иммуноглобулинов, а уровень экспрессии зависит от полиморфизма генов [10]. Полиморфизм промоторных участков гена IL-10 обуславливает межиндивидуальную вариабельность по степени продукции IL-10 при антигенной стимуляции и формировании воспалительных клеточных реакций [11]. Так, аллель *G* локуса *G1082A* гена IL-10, являясь доминантным, индуцирует продукцию соответствующих белков, в то время как аллель *A* в данной паре является минорным. Таким образом, опираясь на полученные результаты, все пациенты с кишечной инфекцией независимо от этиологического фактора были распределены в три группы по признаку носительства полиморфного варианта гена IL-10 *G1082A*. У пациентов с кишечной инфекцией – носителей гетерозиготного варианта *-1082GA* установлены более высокий уровень IgG подкласса G1 – до 2,506 [0,9–4,71] пг/мл – и гипопродукция G3 (0,944 [0,464–1,538] пг/мл) ( $p < 0,05$ ). У обладателей рецессивного аллеля *A* в гомозиготном варианте *-1082AA* отмечены наиболее высокая концентрация IgM (4,668 [2,835–6,917] пг/мл,  $p < 0,05$ ) и статистически не значимое преимущество sIgA (табл. 2). При этом среди подклассов IgG дефицит подкласса G3 повышает риск развития инфекционных поражений ЖКТ [12].

**Таблица 2**

**Уровень иммуноглобулинов при полиморфизме гена IL-10 *G1082A***

| Генотип<br>Ig, пг/мл | Генотип GG<br>(n=50)    | Генотип GA<br>(n=42)                  | Генотип AA<br>(n=16)                  |
|----------------------|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| IgG                  | 42,84<br>[29,48–59,88]  | 42,46<br>[29,01–57,605]<br>$p > 0,05$ | 45,64<br>[30,9–60,46]<br>$p > 0,05$   |
| IgG1                 | 2,214<br>[1,011–4,674]  | 2,506<br>[0,9–4,71]<br>$p < 0,01$     | 2,262<br>[1,193–4,674]<br>$p > 0,05$  |
| IgG2                 | 2,771<br>[0,352–16,707] | 2,914<br>[0,342–16,845]<br>$p > 0,05$ | 2,268<br>[0,352–16,197]<br>$p > 0,05$ |
| IgG3                 | 0,948<br>[0,467–1,538]  | 0,944<br>[0,464–1,538]<br>$p < 0,05$  | 0,952<br>[0,47–1,538]<br>$p > 0,05$   |

|      |                        |                                    |                                  |
|------|------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| IgG4 | 0,383<br>[0,155–0,7]   | 0,38<br>[0,148–0,63]<br>p>0,05     | 0,384<br>[0,154–0,7]<br>p>0,05   |
| IgM  | 4,606<br>[2,75–6,776]  | 4,515<br>[2,564–6,622]<br>p>0,05   | 4,668<br>[2,835–6,917]<br>p<0,05 |
| IgA  | 5,15<br>[3,032–7,896]  | 5,114<br>[2,81–7,869]<br>p>0,05    | 5,078<br>[3,121–7,954]<br>p>0,05 |
| sIgA | 25,74<br>[18,51–30,86] | 25,24<br>[15,493–30,735]<br>p>0,05 | 26,22<br>[20,73–32,56]<br>p>0,05 |

Примечание.  $p^*$  – уровень статистической значимости в сравнении с нормозиготным вариантом –1082GG IL-10

При анализе клинической картины заболевания в зависимости от полиморфизма гена установлено, что среди носителей доминантного аллеля *G* острая кишечная инфекция независимо от нозологии протекала преимущественно в среднетяжелой форме. Длительность течения инфекционного процесса варьировала в пределах  $10,2 \pm 3,3$  койко-дня (*-1082GA*) –  $10,1 \pm 3,3$  койко-дня (*-1082GG*) в сравнении с носителями варианта *-1082AA* ( $7,7 \pm 1,3$  койко-дня). Заболевание в варибельных по аллелю *G* группах протекало с более выраженным симптомокомплексом, в отдельных случаях – с развитием синдрома обезвоживания. Это может быть связано с условно более низкой экспрессией общих иммуноглобулинов и в первую очередь – со статистически значимым низким уровнем IgM, в то время как у исследуемых с генотипом *-1082AA* отмечены наиболее высокие показатели IgM, sIgA, IgG, что способствовало легкому течению инфекционного процесса с коротким периодом заболевания. Следовательно, полиморфизм гена IL-10 *G1082A* определяет индукцию экспрессии иммуноглобулинов, что повышает риск заболевания и отражается на длительности и тяжести течения острых кишечных инфекций.

**Заключение.** При острых кишечных инфекциях независимо от этиологического фактора отмечено повышение общих белков гуморального иммунитета с наиболее высоким уровнем при легком течении заболевания. Однонуклеотидный полиморфизм гена ИЛ-10 в промоторной зоне локуса *G1082A* оказывает непосредственное влияние на экспрессию эффекторных молекул гуморального иммунитета, что опосредованно определяет клиническую картину и сроки болезни.

## Список литературы

1. Зайцев Д.Н., Василенко П.В., Говорин А.В., Василенко Е.А., Филёв А.П., Мудров В.А. Роль некоторых генетических полиморфизмов в развитии внезапной сердечной смерти в Забайкальском крае // Сибирское медицинское обозрение. 2021. №2. С. 35-42. DOI: 10.20333/2500136-2021-2-35-42.
2. Smith AJP, Humphries SE. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality // Cytokine & Growth Factor Reviews. 2009. Vol. 20. P. 43–59. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article> (дата обращения: 15.02.2025). DOI: 10.1016/j.cytogfr.2008.11.006.
3. Allen JE, Maizels RM Diversity and dialogue in immunity to helminths // Nature Reviews Immunology. 2011. Vol. 11. Is.6.P. 375–388. DOI: 10.1038/nri2992.
4. Ouyang W, O'Garra A. Il-10 family cytokines il-10 and il-22: from basic science to clinical translation // Immunity. 2019. Vol. 50. Is. 4. P. 871–891. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761319301372> (дата обращения: 02.02.2025). DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.020.
5. Carlini V, Noonan DM, Abdalalem E, Goletti D, Sansone C, Calabrone L, Albini A. The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions // Front Immunol. 2023. Vol: 14. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1161067/full> (дата обращения: 02.12.2024). DOI: 10.3389/fimmu.2023.1161067.
6. Saito S, Sano K, Suzuki T, Ainai A, Taga Y, Ueno T., Tabata K., Saito K., Wada Y., Ohara Y., Takeyama T., Odagiri T., Kageyama T., Ogawa Goto K., Multihartina P., Setiawaty V., Pangesti K., Hasegawa H. IgA tetramerization improves target breadth but not peak potency of functionality of anti-influenza virus broadly neutralizing antibody // PLoS Pathog. 2019. Vol. 15. Is. 1. URL: <https://journals.plos.org/plospathogens/article> (дата обращения: 01.02.2025). DOI:10.1371/journal.ppat.1007427.
7. Suzuki T., Ainai A., Hasegawa H. Functional and structural characteristics of secretory IgA antibodies elicited by mucosal vaccines against influenza virus // Vaccine. 2017. Vol. 35. Is. 39. P. 5297–5302. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.07.093.
8. Sano K., Ainai A., Suzuki T., Hasegawa H. The road to a more effective influenza vaccine: Up to date studies and future prospects // Vaccine. 2017. Vol. 35. Is. 40. P. 5388–5395. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.08.034.

9. Гуломов З.С., Симбирцев А.С., Янов Ю.К., Варюшина Е.А., Тырнова Е.В. Роль цитокинов при лечении острых и хронических заболеваний верхних дыхательных путей (обзор литературы) // Российская оториноларингология. 2008. Т. 6. №. 37. С. 200–205.
10. 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. URL: <http://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=34866> (дата обращения: 15.02.2025).
11. Емельянов А.С, Емельянова А.Н., Витковский Ю.А. Частота аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов IL-2 и IL-10 у больных гриппом А/Н1N1 (2009) // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник. 2015. Т. 1. С. 79-82. URL: <https://studylib.ru/doc/2221854/e-ni-zabajkal> (дата обращения 15.02.2025).
12. Чучалин А.Г. Болезни, ассоциированные с иммуноглобулином G // Терапевтический архив. 2018. Т. 90. №. 3. С. 4-9. URL: <https://ter-arkhiv.ru/0040-3660/article/view/32714/pdf> (дата обращения: 10.03.2025). DOI: 10.26442/terarkh20189034-9.