

УДК: 616.379-008.64

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА C174G ГЕНА IL6 В ФОРМИРОВАНИЕ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМДадабаев Омонжон Талибжанович, Мусахайхов Хусанбой Таджибаевич, Василевский Эдуард Александрович
Андижанский государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Андижан**C174G IL6 ГЕН ПОЛИМОРФИЗМАРИНИНГ ҚАНДЛИ ДИАБЕТ БИЛАН ОҒРИГАН БЕМОЛЛАРДА ДИАБЕТИК ТОВОН СИНДРОМИНИНГ ШАКЛЛАНИШИНИ ЎРГАНИШ**Дадабаев Омонжон Талибжанович, Мусахайхов Хусанбой Таджибаевич, Василевский Эдуард Александрович
Андижон давлат тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Андижон ш.**STUDY OF C174G IL6 GENE POLYMORPHISM IN FORMATION OF DIABETIC FOOT SYNDROME IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS**Dadabaev Omonjon Talibzhanovich, Musashaikhov Khusanboy Tadjibaevich, Vasilevsky Eduard Alexandrovich
Andijan State Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Andijane-mail: ed1970doctor@mail.ru

Резюме. Интерлейкин 6 генини ташиш асосида қандли диабет билан оғриган беморларда диабетик оёқ синдроми шаклланишининг хавф даражасини аниқлаш мезонлари ўрганилди. Клиник гуруҳ диабетик оёқ синдроми билан асоратланган қандли диабет билан оғриган 40 ёшдан 75 ёшгача бўлган 96 нафар беморни ўз ичига олди. Назорат гуруҳи 83 нафар соғлом одамдан иборат эди. Муаллифлар томонидан олинган натижалар IL6 генининг C174G полиморфизмининг C/G генотипининг мавжудлиги диабетик оёқ синдроминан ривожланишига мойиллик билан аниқ боғлиқлигини кўрсатади. Диабетик оёқ синдроми ривожланишининг самарали олдини олиш учун IL6 генида C174G полиморфизмини генотиплашни тавсия қилиш тавсия этилади.

Калит сўзлар: диабетик оёқ, ген полиморфизми, қандли диабет.

Abstract. The criteria for risk stratification of the formation of diabetic foot syndrome in patients with diabetes mellitus based on the carriage of the interleukin 6 gene were studied. The clinical group included 96 patients aged 40 to 75 years with diabetes mellitus complicated by diabetic foot syndrome. The control group consisted of 83 healthy individuals. The results obtained by the authors demonstrate that the presence of the C/G genotype of the C174G polymorphism of the IL6 gene has a clear correlation with predisposition to the development of diabetic foot syndrome. In order to effectively prevent the development of diabetic foot syndrome, it is advisable to recommend genotyping of the C174G polymorphism in the IL6 gene.

Keywords: diabetic foot, gene polymorphism, diabetes mellitus.

Актуальность проблемы. Сахарный диабет (СД) — хроническое заболевание обмена веществ. Более 382 миллионов человек во всем мире страдают СД, распространенность сахарного диабета 2 типа (СД2) у детей и подростков растет во всем мире параллельно с увеличением показателей ожирения [1]. К 2030 году СД может стать седьмой по значимости причиной смерти человека [2]. СД связан с микрососудистыми и макрососудистыми осложнениями, которые считаются одной из основных причин заболеваемости и смертности. Хронические осложнения, особенно микрососудистые осложнения (диабетическая ретинопатия, нефропатия, болезни стопы, невропатия), являются основным опасным исходом этого заболевания. Хронические воспалительные процессы участвуют в развитии диабетических микрососудистых осложнений. Воспалительные цитокины, включая интерлейкин-6 (ИЛ-6), играют важную роль в патогенезе СД2 и его осложнений [3].

В последнее время все большее внимание привлекает однонуклеотидный полиморфизм (SNP) гена IL-6. Значительная вариация последовательности гена IL-6 174G/C широко распространена при различных уровнях IL-6 в сыворотке у генетически восприимчивых людей [4]. Было обнаружено, что полиморфизм G/C в положении-174 в промоторной области IL-6 (rs1800795) коррелирует с ретинопатией, нефропатией [5], повышенным отношением альбумина к креатинину, а также с плохим гликемическим контролем и гиперлипидемией при диабете 1 типа, сахарный диабет (СД1) [6]. Однако результаты текущих исследований участия этого SNP rs1800795 в диабетических осложнениях при СД2 противоречивы. Остается неясным, могут ли полиморфизмы гена IL-6 rs1800795 служить генетическими предикторами прогрессирования осложнений при СД2 и способствовать выявлению пациентов с высоким риском диабетических осложнений, тем самым помогая им в индивидуальном лечении. Для реализации основных принципов современной персонализированной медицины актуальным является исследование генетического аспекта мультифакториальных заболеваний, к которым относится сахарный диабет и его осложнения, с целью выявления многочисленных генетических полиморфизмов, которые следует учитывать в сочетании с модифицируемыми и немодифицируемыми негенетическими факторами [9].

Материал и методы исследования. Для решения поставленных задач нами было проведено генетическое исследование у 96 больных, находившихся в на лечении в отделениях клиники Андижанского государственного медицинского института, которые составили основную группу. Критериями включения являлись: наличие сахарного диабета 2 тип, возраст больных от 40 до 75 лет. Контрольную группу составили 83 здоровых лиц.

Определение аллельных и генотипических вариантов полиморфизма в гене IL6 (C174G) проводили в отделе молекулярной медицины и клеточных технологии на базе Республиканского научно-практического медицинского центра гематологии МЗ РУз. Основным методом молекулярно – генетического исследования был ПЦР-анализ. Выделение геномной ДНК проводили из лимфоцитов периферической крови пациентов с помощью набора для выделения AmpliPrime RIBO-prep (ООО «Интерлабсервис», Россия). Исследование проводилось методом количественного ПЦР-

анализа в реальном времени (Real-Time PCR). Амплификацию проводили с использованием термоциклера для ПЦР-анализа в реальном времени - Rotor Gene Q, (Quagen, Германия). Для определения генетических маркеров использовали тест-системы компании «Синтол» (Россия) согласно инструкции производителя. Для сравнения распределения генотипов в экспериментальной и контрольной группах а также соответствия этого распределения равновесию Харди-Вайнберга применяли χ^2 - критерий Пирсона. Для установления риска развития СДС рассчитывали отношение шансов (OR) и 95% доверительный интервал (CI). Для статистической обработки полученных результатов использовали пакет приложений «OpenEpi, 2009», ВЕРСИЯ 9.2. При проведении статистического анализа руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений, процентных долей.

Полученные результаты и их обсуждение. В ходе исследования в основной группе фактическое распределение генотипов полиморфизма С174G гена IL6 соответствовало ожидаемым при равновесии Харди-Вайнберга (PXB) ($p < 0.05$). А также, в группе контроля наблюдаемое распределение генотипов полиморфизма С174G гена IL6 тоже не отклонялся от равновесии Харди-Вайнберга (PXB) ($p < 0.05$). Частота G и C аллелей соответственно составили: 0.76/0.24 - в группе пациентов и 0.89/0.11 в группе контроля (табл.1,2). В группе пациентов наблюдаемое распределение гомозиготного генотипа G / G незначимо повышено по сравнению с теоретическим (0.59 против 0.57, соответственно; $\chi^2=0.09$; $p=0.207$). Напротив, наблюдаемая частота неблагоприятного гетерозиготного генотипа G /C статистически незначимо ниже по сравнению с ожидаемой (0.32 против 0.37 соответственно; $\chi^2=0.88$; $p=0.207$). Мутантный генотип C/C в исследованных группах был обнаружен в незначимых количествах в сравнении с ожидаемым – 0.08 против 0.06 при $\chi^2=1.54$; $p=0.207$.

В контрольной группе показатели наблюдаемой и ожидаемой частоты генотипов были практически одинаковыми. В частности, показатели гомозиготного генотипа G/G соответствовали 0.81 против 0.79 ($\chi^2=0.02$ и $p=0.239$), гетерозиготного генотипа G/C несколько ниже – 0.17 против 0.19 ($\chi^2=0.26$; $p=0.239$). Гомозиготный генотип C/C также был практически одинаковым – 0.02 против 0,01 ($\chi^2=1,07$; $p=0.239$) (табл.2).

При анализе полученных данных, нами установлено, что у больных сахарным диабетом, отягощенным развитием СДС, выявлено наличие отличий в частоте встречаемости полиморфизмов С174G гена IL6. Генотип C/G указанного полиморфизма гена IL6 встречался чаще у больных основной группы с синдромом диабетической стопы в 1,4 раза. Частота встречаемости генотипа G/G полиморфизма С174G гена IL6 у больных с синдромом диабетической стопы встречался чаще в 1,2 раза, чем в контрольной группе.

Таблица 1. Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта С174G гена IL6 по PXB в основной группе.

| Аллели | Частота аллелей | | | | |
|----------|-------------------|-----------|----------|-------|----|
| G | 0,76 | | | | |
| C | 0,24 | | | | |
| Генотипы | Частота генотипов | | χ^2 | p | df |
| | наблюдаемая | ожидаемая | | | |
| G /G | 0,59 | 0,57 | 0,09 | | |
| G /C | 0,32 | 0,37 | 0,57 | | |
| C /C | 0,08 | 0,06 | 0,88 | | |
| Всего | 1 | 1 | 1,54 | 0,207 | 1 |

Таблица 2. Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта С174G гена IL6 по PXB в группе контроля.

| Контрольная группа | | | | | |
|--------------------|-------------------|-----------|----------|-------|----|
| Аллели | Частота аллелей | | | | |
| G | 0,89 | | | | |
| C | 0,11 | | | | |
| Генотипы | Частота генотипов | | χ^2 | p | df |
| | наблюдаемая | ожидаемая | | | |
| G /G | 0,81 | 0,79 | 0,02 | | |
| G /C | 0,17 | 0,19 | 0,26 | | |
| C /C | 0,02 | 0,01 | 1,07 | | |
| Всего | 1 | 1 | 1,35 | 0,239 | 1 |

Таблица 3. Частота встречаемости полиморфизмов исследованных генов

| Генотипы | Основная группа n = 96 | Контрольная группа n = 83 | χ^2 | p | OR (95 % CI) |
|------------------------------|------------------------|---------------------------|----------|-----|-------------------|
| Полиморфизм С174G в гене IL6 | | | | | |
| Генотип C/C | 70,83 % (68) | 79,52 % (66) | 1,8 | 0,6 | 0,6 (0,31 - 1,25) |
| Генотип C/G | 25% (24) | 16,87% (14) | 1,8 | 1,6 | 1,6 (0,79 - 3,42) |
| Генотип G/G | 4,17% (4) | 3,61% (3) | 0,0 | 1,2 | 1,2 (0,25 - 5,33) |

Примечание: n – количество обследованных, χ^2 - хи-квадрат, OR- odds ratio (отношение шансов), 95 % CI– 95 % доверительный интервал OR, p – уровень значимости между группами.

Так же установлено, что при наличии генотипа С/С полиморфизма С174G гена IL6 риск развития синдрома диабетической стопы снижается на 50 % (OR = 0,6 (CI 0,31 - 1,25), что говорит о его защитной функции по отношению к риску возникновения синдрома диабетической стопы у больных с сахарным диабетом. SNP rs1800795 (-174G/C) гена IL-6 при СД2 впервые был описан в 2003 г., показывая, что фенотип GG является генетической детерминацией воспаления при развитии СД2 [8,9,11]. Значительная изменчивость последовательности гена IL-6 174G/C была широко распространена с различной частотой при СД2 и у здоровых лиц; этот аллель риска также был ответственен за повышенный уровень IL-6 в сыворотке крови у генетически восприимчивых людей [13]. Многочисленные исследования представили четкие доказательства того, что однонуклеотидный полиморфизм IL-6 C-174G является фактором риска при диабете 2 типа и способствует более высокому уровню интерлейкина-6 в сыворотке среди участников [4,6,12]. Воздействие полиморфизма С174G в гене IL6 может усугубиться в сочетании с условиями наличия дополнительных факторов риска развития СДС, причиной которых могут быть нерациональное питание, применение лекарственных препаратов, вредные привычки или сопутствующие заболевания. В целях эффективной профилактики СДС целесообразно рекомендовать проведение генотипирования полиморфизма С174G в гене IL6 не отдельно, а в сочетании с другими факторами. Такой патогенетический подход позволит более достоверно выявить генетические предпосылки риска развития СДС.

Заключение. Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что наличие генотипа С/С полиморфизма С174G гена IL6 имеет четкую корреляционную связь с предрасположенностью к развитию синдрома диабетической стопы. Носительство генотипа С/С полиморфизма С174G гена IL6 ассоциировано с протективным эффектом относительно развития синдрома диабетической стопы. Таким образом, комплексный подход к изучению полиморфизма генов, оказывающих влияние на формирование СДС послужит основой для профилактики и лечения одного из катастрофических осложнений сахарного диабета.

Литература:

1. Akbari M. and Hassan-Zadeh V. (2018) IL-6 signalling pathways and the development of type 2 diabetes. *Inflammopharmacology* 26, 685–698 10.1007/s10787-018-0458-0
2. Chang W.T., Huang M.C., Chung H.F. et al.. (2016) Interleukin-6 gene polymorphisms correlate with the progression of nephropathy in Chinese patients with type 2 diabetes: A prospective cohort study. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 120, 15–23
3. Chen B., Wu M., Zang C. et al.. (2019) Association Between IL-6 Polymorphisms and Diabetic Nephropathy Risk: A Meta-analysis. *Am. J. Med. Sci.* 358, 363–373 10.1016/j.amjms.2019.07.011
4. Dhamodharan U., Viswanathan V., Krishnamoorthy E. et al.. (2015) Genetic association of IL-6, TNF-alpha and SDF-1 polymorphisms with serum cytokine levels in diabetic foot ulcer. *Gene* 565, 62–67 10.1016/j.gene.2015.03.063
5. Ellingsgaard H., Hauselmann I., Schuler B. et al.. (2011) Interleukin-6 enhances insulin secretion by increasing glucagon-like peptide-1 secretion from L cells and alpha cells. *Nat. Med.* 17, 1481–1489 10.1038/nm.2513
6. Guariguata L., Whiting D.R., Hambleton I. et al.. (2014) Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 103, 137–149 10.1016/j.diabres.2013.11.002
7. Henning R.J. (2018) Type-2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Fut. Cardiol.* 14, 491–509 10.2217/fca-2018-0045
8. Hui P., Jia S., Ma W. et al.. (2015) The changes and significance of IL-6 levels in patients with OSAHS associated Type 2 diabetes Mellites. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 29, 1726–1728
9. Ishihara K. and Hirano T. (2002) IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 13, 357–368 10.1016
10. Mathers C.D. and Loncar D. (2006) Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 3
11. Mysliwska J., Zorena K., Mysliwiec M. et al.. (2009) The -174GG interleukin-6 genotype is protective from retinopathy and nephropathy in juvenile onset type 1 diabetes mellitus. *Pediatr. Res.* 66, 341–345 10.1203/PDR.0b013e3181b1bd05
12. Nadeem A., Mumtaz S., Naveed A.K. et al.. (2017) Association of IL-6 C-174G (rs 1800795) single nucleotide polymorphism with type 2 diabetes mellitus in Pakistani population. *J. Pak. Med. Assoc.* 67, 428–433
13. Paine S.K., Sen A., Choudhuri S. et al.. (2012) Association of tumor necrosis factor alpha, interleukin 6, and interleukin 10 promoter polymorphism with proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetic subjects. *Retina* 32, 1197–1203
14. Ururahy M.A., de Souza K.S., Oliveira Y.M. et al.. (2015) Association of polymorphisms in IL6 gene promoter region with type 1 diabetes and increased albumin-to-creatinine ratio. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 31, 500–506 10.1002/dmrr.2621

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА С174G ГЕНА IL6 В ФОРМИРОВАНИЕ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Дадабаев О.Т., Мусашайхов Х.Т., Василевский Э.А.

Резюме. Изучены критерии стратификации риска формирования синдрома диабетической стопы у больных сахарным диабетом на основании носительства гена интерлейкина 6. В клиническую группу вошли 96 больных в возрасте от 40 до 75 лет с сахарным диабетом, осложненным синдромом диабетической стопы. Контрольную группу составили 83 здоровых лиц. Полученные авторами результаты демонстрируют, что наличие генотипа С/С полиморфизма С174G гена IL6 имеет четкую корреляционную связь с предрасположенностью к развитию синдрома диабетической стопы. Выявление полиморфизма С174G в гене IL6 у больных сахарным диабетом свидетельствует о риске развития синдрома диабетической стопы. В целях эффективной профилактики развития синдрома диабетической стопы целесообразно рекомендовать проведение генотипирования полиморфизма С174G в гене IL6.

Ключевые слова: диабетическая стопа, полиморфизм генов, сахарный диабет.