

АНАЛИЗ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА C-174G ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА IL6 ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ



Садиков Садикжон Бабаевич¹, Абдуллаев Равшанбек Бабаджанович¹,
Маткаримова Дилфуза Сабуровна³, Бобоев Кодиржон Тухтабаевич²

1 - Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии, Республика Узбекистан, г. Ургенч

2 - Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр Гематологии, Республика Узбекистан, г. Ташкент;

3 - Ташкентская медицинская академия, Республика Узбекистан, г. Ташкент

ЖИГАР СУРУНКАЛИ КАСАЛЛИКЛАРИДА ИНТЕРЛЕЙКИН IL6 ГЕНИНИНГ C-174G ПОЛИМОРФИЗМИНИНГ РОЛИНИ ТАҲЛИЛИ

Садиков Садикжон Бабаевич¹, Абдуллаев Равшанбек Бабаджанович¹,
Маткаримова Дилфуза Сабуровна³, Бобоев Кодиржон Тухтабаевич²

1 - Тошкент тиббиёт академияси Урганч филиали, Ўзбекистон Республикаси, Урганч ш.

1 – Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт маркази, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.;

2 – Тошкент тиббиёт академияси, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

ANALYSIS OF THE ROLE OF C-174G POLYMORPHISM OF THE INTERLEUKIN IL6 GENE IN CHRONIC LIVER DISEASES

Sadikov Sadikjon Babaevich¹, Abdullaev Ravshanbek Babajanovich¹, Matkarimova Dilfuza Saburovna³, Boboev Kodirjon Tukhtabaevich²

1 - Urgench branch of the Tashkent Medical Academy, Republic of Uzbekistan, Urgench

1 - Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology, Republic of Uzbekistan, Tashkent;

2 - Tashkent Medical Academy, Republic of Uzbekistan, Tashkent

e-mail: sadikjonsadikov@yandex.com

Резюме. Кириш. Сўнги ўн йилликда жигар касаллигининг олдини олиш бўйича сезиларли ютуқлар қилинган бўлса-да, у ўрта ва юқори даромадли мамлакатларда ўлимнинг асосий сабаби бўлиб қолмоқда. Тадқиқот мақсади - жигар сурункали касалликларида интерлейкин IL6 генининг C-174G полиморфизмининг ролини таҳлил қилиш. Материаллар ва назорат усуллари. Тадқиқотда 162 катталар иштирок этди (ўртача ёши $53,3 \pm 1,4$ йил), уларнинг 82 нафари жигар сурункали касалликлари билан касалланган (1-асосий гуруҳ) ва 80 нафари соғлом шахслар (4-қиёслаш назорат гуруҳи). IL6 генини (C-174G) аниқлаш учун ДНК умумий қабул қилинган усул бўйича қон лейкоцитларидан ажратилди, сўнгра SNP - ПЗР тест тизимларидан фойдаланган ҳолда дастурлаштирилган «Rotor Gene Q, (Qiagen, Германия) термоциклида амалга оширилди. Молекуляр генетик таҳлил натижаларининг статистик ҳисоби «OpenEpi 2009, Version 9.2» дастури ёрдамида амалга оширилди. Натижалар. IL6 ген полиморфизмининг (C-174G) молекуляр генетик таҳлили натижалари жигар сурункали касалликлари хавфини 1,6 барабар ошириш тенденциясини кўрсатди ($\chi^2 = 3,3$; $P=0,1$), шунингдек, статистик жиҳатдан C мутант аллели – жигар циррози ривожланиш хавфини 1,8 марта ($\chi^2= 4,0$; $P=0,05$) га ошириши аниқланди. Бундан ташқари, соғлом шахсларга нисбатан жигар циррози хавфини 2,3 мартага ($\chi^2=2,4$; $P=0,2$) ошириш тенденцияси C/C мутант генотиби ташувчанлигида аниқланган.

Калит сўзлар: жигар сурункали касалликлари, сурункали гепатит, жигар циррози, IL6 ген полиморфизми (C-174G), ривожланиш хавфи.

Abstract. Introduction. Although significant efforts have been made to prevent liver disease in recent decades, it remains a leading cause of death in both middle- and high-income countries. The aim of the study - analyze the role of the C-174G polymorphism of the interleukin IL6 gene in chronic liver diseases. Material and methods. The study involved 162 adults (median age 53.3 ± 1.4 years), among whom 82 were patients with CKD (1st main group) and 80 were healthy, without liver disease (4th comparison control group). To detect the IL6 gene (C-174G), DNA was isolated in accordance with the generally accepted method from blood leukocytes, then SNP-PCR was performed on a programmable thermal cyclers "Rotor Gene Q, (Qiagen, Germany), using test systems from the Litech company (Russia). Statistical calculations

of the results of molecular genetic analysis were performed using OpenEpi 2009, Version 9.2 software. Results. The results of molecular genetic analysis of IL6 gene polymorphism (C-174G) showed a pronounced tendency to increase the risk of CKD by 1.6 times ($\chi^2=3.3$; $P=0.1$), as well as a statistically significant relationship with an increase in the risk of developing cirrhosis by 1.8 times ($\chi^2=4.0$; $P=0.05$) when carrying the mutant allele C. In addition, there was a tendency to increase the risk of cirrhosis by 2.3 times ($\chi^2=2.4$; $P=0.2$) in individuals carrying the mutant genotype C/C.

Keywords: chronic liver diseases, chronic hepatitis, liver cirrhosis, IL6 gene polymorphism (C-174G), risk of development.

Актуальность. Несмотря на то, что за последние десятилетия предпринимаются значительные усилия по профилактике заболеваний печени, они остаются одними из основных причин смертности в странах как со средним, так и с высоким уровнем дохода [7,12].

К основным причинным факторам, способствующими повреждению печени исходом которого зачастую является цирроз (ЦП) и рак печени относятся хроническая вирусная инфекция (HBV и HCV), чрезмерное употребление алкоголя и метаболический синдром, вторичный по отношению к ожирению и др. [3,10].

Между тем, хотя точные механизмы хронических заболеваний печени (ХЗП) до конца остаются неясными [3], известно, что они включают комбинированное влияние триггеров окружающей среды, генетической предрасположенности и сбоя механизмов иммунной толерантности, которые, в свою очередь, взаимодействуя, индуцируют иммунную атаку, опосредованную антителами и Т - клетками, приводя к прогрессированию поражения печени [1]. Вместе с этим, одну из ключевых ролей в патогенезе ХЗП играют интерлейкины (IL) [2,9]. При этом, точный вклад определенных цитокинов и их позиция в качестве биомаркеров для прогнозирования исходов заболевания остается до конца не уточненной [5].

Особый интерес представляет интерлейкин 6 (ИЛ-6) - плеiotропный цитокин, который выполняет в организме множество функций [4]. В печени ИЛ-6 является важным индуктором реакции острой фазы и защиты от инфекций [11]. Помимо этого, ИЛ-6 участвуя в регенерации и метаболической функции печени имеет решающее значение в поддержке гомеостаза гепатоцитов и является мощным митогеном гепатоцитов [6]. Вместе с тем, приводятся сведения, о том, что постоянная активация сигнального пути ИЛ-6 сказывается неблагоприятно на ткани печени и в конечном счёте может привести к утяжелению ХЗП вплоть до развития опухолей печени [8].

Цель исследования – провести анализ роли полиморфизма C-174G гена интерлейкина IL6 при хронических заболеваниях печени.

Материал и методы. В настоящее исследование было проведено среди 162 взрослых лиц (медиана

возраста 53,3±1,4 лет), среди которых 82 явились больными с ХЗП (1-я основная группа) и 80 – здоровые, без заболеваний печени (4-я сравниваемая контрольная группа). 1-я основная группа пациентов с ХЗП в зависимости от нозологии подразделена на две группы: 2-ю (n=38), в которую вошли пациенты с хроническим гепатитом (ХГ) и 3-ю (n=44), составившую пациенты с ЦП. Все пациенты, давшие информированное согласие на участие в исследовании, находились на наблюдении и стационарном лечении с хроническими заболеваниями печени в Хорезмском областном многопрофильном медицинском центре (г. Ургенч) в период с 2020 по 2023 гг.

Молекулярно-генетический анализ проводился в лаборатории молекулярной генетики, цитогенетики и FISH на базе республиканского специализированного научно-практического медицинского центра Гематологии (РСНПМЦГ, Республика Узбекистан, Ташкент). Для детекции гена IL6 (C-174G) ДНК выделяли в соответствии с общепринятой методикой из лейкоцитов крови, далее осуществляли постановку SNP-ПЦР на программируемом термоциклере «Rotor Gene Q, (Quagen, Германия), с использованием тест-систем компании «Литех» (Россия).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакет статистических программ «OpenEpi 2009, Version 9.2». Вместе с тем, распределение наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов изученного полиморфного гена сопоставлялось в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга (РХВ) ($P>0.05$), сравнительный анализ полиморфных локусов гена IL6 (C-174G) между группами проводился методом расчета критерия χ^2 , достоверности (P), шанса развития (OR) и доверительного интервала (95% CI). Выявленные различия считались достоверными при $P \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение. В данном исследовании проанализированы особенности распределения полиморфных локусов гена IL6 (C-174G) в группах пациентов с ХЗП и здоровых лиц. По результатам распределения полиморфных локусов гена IL6 (C-174G) была определена структура гена, характеризовавшаяся заметным увеличением частот мутантных вариантов аллеля (C) и генотипа (C/C) у пациентов с ХЗП по сравнению с контролем.

Таблица 1. Распределение полиморфных локусов гена IL6 (C-174G) в обследованных выборках

№	Обследованные группы	Аллели				Генотипы					
		G		C		G/G		G/C		C/C	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	Основная группа ХЗП, n=82	109	66.5	55	33.5	40	48.8	29	35.4	13	15.8
2	Пациенты с ХГ, n=38	53	69.7	23	30.3	20	52.6	13	34.2	5	13.2
3	Пациенты с ЦП, n=44	56	63.6	32	36.4	20	45.4	16	36.4	8	18.2
4	Контрольная группа, n=80	121	75.6	39	24.4	48	60.0	25	31.2	7	8.8

Таблица 2. Анализ связи между полиморфными локусами гена IL6 (C-174G) и ХЗП

Группы	Алели и ге- нотипы	Различие по сравнению с контрольной группой					
		χ^2	P	RR	95% CI:	OR	95% CI:
1-я основная группа ХЗП (n=82)	G	3.3	0.1	0.9	0.57 - 1.35	0.6	0.39 - 1.04
	C	3.3	0.1	1.1	0.67 - 1.93	1.6	0.97 - 2.54
	G/G	2.1	0.2	0.8	0.45 - 1.47	0.6	0.34 - 1.18
	G/C	0.3	0.6	1.1	0.61 - 2.09	1.2	0.63 - 2.32
	C/C	1.9	0.2	1.8	0.89 - 3.69	2.0	0.75 - 5.15
2-я группа, ХГ (n=38)	G	0.9	0.4	0.9	0.43 - 2.0	0.7	0.4 - 1.36
	C	0.9	0.4	1.1	0.71 - 1.65	1.3	0.73 - 2.47
	G/G	0.6	0.5	0.9	0.32 - 2.44	0.7	0.34 - 1.61
	G/C	0.1	0.8	1.1	0.37 - 3.2	1.1	0.5 - 2.6
	C/C	0.5	0.5	1.5	0.36 - 6.25	1.6	0.47 - 5.31
3-я группа, ЦП (n=44)	G*	4.0	0.05	0.8	0.44 - 1.63	0.6	0.32 - 0.99
	C*	4.0	0.05	1.2	0.75 - 1.88	1.8	1.01 - 3.11
	G/G	2.4	0.2	0.8	0.3 - 1.93	0.6	0.27 - 1.16
	G/C	0.3	0.6	1.2	0.45 - 3.02	1.3	0.58 - 2.73
	C/C	2.4	0.2	2.1	0.72 - 6.03	2.3	0.8 - 6.75

Между тем, анализируя в зависимости от нозологии заболевания было установлено, что частоты неблагоприятных полиморфных локусов имели самые высокие частоты среди пациентов с ЦП (табл. 1).

Степень участия полиморфных локусов гена IL6 (C-174G) в формировании ХЗП в целом, и в отдельности ХГ и ЦП, а также в утяжелении течения ХЗП между установленными различиями в носительстве аллелей и генотипов были определены путем вычисления критериев соответствия (χ^2), достоверности (P), риска развития (OR) и доверительного интервала (95%CI).

Сравнивая с контрольной группой в распределении полиморфных локусов гена IL6 (C-174G) в основной группе пациентов с ХЗП прослежены, тенденция в увеличении мутантного аллеля C в 1.6 раза (33.5% против 24.4%; $\chi^2=3.3$; P=0.1; OR=1.6; 95%CI: 0.97-2.54) и в снижении частоты основного благоприятного аллеля G (66.5% против 75.6%; $\chi^2=3.3$; P=0.1; OR=0.6; 95%CI: 0.39 - 1.04).

Вместе с тем, между обеими изученными группами в частотах генотипических частот G/G (48.8% против 60.0%; $\chi^2=2.1$; P=0.2; OR=0.6; 95%CI: 0.34 - 1.18), G/C (35.4% против 31.2%; $\chi^2=0.3$; P=0.6; OR=1.2; 95%CI: 0.63 - 2.32) и C/C (15.8% против 8.8%; $\chi^2=1.9$; P=0.2; OR=2.0; 95%CI: 0.75 - 5.15) обнаруженные различия не достигали значимого уровня (Таблица 2).

Таким образом, по результатам сравнительных анализов в распределении полиморфных локусов гена IL6 (C-174G) обнаружена тенденция к увеличению риска ХЗП при носительстве аллеля C в 1.6 раз ($\chi^2=3.3$; P=0.1).

В распределении полиморфных локусов гена IL6 (C-174G) в группе пациентов с ХГ по отношению к аналогичным в контрольной группе несмотря на повышение частот неблагоприятных аллеля C в 1.3 раз (30.0% против 24.4%; $\chi^2=0.9$; P=0.4; OR=1.3; 95%CI: 0.73-2.47), гетерозиготного варианта G/C в 1.1 раза (34.2% против 31.2%; $\chi^2=0.1$; P=0.8; OR=1.1; 95%CI: 0.5 - 2.6) и мутантного гомозиготного варианта C/C в 1.6 раза (13.2% против 8.8%; $\chi^2=0.5$; P=0.5; OR=1.6;

95%CI: 0.47 - 5.31) значимых различий между группами не обнаружено. Аналогичное отсутствие достоверно значимых отличий не установлено и в частотах основных благоприятных аллеля G (69.7% против 75.6%; $\chi^2=0.9$; P=0.4; OR=0.7; 95%CI: 0.4 - 1.36) и генотипа G/G (60.0% против 52.6%; $\chi^2=0.6$; P=0.5; OR=0.7; 95%CI: 0.34 - 1.61) (табл. 2).

Таким образом, различия недостоверного характера, установленные в распределении полиморфных локусов гена IL6 (C-174G), свидетельствуют об отсутствии самостоятельного участия изученного гена в риске ХГ ($\chi^2<3.84$; P>0.05).

Различия между полиморфными локусами гена IL6 (C-174G) между группами пациентов с ЦП и контрольной группой характеризовались наличием статистически достоверных значений в частотах мутантного аллеля C (35.4% против 24.4%; $\chi^2=4.0$; P=0.05; OR=1.8; 95%CI: 1.01 - 3.11) и основного аллеля G (63.6% против 75.6%; $\chi^2=4.0$; P=0.05; OR=0.6; 95%CI: 0.32 - 0.99). В то же время, при наличии незначимых различий в частоте гетерозиготы G/C (36.4% против 31.2%; $\chi^2=0.1$; P=0.8; OR=1.1; 95%CI: 0.5 - 2.6) была обнаружена тенденция в повышении частоты мутантного генотипа C/C (18.2% против 8.8%; $\chi^2=2.4$; P=0.2; OR=2.3; 95%CI: 0.8 - 6.75) и в снижении носительства основного благоприятного генотипа G/G (45.5% против 60.0%; $\chi^2=2.4$; P=0.2; OR=0.6; 95%CI: 0.27 - 1.16) (Таблица 2).

Наличие статистически значимого увеличение частоты мутантного аллеля C и тенденция к повышению частота мутантного гомозиготного генотипа C/C по генетическому полиморфизму IL6 (C-174G) подтверждают их роль в повышении риска развития ЦП в 1.8 ($\chi^2=4.0$; P=0.05) и 2.3 раза ($\chi^2=2.4$; P=0.2) по сравнению со здоровыми.

Между тем, сравнивая уровень значимости различий в полиморфных локусах гена IL6 (C-174G) между группами пациентов с ХГ и ЦП статистически достоверный их характер в частотах аллельных (для аллеля G - 69.7% против 75.6%; $\chi^2=0.7$; P=0.5; OR=1.3; 95%CI: 0.68 - 2.53 и аллеля C - 30.3% против 36.4%;

$\chi^2=0.7$; $P=0.5$; $OR=0.8$; 95%CI: 0.4 - 1.46) и генотипических вариантов не установлено (для генотипа G/G - 52.6% против 45.4%; $\chi^2=0.4$; $P=0.6$; $OR=1.3$; 95%CI: 0.56 - 3.18; генотипа G/C - 34.2% против 36.4%; $\chi^2<3.84$; $P=0.9$; $OR=0.9$; 95%CI: 0.37 - 2.26 и генотипа C/C - 13.2% против 18.2%; $\chi^2=0.4$; $P=0.6$; $OR=0.7$; 95%CI: 0.2 - 2.28).

Выводы. С учетом наличия противоречивых мнений в отношении роли полиморфизма гена IL6 (C-174G) в патогенезе ХЗП нами проведен молекулярно-генетический анализ гена IL6 (C-174G) с изучением особенностей распределения его аллельных и генотипических вариантов среди пациентов с хроническими заболеваниями печени (ХЗП), в зависимости от нозологии с хроническим гепатитом (ХГ) и циррозом печени (ЦП). Результаты позволили установить выраженную тенденцию к повышению риска ХЗП в 1.6 раз ($\chi^2=3.3$; $P=0.1$), а также статистически достоверную связь с повышением риска развития ЦП в 1.8 раз ($\chi^2=4.0$; $P=0.05$) при носительстве мутантного аллеля С. Помимо этого прослежена и тенденция к увеличению риска ЦП в 2.3 раза ($\chi^2=2.4$; $P=0.2$) у лиц с носительством мутантного генотипа С/С.

Литература:

1. Akberova D., Kiassov A. P., Abdulganieva D. Serum cytokine levels and their relation to clinical features in patients with autoimmune liver diseases //Journal of Immunology Research. – 2017. – Т. 2017. – №. 1. – С. 9829436.
2. Alcaraz-Quiles J. et al. Polymorphisms in the IL-1 gene cluster influence systemic inflammation in patients at risk for acute-on-chronic liver failure //Hepatology. – 2017. – Т. 65. – №. 1. – С. 202-216.
3. Chaouali M. et al. High levels of proinflammatory cytokines IL-6, IL-8, TNF-A, IL-23, and IFN- γ in Tunisian patients with type 1 autoimmune hepatitis //European Cytokine Network. – 2020. – Т. 31. – С. 94-103.
4. Dondeti M. F., El-Maadawy E. A., Talaat R. M. Hepatitis-related hepatocellular carcinoma: Insights into cytokine gene polymorphisms //World journal of gastroenterology. – 2016. – Т. 22. – №. 30. – С. 6800.
5. Duan Y. et al. Association of inflammatory cytokines with non-alcoholic fatty liver disease //Frontiers in immunology. – 2022. – Т. 13. – С. 880298/
6. Madkour B. et al. Interleukin-6-572 promoter gene polymorphism and its association with chronic hepatitis C-induced hepatocellular carcinoma: an Egyptian study //Comparative Clinical Pathology. – 2018. – Т. 27. – С. 161-165.
7. Moon A. M., Singal A. G., Tapper E. B. Contemporary epidemiology of chronic liver disease and cirrhosis //Clinical Gastroenterology and Hepatology. – 2020. – Т. 18. – №. 12. – С. 2650-2666.
8. Park J. et al. IL-6/STAT3 axis dictates the PNPLA3-mediated susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease //Journal of hepatology. – 2023. – Т. 78. – №. 1. – С. 45-56.

9. Schmidt-Arras D., Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: from physiopathology to therapy //Journal of hepatology. – 2016. – Т. 64. – №. 6. – С. 1403-1415.

10. Sghaier I. et al. Genetic variants in IL-6 and IL-10 genes and susceptibility to hepatocellular carcinoma in HCV infected patients //Cytokine. – 2017. – Т. 89. – С. 62-67.

11. Tutunchi H. et al. Expression of NF- κ B, IL-6, and IL-10 genes, body composition, and hepatic fibrosis in obese patients with NAFLD—Combined effects of oleoylethanolamide supplementation and calorie restriction: A triple-blind randomized controlled clinical trial //Journal of cellular physiology. – 2021. – Т. 236. – №. 1. – С. 417-426.

12. Younossi Z. M. et al. Epidemiology of chronic liver diseases in the USA in the past three decades //Gut. – 2020. – Т. 69. – №. 3. – С. 564-568.

АНАЛИЗ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА C-174G ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА IL6 ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ

Садиков С.Б., Абдуллаев Р.Б., Маткаримова Д.С., Бобоев К.Т.

Резюме. Введение. Несмотря на то, что за последние десятилетия предпринимаются значительные усилия по профилактике заболеваний печени, они остаются одними из основных причин смертности в странах как со средним, так и с высоким уровнем дохода. Цель исследования – провести анализ роли полиморфизма C-174G гена интерлейкина IL6 при хронических заболеваниях печени. Материал и методы. В исследовании участвовало 162 взрослых лиц (медиана возраста $53,3\pm 1,4$ лет), среди которых 82 явились больными с ХЗП (1-я основная группа) и 80 – здоровые, без заболеваний печени (4-я сравниваемая контрольная группа). Для детекции гена IL6 (C-174G) ДНК выделяли в соответствии с общепринятой методикой из лейкоцитов крови, далее осуществляли постановку SNP-ПЦР на программируемом термоциклере «Rotor Gene Q, (Qiagen, Германия), с использованием тест-систем компании «Литех» (Россия). Статистические расчеты результатов молекулярно-генетического анализа произведены с использованием программного обеспечения «OpenEpi 2009, Version 9.2». Результаты. Результаты молекулярно-генетического анализа полиморфизма гена IL6 (C-174G) показали наличие выраженной тенденции к повышению риска ХЗП в 1.6 раз ($\chi^2=3.3$; $P=0.1$), а также статистически достоверную связь с повышением риска развития ЦП в 1.8 раз ($\chi^2=4.0$; $P=0.05$) при носительстве мутантного аллеля С. Помимо этого прослежена и тенденция к увеличению риска ЦП в 2.3 раза ($\chi^2=2.4$; $P=0.2$) у лиц с носительством мутантного генотипа С/С.

Ключевые слова: хронические заболевания печени, хронический гепатит, цирроз печени, полиморфизм гена IL6 (C-174G), риск развития.