

ОСОБЛИВОСТІ ПОШИРЕНOSTІ ПОЛІМОРФІЗМУ (С-589Т) ГЕНА ІЛ-4 У ХВОРИХ З УРАЖЕННЯМ ПЕЧІНКИ ПРИ ГОСТРОМУ БРУЦЕЛЬОЗІ

Е. М. Гусейнов

Азербайджанський медичний університет, м. Баку, Азербайджан

Зв'язок з автором: Гусейнов Ельчин Мамед Огли, к.мед.н., доцент кафедри інфекційних хвороб Азербайджанського медичного університету; тел.: +994502122813; elchinhuseynov@mail.ru, ORCID <https://orcid.org/0000-0003-4427-6722>.

У статті представлені результати визначення особливостей поширеності поліморфізму (С-589Т) гена ІЛ-4 у хворих з ураженням та без ураження печінки при гострому бруцельозі.

Ключові слова: гострий бруцельоз, гепатит, поліморфізм, ІЛ-4.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА (С-589Т) ГЕНА ІЛ-4 У БОЛЬНЫХ С ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОМ БРУЦЕЛЛЕЗЕ

Э. М. Гусейнов

Азербайджанский медицинский университет, г. Баку, Азербайджан

В статье представлены результаты определения особенностей распространенности полиморфизма (С-589Т) гена ІЛ-4 у больных с поражением и без поражения печени при остром бруцеллезе.

Ключевые слова: острый бруцеллез, гепатит, полиморфизм, ІЛ-4.

FEATURES OF THE PREVALENCE OF IL-4 GENE POLYMORPHISM (С-589Т) IN PATIENTS WITH LIVER DAMAGE IN ACUTE BRUCELLOSIS

E. M. Huseynov

Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

The article presents the examination results of patients with acute brucellosis, namely determination of the characteristics of IL-4 gene polymorphism (С-589Т) prevalence in patients with and without liver damage in acute brucellosis.

Key words: acute brucellosis, hepatitis, polymorphism, IL-4.

Актуальність. Бруцельоз є поширеним бактеріальним зоонозом. Щорічно в світі реєструється більше ніж 500 тис. нових випадків бруцельозу, що обумовлює глобальність даної проблеми. Так в деяких країнах захворюваність на бруцельоз становить 10 випадків на 100 тис. населення [1]. Захворювання є ендемічним для більшості країн Середземноморського басейну, Близького Сходу, субконтинентальної Індії, частини Мексики, Центральної і Південної Америки [2]. З шістдесяти двох країн, визначених як такі, що мають найвищий рівень захворюваності по бруцельозу, Азербайджан наразі посідає тринадцяте місце з оціночною щорічною захворюваністю (станом на 2000 рік) - понад 50 випадків на мільйон [3].

Бруцельоз є системним захворюванням з широким спектром клінічної картини, що може викликати патологічні зрушення в будь-якому органі людського організму [4]. Печінка, як найбільший орган ретикулоендотеліальної системи вражається практично у всіх хворих на бруцельоз. Залучення печінки в патологічний процес може супроводжуватися підвищенням рівня трансаміназ, гепатоспленомегалією, рідше розвитком гострого гепатиту. Ще рідше можуть виникати абсцеси. Так, за літературними даними ураження печінки при бруцельозі зустрічається у третини хворих, а саме, коливається від 3% до 40% в різних популяціях [5].

В патогенезі гострого бруцельозу важливу роль відіграє імунологічний дисбаланс. Цитокіни відіграють одну

з ключових ролей в модуляції імунної відповіді [6,7], одним з яких є IL-4. Він, як правило, підвищується у пацієнтів з гострим бруцельозом, так як він є протизапальним цитокіном, який активує гуморальний імунітет, а також приймає участь у контролі проліферації та диференціації В-клітин та Т-хелперів. Доведена роль поліморфізму IL-4 для деяких захворювань, в тому числі для хвороби Бехчета, атопічної бронхіальної астми, ревматоїдного артриту [8-10]. Вищенаведені дані свідчать про універсальність гена IL-4 приймати участь у запальній реакції будь-якого генезу, в тому числі і при бруцельозі. На даний час існують малочисельні дані щодо взаємозв'язку поліморфізму IL-4 та ураженням печінки у хворих на гострий бруцельоз.

Тому **метою нашого дослідження** стало визначення особливостей поширеності поліморфізму (С-589Т) гена IL-4 у хворих з ураженням печінки при гострому бруцельозі.

Матеріали та методи дослідження: нами було обстежено 178 хворих з клінічною картиною бруцельозу, які зверталися за медичною допомогою в Ваку Clinic та Центральну клінічну лікарню м. Баку. Всі пацієнти дали письмовий дозвіл на включення їх в дослідження.

Діагноз встановлювався на основі клінічних даних, анамнезу, в тому числі й епідеміологічного, даних об'єктивного обстеження, результатів специфічної та неспецифічної лабораторної діагностики.

Для оцінки стану печінки всім пацієнтам були проведені біохімічні дослідження з обов'язковим визна-

ченням рівнів загального білірубіну, аланін-амінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), лужної фосфатази (ЛФ), гамаглутамілтрансептидази (ГГТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ). А також проведена ультразвукова діагностика органів черевної порожнини на апараті Voluson E8 General Electric з використанням об'ємного 4D конвексного мультиточкового датчика 4-8 МГц RAB 4-8D.

Всі хворі були обстежені на маркери вірусних гепатитів А, В, С, Е.

Специфічні методи дослідження проводилися методом ІФА на апаратах Awareness та Stat Fax 3200 з використанням тест-систем Nova Lisa Brusella IgG, IgM (Німеччина) з виявленням IgM та IgG до бруцел.

Окрім даних специфічної діагностики, при встановленні діагнозу – гострий бруцельоз, враховувалася тривалість клінічних симптомів до 3 місяців від моменту появи перших скарг.

Згідно критеріїв включення в дослідження з 178 обстежених хворих повністю відповідало всім критеріям лише 120 осіб, які і склали основну групу. Контрольну групу склали 30 практично здорових осіб, які проходили плановий щорічний огляд. Групи були репрезентативні за віком та статтю. Пацієнти обох груп є етнічними азербайджанцями, які постійно проживають в Республіці Азербайджан. Середній вік пацієнтів основної групи становив $35,9 \pm 2,8$ років. Серед обстежених переважали особи чоловічої статі – 75,0%.

Вміст інтерлейкіну-4 (IL-4) в сироватці крові визначали імунофермент-

ним методом з використанням стандартного набору “IL-4 ELISA” фірми “Diacclone”, Франція.

Також всім пацієнтам обох груп було проведено визначення поліморфізму IL-4(C-589T). Ампліфікацію ДНК досліджуваних локусів проводили в автоматичному режимі, використовуючи наступні праймери: 5' AACACCTAAACTTGGGAGGA3' та 5' CTGTCATGGAAAAGCTGATCT3'. Після початкової денатурації при 94°C протягом 5 хвилин кожна стадія відбувалася в 3 етапи: денатурація – 94°C (30 с), відпалювання праймерів (30-45 с), елонгація – 72°C (30-40 с). Фінальна елонгація тривала 7 хвилин при 72°C. Для ідентифікації алелей гена IL-4 застосовували рестрикційний аналіз ампліконів за допомогою ендонуклеази рестрикції *AvaII*. Продукти гідролізу ампліфікованих послідовностей аналізували за допомогою електрофорезу в 2% агарозному гелі.

Достовірність відмінностей в розподілі генотипів за поліморфними локусами між групами перевірялась на відповідність рівноваги Харді – Вайнберга.

Статистична обробка отриманих результатів проводилась за допомогою програми «STATISTICA 6,0» із застосуванням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Достовірними вважали значення $p < 0,05$.

Результати дослідження та обговорення: Нами було встановлено, що підвищення рівня трансаміназ мало місце майже у третини хворих на гострий бруцельоз. Так, підвищення

рівня АЛТ було визначено у 43 осіб (35,8%), тоді як АСТ вище верхньої межі норми було встановлено у 48 осіб, що становило 40,0%. Більш високий рівень АСТ у даних пацієнтів, на нашу думку, може бути обумовлений високою частотою ураження серцево-судинної системи, а саме у 77,5% осіб (рис. 1).

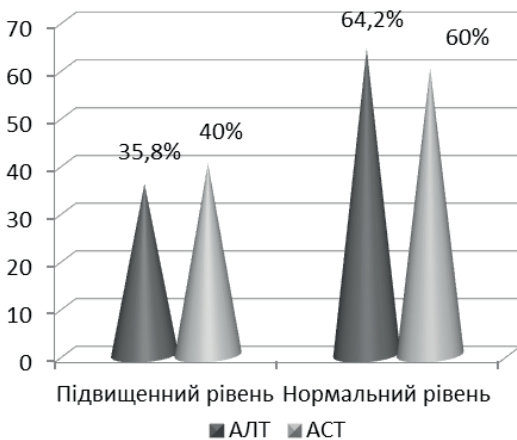


Рисунок 1. Розподіл хворих на бруцельоз в залежності від рівня АЛТ та АСТ.

При ультразвуковому дослідженні органів черевної порожнини встанов-

лено, що гепатомегалія була виявлена у 49 осіб (40,8%). Отже, з 120 хворих на гострий бруцельоз ураження гепатобіліарної системи мали 43 особи, що становило 35,8% згідно узагальнення лабораторних та інструментальних методів дослідження.

При аналізі поліморфізму ІІ-4(С-589Т) було встановлено, що генотип Т/Т гена ІІ-4 в 2,7 разів частіше виявлявся у хворих на гострий бруцельоз з ураженням печінки ніж без ураження ($p < 0,05$). Тоді як генотип С/С частіше виявлявся у здорових осіб, а саме в 6,6 разів частіше ніж у пацієнтів з гострим бруцельозом у яких є ураження печінки. Мутантний алель Т, достовірно частіше, в 3,5 разів зустрічався серед хворих на бруцельоз з ураженням печінки, ніж серед здорових осіб і в 1,4 рази частіше ніж серед хворих на бруцельоз без ураження печінки ($p < 0,05$) (табл. 1).

Наступним етапом нашого дослідження було встановлення ризиків захворювання на бруцельоз з печінки,

Таблиця 1.

Частота виявлення поліморфізму (С-589Т) гена ІІ-4 у хворих на гострий бруцельоз з та без ураження печінки та у здорових осіб

Генотипи та алелі ІІ-4(С-589Т)	Хворі на бруцельоз з ураженням печінки (n=43)		Хворі на бруцельоз без ураження печінки (n=77)		Здорові особи (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Генотип С/С	5	11,6	24	31,2*	23	76,7*
Генотип С/Т	31	72,1*	48	62,3	5	16,7*
Генотип Т/Т	7	16,3*	5	6,5	2	6,6*
Алель С	41	47,7	96	62,3	51	85,0
Алель Т	45	52,3*	58	37,7	9	15,0*

Примітка: * $p < 0,05$ - між хворими на бруцельоз з та без ураження печінки та здоровими особами.

з огляду на носійство поліморфних варіантів гена IL-4. При вивченні особливостей розподілу частоти алелей у хворих на бруцельоз, встановлено, що носії алелі Т поліморфного (С-589Т) гена IL-4 мають підвищений ризик захворіти на бруцельоз з ураженням печінки (OR= 6,22, 95% CI [2.72 – 14.20]), тоді як у випадку носійства алелі С, навпаки – знижений ризик розвитку захворювання на бруцельоз (OR = 0.16, 95% CI [0.07– 0.37]); модель достовірна при $\chi^2 = 21.13$, $p < 0,0001$ (табл. 2).

Нами встановлено, що серед носіїв генотипу Т/Т, визначався значно підвищений ризик захворювання на бруцельоз з ураженням печінки ($\chi^2 = 30.19$; $p < 0,0001$; OR = 2.72; 95% CI [0.52 – 14.14]), тоді як носійство гомозиготного генотипу С/С, навпаки,

мало протективний ефект щодо розвитку бруцельозу (OR = 0.04, 95% CI [0.01 – 0.14]).

При аналізі сумарної частоти генотипів С/Т + Т/Т у хворих на бруцельоз з ураженням печінки, та практично здорових осіб (табл. 3), нами була використана рецесивна модель наслідування бруцельозу. Встановлено, що комбінація генотипів С/Т + Т/Т серед хворих на бруцельоз з ураженням печінки визначалася в 7,6 рази частіше, ніж у практично здорових осіб (OR=24.97, 95% CI [7.09-87.95]; $\chi^2=31.61$, $p < 0,0001$).

Обговорення результатів дослідження: бруцельоз залишається значною проблемою для охорони здоров'я у країнах, що відносяться до ендемічних. Враховуючи поліморфізм

Таблиця 2.

Асоціація алелей та генотипів за поліморфізмом (С-589Т) гена IL-4 з сприйнятливістю до бруцельозу з ураженням печінки

Алелі та генотипи	Хворі на бруцельоз з ураженням печінки, n = 43	Здорові особи, n = 30	χ^2	P	OR	
					знач.	95% CI
Алель С	0.477	0.850	21.13	<0,0001	0.16	0.07 – 0.37
Алель Т	0.523	0.150			6.22	2.72 – 14.20
Генотип С/С	0.116	0.767	30.19	<0,0001	0.04	0.01 – 0.14
Генотип С/Т	0.721	0.167			12.92	4.01 – 41.57
Генотип Т/Т	0.163	0.066			2.72	0.52 – 14.14

Таблиця 3.

Розподіл частот генотипів у дорослих осіб за рецесивним поліморфним маркером (С-589Т) гена IL-4

Генотипи	Хворі на бруцельоз з ураженням печінки, n = 43	Здорові особи, n = 30	χ^2	P	OR	
					знач.	95% CI
Генотип С/С	0.116	0.767	31.61	<0,0001	0.04	0.01-0.14
Генотип С/Т+Т/Т	0.884	0.233			24.97	7.09-87.95

симптомів, мультисистемність даної хвороби, виникають труднощі в ранній діагностиці захворювання та верифікації ускладнень [11]. Поряд з найбільш частими враженнями внутрішніх органів, необхідно мати настороженість щодо можливого ураження гепатобіліарної системи у хворих на бруцельоз. Частота вражень печінки значно варіює за даними різних дослідників. Так, частота розвитку гепатомегалії коливалася в межах від 4,3% до 22,4% [12,13].

Роль поліморфізму IL-4 та його взаємозв'язок з бруцельозом є неоднозначним та маловивченим. На даний момент існують поодинокі дані. В одному дослідженні проаналізований поліморфізм гена IL-4 в позиції – 590 у хворих з бруцельозом. На його основі вчені зробили висновок, що особи, які мають генотип IL-4 C/C, більш стійкі до захворювання на бруцельоз. [14]. Інша група турецьких дослідників аналізували інший поліморфізм IL-4, а саме VNTR, зробивши висновок, що носії алеля P1 і генотипу P2P1 IL-4VNTR знаходяться в групі ризику щодо розвитку бруцельозу [15].

Rezazadeh M. та et al. встановили, що генотип C/T гена IL-4(C-589T) асоціюється з значно більшим ризиком розвитку бруцельозу з співвідношенням шансів 4,2 (95% CI [2,7-6,6], $p < 0,0001$) [16]. На сучасному етапі дані щодо генетичної схильності до ураження печінки при гострому бруцельозі є обмеженими, але на нашу думку, є важливим аспектом, враховуючи значний відсоток враження гепатобіліарної системи у пацієнтів з бруцельозом.

Висновки:

1. Ураження печінки були виявлені у 43 осіб, що становило 35,8%.
2. Генотип T/T гена IL-4 в 2,7 разів частіше виявлявся у хворих на гострий бруцельоз з ураженням печінки ніж з нормальним станом печінки.
3. Серед носіїв генотипу T/T, визначався значно підвищений ризик захворювання на бруцельоз з ураженням печінки ($\chi^2 = 30.19$; $p < 0,0001$; OR = 2.72; 95% CI [0.52 – 14.14]), тоді як носійство гомозиготного генотипу C/C, навпаки, мало протективний ефект щодо розвитку бруцельозу (OR = 0.04, 95% CI [0.01 – 0.14]).

Література

1. Mantur B. G., Amarnath S. K., Shinde R. S. Review of clinical and laboratory features of human brucellosis //Indian journal of medical microbiology. – 2007. – Т. 25. – №. 3. – С. 188.
2. Pappas G. et al. The new global map of human brucellosis //The Lancet infectious diseases. – 2006. – Т. 6. – №. 2. – С. 91-99.
3. Abdullayev R. et al. Analyzing the spatial and temporal distribution of human brucellosis in Azerbaijan (1995-2009) using spatial and spatio-temporal statistics //BMC infectious diseases. – 2012. – Т. 12. – №. 1. – С. 185.
4. Nassaji M., Govhary A., Ghorbani R. Epidemiological, clinical and laboratory findings in adult patients with acute brucellosis: A case-control study //Acta Medica Mediterranea. – 2015. – С. 1319-1325.
5. Akritidis N. et al. The liver in brucellosis //Clinical gastroenterology and hepatology. – 2007. – Т. 5. – №. 9. – С. 1109-1112.

6. de Figueiredo P. et al. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of Brucella–Host Interactions //The American journal of pathology. – 2015. – T. 185. – №. 6. – C. 1505-1517.
7. Rodríguez-Zapata M. et al. Human brucellosis is characterized by an intense Th1 profile associated with a defective monocyte function //Infection and immunity. – 2010. – T. 78. – №. 7. – C. 3272-3279.
8. Inanir A. et al. Association of IL-4 gene VNTR variant with deep venous thrombosis in Behçet's disease and its effect on ocular involvement //Molecular vision. – 2013. – T. 19. – C. 675.
9. Kazak E. et al. Brucellosis: a retrospective evaluation of 164 cases //Singapore medical journal. – 2016. – T. 57. – №. 11. – C. 624.
10. Micheal S. et al. IL4 gene polymorphisms and their association with atopic asthma and allergic rhinitis in Pakistani patients. – 2013.
11. Rubach M. P. et al. Brucellosis in low-income and middle-income countries //Current opinion in infectious diseases. – 2013. – T. 26. – №. 5. – C. 404.
12. Nassaji M., Govhary A., Ghorbani R. Epidemiological, clinical and laboratory findings in adult patients with acute brucellosis: A case-control study //Acta Medica Mediterranea. – 2015. – C. 1319-1325.
13. Buzgan T. et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature //International journal of infectious diseases. – 2010. – T. 14. – №. 6. – C. e469-e478.
14. Rasouli M., Kiany S. Association of interferon-gamma and interleukin-4 gene polymorphisms with susceptibility to brucellosis in Iranian patients //Cytokine. – 2007. – T. 38. – №. 1. – C. 49-53.
15. Gunal O. et al. The IL4-VNTR P1 allele, IL4-VNTR P2P2 genotype and IL4-VNTR_IL6-174CG P2P1-GG genotype are susceptible with a increased risk in Brucelosis //Japanese journal of infectious diseases. – 2016. – C. JJID. 2015.550.
16. Rezazadeh M. et al. Association of susceptibility to brucellosis and interleukin-4 promoter polymorphism //Scandinavian journal of infectious diseases. – 2006. – T. 38. – №. 11-12. – C. 1045-1049.