

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ IL-10 И IL-4 У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Е.Н. Усыченко

Резюме. В исследовании представлены результаты генетического профиля больных хроническим гепатитом С (ХГС) и здоровых людей, проживающих в Одесском регионе, путем определения аллельного полиморфизма IL-4 (С-589Т) и IL-10 (G-1082A). Установлена возможная взаимосвязь исходов ХГС и аллельных вариантов генов данных цитокинов.

Ключевые слова: хронический гепатит С, гены цитокинов, прогноз, прогрессирование заболевания.

Вирусный гепатит С является основной причиной формирования хронических заболеваний печени. У 20–30% больных хроническим гепатитом С развивается цирроз печени, в том числе и декомпенсированный, и гепатоцеллюлярная карцинома (1, 2, 3).

Вирусный гепатит С остается важной медико-социальной проблемой в связи с большой распространенностью этого заболевания, вовлеченностью лиц молодого возраста, недостаточной эффективностью современной противовирусной терапии и ее высокой стоимостью. Патогенез повреждения печени при HCV-инфекции и скорость формирования фиброза печени изучены еще недостаточно. Очевидно, это результат комплексного взаимодействия между вирусом гепатита С и человеческим организмом.

В настоящее время известно, что иммунной системе принадлежит важная роль в формировании различных вариантов течения и исходов гепатита С. Цитокины играют ключевую роль в модуляции иммунного ответа (4).

Дисбаланс секреции иммунорегуляторных цитокинов и дисрегуляции цитокинопосредованной кооперации, пролиферации и дифференцировки клеток может быть обусловлен комплексом генов, от которых зависит уровень продукции цитокинов Th-1 Th-2-типа (5).

Одним из основных факторов, влияющих на активность цитокинов, является аллельный полиморфизм кодирующих эти белковые молекулы генов цитокинов, установленных для их промоторов участков, ответственных за связывание РНК-полимеразы с ДНК, которые также различаются, в основном, по интенсивности экспрессии генов (6).

Особый интерес представляет изучение транскрипторного контроля гена IL-10, обладающего противовоспалительной активностью, подавляющего функции активированных макрофагов и стимулирующего реакции гуморального иммунитета (7, 8, 9).

Дефицит IL-4 способствует интенсификации воспалительных реакций, активации апоптоза мононуклеарных клеток и гепатоцитов и, как следствие, прогрессирование процесса (10).

Цель исследования: сравнительный анализ распределения аллелей полиморфных участков генов изучить IL-10 и IL-4 у больных хроническим гепатитом С.

Материалы и методы

Обследовано 100 больных ХГС в возрасте от 18 до 62 лет – средний возраст ($42\pm 3,08$), находящихся под диспансерным наблюдением в гепатоцентре Одесской городской клинической инфекционной больницы. Пациенты проживают на территории Одесского региона, среди больных преобладали женщины (56 человек, 56%), мужчин в группе исследования было 44 человека (44%). В контрольную группу (30 человек) вошли практически здоровые лица в возрасте от 21 до 62 лет – средний возраст ($32\pm 1,05$), среди которых мужчин и женщин было одинаковое количество.

Срок инфицирования HCV в среднем был до 10 лет, до начала исследования все больные не получали традиционных противовирусных схем лечения. По результатам анамнеза и клинических данных исключены пациенты, злоупотребляющие алкоголем и гепатотоксическими препаратами.

У всех пациентов были произведены общеклинические исследования мочи и крови. Диагноз собственно хронического гепатита С основывался на выявлении клинико-инструментальных синдромов: по данным УЗИ, по клинико-лабораторному проявлению цитолиза (повышение активности АсАТ и АлАТ), холестаза (повышение концентрации билирубина и активности щелочной фосфатазы), мезенхимально-воспалительного (повышение глобулинов крови и тимоловой пробы).

Этиологический диагноз был сделан на основании выявления в сыворотке крови РНК HCV (количественное и качественное определение методом ПЦР). Кроме того, было произведено генотипирование: у 48 (48%) больных выявлен вирус гепатита С генотип 1b, у 36 (36%) больных – генотип 3a, наиболее редко генотип встречались генотип 1v и 2 (12 и 4% соответственно).

Морфологическая верификация активности процесса и степени фиброза произведена при помощи Fibrotest или Fibromax.

Молекулярно-генетические исследования включали определение полиморфных вариантов генов IL-4 (C-590T) и IL-10 (G-1082A). Выделение ДНК проводилось при помощи набора «ДНК-ЭКСПРЕСС-кровь» (НПФ «Литех», Российская Федерация). Полиморфизм изучался при помощи амплификации соответствующих участков генома методом ПЦР, использованы структура праймеров и параметры температурных циклов,

описанные в литературе и геномной базе данных. Исследования проводились на базе Немецкого диагностического центра им. Святого Павла.

Таблица 1

Характеристики исследованных полиморфизмов

Ген	Полиморфизм	Название праймера	Нуклеотидная последовательность
IL-4	C-589T	rs2243250	5'-TAAACTTGGGAGAACATGGT-3'
IL-10	G-1082A	rs1800896	5'-CCT ATC CCT ACT TCC CCT-3'

Результаты исследования и их обсуждение

Одним из факторов, влияющих на индивидуальные различия в состоянии иммунной системы у представителей одной этнической группы является полиморфизм в промоторных участках генов цитокинов.

Учитывая значимость баланса цитокинов в развитии различных звеньев иммунного ответа и, соответственно, в различных исходах ХГС представляет интерес анализ аллельного полиморфизма промоторных участков генов цитокинов, которые контролируют гуморальный Th2 зависимый иммунитет IL-4, а также IL-10, подавляющего выраженность Th1-зависимых иммунных реакций.

Кроме того, представляет интерес анализ межгенных взаимодействий, влияющий, вероятно на длительность персистенции вируса гепатита С.

Установлена более низкая частота GG генотипа IL-10 (1082G/A) у больных хроническим гепатитом С, чем у здоровых лиц: 4 и 48% соответственно (табл. 2). Таким образом, найдена существенная ассоциация между HCV и 1082 GG.

IL-10-1082 AA генотип (мутация) встречался более часто у больных HCV, чем в контрольной группе. Это подтверждает возможность такой ассоциации с более высокой степенью восприимчивостью к HCV-инфекции.

Анализ генотипов показал, что индивидуумы этнически однородной группы с 1082 AA генотипом (гомозиготная G аллель) являются более устойчивыми к HCV инфекции при сравнении с 1082 AA генотипом (мутация).

Таблица 2

Частота аллелей IL-10 в контрольной и исследуемой группе

IL-10 1082G/A	контрольная группа (n=30)	частота (%)	больные ХГС	частота (%)
GG	14	48	4*	4
GA	8	26	25	25
AA	8	26	71**	71

Примечание: * – при сравнении с контрольной группой критерий Пирсона составил 6,62; ** – при сравнении с контрольной группой критерий Пирсона составил 8,55.

При анализе полиморфного участка – 590 Т/С IL-4 выявлено преобладание гомозиготного варианта СС (норма) как в группе больных, так и в контрольной группе, что составило 65% и 88% соответственно (табл. 3). Кроме того, в группе больных HCV-инфекцией отмечалось преобладание гетерозиготной аллели ТС в сравнении с контрольной группой. Таким образом, можно предположить вероятную взаимосвязь гетерозиготной аллели и определенной восприимчивости к вирусу гепатита С.

Таблица 3

Частота аллелей IL-4 в контрольной и исследуемой группе

IL-4 -590 Т/С	контрольная группа (n=30)	частота (%)	больные ХГС	частота (%)
СС	26	88	65*	65
ТС	2	6	30**	30
ТТ	2	6	5	5

Примечание: * – при сравнении с контрольной группой критерий Пирсона составил 5,44; ** – при сравнении с контрольной группой критерий Пирсона составил 7,73.

Таким образом, в популяции пациентов с хроническим гепатитом С в Одесском регионе установлены определенные различия в аллелях таких цитокинов, как IL-4 и IL-10. Однако, на развитие различных исходов ХГС, вероятно, оказывают влияние не только мутации цитокинов, но и их сочетание.

Выводы

1. Выявлены различия по частотам аллелей гена IL-10 (-1082 G/A) и IL-4 (С-590Т) между больными хроническим вирусным гепатитом у однородной этнической группы Одесского региона и здоровыми лицами.
2. Установлена более высокая частота АА генотипа IL-10 (1082 G/A) у больных хроническим гепатитом С, чем у здоровых.
3. Анализ распределения аллелей промотора гена IL-4 показал преимущественное распространение среди больных ХГС генотипа ТС, что может свидетельствовать о более высокой восприимчивости к вирусу.

Литература

1. Анализ влияния генетических факторов вируса гепатита С и полиморфизма генов инфицированных людей на развитие фиброза печени / Л.И. Николаева, А.В. Колотвин, Л.М. Самоходская [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2012. – № 5. – С. 7–13.
2. Полиморфизм гена ИЛ-28В как предиктор ответа на противовирусную терапию хронического гепатита С / Т.В. Симанкова, И.В. Гармаш, О.С. Аришева, Н.В. Манухина // Клиническая фармакология и терапия. – 2012. – №21. – С.1–6.

3. Тихонова Н.Ю. Значение аллельных вариантов гена интерлейкина-28В при хроническом вирусном гепатите С / Н.Ю. Тихонова, Э.З. Бурневич, Т.Н. Краснова // Терапевтический архив. – 2013. – № 12. – С. 106–113.

4. Ивашкин В.Т. Иммунная система и повреждения печени при хроническим гепатитах В и С / В.Т. Ивашкин // РЖГГК. – 2009. – № 6. – С. 4–10.

5. Хаитов Р.М. Иммунология: атлас / Р.М. Хаитов, А.А. Ярилин, Б.В. Пинегин // М. : ГЭОТАР–Медиа, 2011. – 624 с.

6. Полиморфизм генов цитокинов как один из факторов демографической структуры европеоидного населения Сибири / В.И. Коненков, В.Ф. Прокофьев, А.В. Шевченко [и др.] // Иммунология. – 2011. – № 2. – С. 60–64.

7. Analysis of interleukin-10 gene polymorphisms and hepatitis C susceptibility in Pakistan / Muhammad Sohail Afzal, Sadia Tahir, Amna Salman [et al.] // J.Infect.Dev.Ctries – 2011. – Vol. 5(6). – P. 473–479.

8. Combined analysis of interferon- γ and interleukin-10 gene polymorphisms and chronic hepatitis C severity / N. Bouzgarrou, E. Hassen, K. Farhat [et al.] // Hum. Immunol. – 2009. – Vol. 70. – P. 230–236.

9. Polymorphisms of some cytokines and chronic hepatitis B and C virus infection / Q.J. Gao, D.W. Liu, S.Y. Zhang [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15(44). – P. 5610–5619.

10. Полиморфизм генов – модификаторов иммунного ответа при заболеваниях печени различной этиологии / И.А. Гончарова, Гамаль Абд Ель Азиз Наср, Е.В. Белобородова [и др.] // Медицинская генетика. – 2010. – № 12. – С. 20–24.

АНАЛІЗ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ІЛ-10 І ІЛ-4 У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С

К.М. Усиченко

Резюме. У дослідженні представлені результати генетичного профілю хворих на хронічний гепатит С (ХГС) та здорових осіб, що проживають в Одеському регіоні, шляхом визначення алельного поліморфізму ІЛ-4 (С-589Т) та ІЛ-10 (G-1082A). Встановлений можливий взаємозв'язок наслідків ХГС та алельних варіантів генів цих цитокінів.

Ключові слова: хронічний гепатит С, гени цитокінів, прогноз, прогресування захворювання.

ANALYSIS OF GENE POLYMORPHISM OF IL-10 AND IL-4 IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

К.М. Usychenko

Resume. The article presents the results of investigation of genetic profile in patients with chronic hepatitis C (CHC) and in healthy persons living in Odessa region by the detection of allelic polymorphism of IL-4 (C-589T) and IL-10 (G-1082A). Dependence between outcomes of CHC and allelic variants of cytokine genes was established.

Key words: chronic hepatitis C, cytokine genes, disease progression, prognosis.