

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ КОМБИНАЦИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО КАЛЬКУЛЕЗНОГО ХОЛЕЦИСТИТА

Демин С.С., Черкашина О.В.

ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ») (Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85), e-mail: info@bsu

Анализ связи сочетаний генетических полиморфизмов интерлейкинов с формированием хронического калькулезного холецистита (ХКХ) осуществлялся на выборке из 544 человек: 250 больных ХКХ и 294 человек популяционного контроля, являющихся уроженцами Центрального Черноземья России. Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 4–5 мл. Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществлялось методом фенольно-хлороформной экстракции. Выделенную ДНК использовали для проведения полимеразной цепной реакции синтеза ДНК. Установлено, что носительство у мужчин аллелей -511Т IL-1В, -584Т IL-4, -113Т IL-9 и генотипа -511ТТ IL-1В, а также комбинаций генетических маркеров: -889Т IL-1А, -511Т IL-1В и -703С IL-5; -511Т IL-1В и -703С IL-5; -889Т IL-1А, -511Т IL-1В и -584Т IL-4; 889Т IL-1А и -511Т IL-1В обуславливает повышенный риск развития ХКХ. Наличие у женщин комбинаций генетических вариантов -889ТТ IL-1А, -511Т IL-1В и -113Т IL-9; -511Т IL-1В, -703С IL-5 и -113ТТ IL-9; -511Т IL-1В, -113Т IL-9, -592С IL-10 и -251Т IL-8; -511Т IL-1В, -703Т IL-5 и -584С IL-4 определяет риск формирования ХКХ, а наличие сочетаний -889С IL-1А, -511С IL-1В и -703С IL-5; -511С IL-1В и -703С IL-5 обладает протективным действием.

Ключевые слова: хронический калькулезный холецистит, желчнокаменная болезнь, интерлейкины.

THE PREDICTIVE IMPORTANCE OF COMBINATIONS OF GENETIC OPTIONS INTERLEUKINOV IN DEVELOPMENT OF CHRONIC KALKULEZNY CHOLECYSTITIS

Demin S.S., Cherkashina O.V.

FGAOU VPO "The Belgorod state national research university" ("BELGU'S" NIU) (Russia, 308015, Belgorod, Pobedy St., 85) e-mail: info@bsu

The analysis of communication of combinations of genetic polymorphisms of interleykin to formation of the chronic kalkulezny of cholecystitis (CKC) was carried out on selection of 544 people: 250 sick HKH and 294 people of population control who are natives of the Central Chernozem region of Russia. As material for research the blue blood of 4–5 ml served. Allocation of genomic DNA from peripheral blood was carried out by method of phenolic and chloroformic extraction. The allocated DNA was used for carrying out polimerazny chain reaction of synthesis of DNA. It is established that a carriage at men of alleles - 511T IL-1B, - 584T IL-4, - 113T IL-9 and a genotype - 511TT IL-1B, and also combinations of genetic markers: - 889T IL-1A, - 511T IL-1B and - 703C IL-5; - 511T IL-1B and - 703C IL-5; - 889T IL-1A, - 511T IL-1B and - 584T IL-4; 889T IL-1A and - 511T IL-1B causes the increased risk of development of HKH. Existence at women of combinations of genetic options - 889TT IL-1A, - 511T IL-1B and - 113T IL-9; - 511T IL-1B, - 703C IL-5 and - 113TT IL-9; - 511T IL-1B, - 113T IL-9, - 592C IL-10 and - 251T IL-8; - 511T IL-1B, - 703T IL-5 and - 584C IL-4 defines risk of formation of HKH, and existence of combinations - 889C IL-1A, - 511C IL-1B and - 703C IL-5; - 511C IL-1B and - 703C IL-5 possesses protective action.

Keywords: chronic kalkulezny cholecystitis, cholelithiasis, interleykina.

Хронический калькулезный холецистит (ХКХ) – это обменно-воспалительное заболевание системы органов пищеварения, которое характеризуется образованием камней в желчном пузыре и желчных протоках. Среди болезней органов пищеварения ХКХ встречается достаточно часто: он составляет до 90 % всех случаев желчнокаменной болезни (ЖКБ), заболеваемость которой в мире достигает 10 % [1].

По данным многочисленных литературных источников на протяжении XX века, в особенности второй его половины, происходило быстрое увеличение распространенности ЖКБ, преимущественно в промышленно развитых странах, в том числе в России. В конце XX века в ФРГ было зарегистрировано более 5 миллионов, а в США более 15 миллионов больных ЖКБ. Каждое десятилетие количество заболевших увеличивается, как минимум, вдвое. По данным медицинской статистики, холелитиаз встречается у женщин значительно чаще, чем у мужчин, причём с возрастом число больных существенно увеличивается и после 70 лет достигает 30 % и более в популяции. По количеству хирургических вмешательств ЖКБ вышла на второе место в мире после аппендэктомии [3].

В формировании ХКХ участвуют такие факторы, как: избыточная масса тела, возраст, женский пол, ятрогенные факторы и др. Значимую роль в формировании ЖКБ играют генетические факторы [2]. Показана роль отдельных генетических полиморфизмов, участвующих в регуляции воспаления, клеточной пролиферации, метаболизма липидов и желчных кислот в формировании ЖКБ [5, 6]. Среди генов-кандидатов, регулирующих преимущественно процессы воспаления, важное значение имеют интерлейкины. Интерлейкины представляют собой группу полипептидных медиаторов, участвующих в формировании и регуляции защитных реакций организма. Им принадлежит важная роль в развитии и течении различных заболеваний, в том числе и органов пищеварения. Интерлейкины, взаимодействуя со специфическими рецепторами, являются одними из главных звеньев в воспалительном каскаде при ЖКБ, изменяя интенсивность и длительность воспалительных, склеротических и литогенных процессов в желчном пузыре [4].

Цель исследования: изучение роли сочетаний генетических полиморфизмов *-889T/C IL-1A*, *-511C/T IL-1B*, *-584C/T IL-4*, *-703C/T IL-5*, *-174G/C IL-6*, *-251A/T IL-8*, *-113T/M IL-9*, *-592C/A IL-10* в формировании ХКХ в зависимости от пола.

Материалы и методы. Группу исследования составили 544 человека: 250 больных ХКХ и 294 человека популяционного контроля. В выборки больных и популяционного контроля включались индивидуумы русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья России и не имеющие родства между собой. Среди 250 больных ХКХ мужчин было 42 человека (16,80 %), женщин – 208 (83,20 %). В популяционной выборке (294 человека) распределение по полу было аналогичным: мужчины – 50 человек (17,00 %), женщины – 244 (83,00 %). Средний возраст больных составил $54,66 \pm 13,08$ лет (варьировал от 23 до 85 лет), популяционной выборки – $48,20 \pm 6,28$ лет (варьировал от 18 до 79 лет). Таким образом, группа популяционного контроля не отличалась от группы больных по полу, возрасту, национальности и месту рождения.

Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 4–5 мл, взятая из локтевой вены пробанда. Забор венозной крови осуществлялся в пробирки с консервантом, содержащим 0,5М раствор ЭДТА (рН=8.0).

Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществлялось методом фенольно-хлороформной экстракции.

Генотипирование ДНК-маркеров производилось методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) продуктов ПЦР-амплификации специфических участков генома с использованием соответствующих ферментов рестрикции производства фирмы «Сибэнзим» (Новосибирск) (локусы *-889T/C IL-1A*, *-511C/T IL-1B*, *-703C/T IL-5*, *-113T/M IL-9*, *-592C/A IL-10*).

Генотипирование локусов *-590C/T IL-4*, *-174G/C IL-6*, *-251A/T IL-8* осуществлялось методом детекции TagMan зондов по данным величин RFU (уровень относительной флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе IQ5 с детектирующей системой в режиме реального времени. Для дискриминации аллелей использовалась программа «Bio-Rad IQ5-Standard Edition».

Ассоциации аллелей и генотипов с качественными признаками ХКХ оценивали с помощью показателя отношения шансов (OR).

Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность.

С целью решения проблемы множественных сравнений, связанной с получением ложноположительных результатов (ошибка 1-го рода), использовали пермутационный тест.

Результаты: При проведении сравнительного анализа распределения генетических полиморфизмов *-889T/C IL-1A*, *-511C/T IL-1B*, *-584C/T IL-4*, *-703C/T IL-5*, *-174G/C IL-6*, *-251A/T IL-8*, *-113T/M IL-9*, *-592C/A IL-10* в исследуемых выборках в зависимости от пола установлены различия в концентрациях генотипов и аллелей молекулярно-генетических маркеров интерлейкинов, между больными ХКХ и контролем.

Установлена более высокая частота маркеров *-511T IL-1B* (51,47 %) и *-511TT IL-1B* (29,41 %), и низкая распространённость генотипа *-511CC IL-1B* (26,47%) среди мужчин больных ХКХ в сравнении с контрольной группой мужчин, где данные показатели составили 23,08 % ($\chi^2=11,47$, $p=0,002$), 5,13% ($\chi^2=6,13$, $p=0,01$) и 58,97% ($\chi^2=6,5$, $p=0,01$) соответственно. Выявлены более высокие концентрации аллелей *-584T IL-4* (28,21%) и *-113T IL-9* (90,79%) в группе мужчин больных ХКХ по сравнению с контролем, где анализируемые показатели составили 15,31 % ($\chi^2=3,61$, $p=0,06$) и 80,0% ($\chi^2=0,9$, $p=0,34$) соответственно. Таким образом, наличие маркеров *-511T IL-1B* и *-511TT IL-1B*, а также аллелей *-584T IL-4* и *-113T IL-9* обуславливает повышенный риск развития данного заболевания (OR=3,54; OR=7,71; OR=2,17

и $OR=2,46$ соответственно). Тогда как генетические маркеры *-511C IL-1B*, *-511CC IL-1B*, *-584C IL-4* и *-113M IL-9* являются протективными факторами развития хронического калькулезного холецистита у мужчин ($OR=0,28$; $OR=0,25$; $OR=0,46$ и $OR=0,41$ соответственно).

Между женщинами, больными ХКХ и контролем, достоверных различий по частоте генотипов и аллелей молекулярно-генетических маркеров интерлейкинов не выявлено.

В результате анализа носительства комбинаций аллелей и генотипов исследуемых локусов интерлейкинов в зависимости от пола, также установлен ряд достоверных отличий больных от контроля.

В группе мужчин сочетания генетических вариантов, отличающих больных ХКХ от контрольной группы, включают 4 полиморфизма (*-889T/C IL-1A*, *-511C/T IL-1B*, *-584C/T IL-4*, *-703C/T IL-5*) из 8 рассмотренных, они образуют четыре комбинации, причем все являются факторами повышенного риска формирования ХКХ. Сочетания *-889T IL-1A*, *-511T IL-1B* и *-703C IL-5*; *-511T IL-1B* и *-703C IL-5* отмечаются у 71,43 % и 66,67 % мужчин с данным заболеванием, а в группе контроля они составляют 33,33 % ($OR=5,0$; 95 % CI 1,67-14,93) и 36,36 % ($OR=4,8$; 95 % CI 1,64-14,12) соответственно. Следующие два сочетания у пациентов с ХКХ наблюдаются в несколько раз чаще (35,48 % и 71,88 %), чем в контрольной группе – 8,33 % ($OR=6,6$; 95% CI 1,65-26,46) и 38,46 % ($OR=4,1$; 95 % CI 1,5-11,17) соответственно.

У женщин в формировании значимых комбинаций генетических вариантов, отличающих больных ХКХ от контрольной группы, участвуют 7 полиморфизмов (*-889T/C IL-1A*, *-511C/T IL-1B*, *-584C/T IL-4*, *-703C/T IL-5*, *-251A/T IL-8*, *-113T/M IL-9*, *-592C/A IL-10*) из 8 рассмотренных, они образуют шесть сочетаний. Четыре комбинации определяют риск развития данного заболевания. В формировании трех таких сочетаний принимают участие по три генетических маркера: *-889TT IL-1A*, *-511T IL-1B* и *-113T IL-9*; *-511T IL-1B*, *-703C IL-5* и *-113TT IL-9*; *-511T IL-1B*, *-703T IL-5* и *-584C IL-4*. Их частота значительно выше (42,69 %; 48,28 % и 38,16 %) среди женщин больных ХКХ, чем в контрольной группе – 19,54 % ($OR=3,1$; 95 % CI 1,67-5,65); 19,15 % ($OR=3,9$; 95 % CI 1,78-8,74) и 23,66 % ($OR=1,99$; 95 % CI 1,18-3,34) соответственно. Еще одно сочетание, являющееся фактором повышенного риска развития ХКХ, образовано из четырех генетических вариантов *-511T IL-1B*, *-113T IL-9*, *-592C IL-10* и *-251T IL-8*. В группе женщин с ХКХ частота данной комбинации составила 48,8 %, что в 1,7 раз выше, чем в контрольной группе – 28,4 % ($OR=2,4$; 95 % CI 1,36-4,25).

Сочетания генетических маркеров *-889C IL-1A*, *-511C IL-1B* и *-703C IL-5*; *-511C IL-1B* и *-703C IL-5* являются протективными факторами формирования ХКХ. Они наблюдаются у 20,65 %; 71,15 % женщин с данным заболеванием, тогда как в контрольной группе у 38,46 % ($OR=0,42$; 95 % CI 0,25-0,7) и 84,21 % (0,46; 95 % CI 0,26-0,83) соответственно.

Выводы: обобщая полученные данные можно заключить, что изученные полиморфные маркеры играют важную роль в развитии хронического калькулезного холецистита. Причем, наличие у мужчин аллелей *-511T IL-1B*, *-584T IL-4*, *-113T IL-9* и генотипа *-511TT IL-1B*, а также комбинаций генетических маркеров: *-889T IL-1A*, *-511T IL-1B* и *-703C IL-5*; *-511T IL-1B* и *-703C IL-5*; *-889T IL-1A*, *-511T IL-1B* и *-584T IL-4*; *889T IL-1A* и *-511T IL-1B* обуславливает повышенный риск развития ХКХ. Наличие у женщин комбинаций генетических вариантов *-889TT IL-1A*, *-511T IL-1B* и *-113T IL-9*; *-511T IL-1B*, *-703C IL-5* и *-113TT IL-9*; *-511T IL-1B*, *-113T IL-9*, *-592C IL-10* и *-251T IL-8*; *-511T IL-1B*, *-703T IL-5* и *-584C IL-4* определяет повышенный риск формирования ХКХ, а наличие сочетаний *-889C IL-1A*, *-511C IL-1B* и *-703C IL-5*; *-511C IL-1B* и *-703C IL-5* обладает протективным действием. Это согласуется с литературными данными, свидетельствующими о значимой роли генов интерлейкинов в патогенезе ХКХ.

Список литературы

1. Григорьев П.Я. Желчнокаменная болезнь и последствия холецистэктомии: диагностика, лечение и профилактика / П.Я. Григорьев, И.П. Солуянова, А.В. Яковенко // Лечащий врач. – 2002. – № 6. – С. 26–32.
2. Григорьева И.Н. Основные факторы риска желчнокаменной болезни / И.Н. Григорьева // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2007. – Т. 17. – № 6. – С.17–21.
3. Ильченко А.А. Желчнокаменная болезнь / А.А. Ильченко. – М.: Анахарсис, 2004. – 200 с.
4. Царегородцева Т.М. Цитокины при гастроэнтерологической патологии / Т.М. Царегородцева // Медицинская газета. – 2005. – № 63. – С. 3-4.
5. Beckingham I.J. ABC Of Liver, Pancreas and Gall Bladder // Edited by I.J. Beckingham.- BMJ Books, BMA House, Tavistock Square, London, 2001. – P. 54.
6. Bellows C.F. Management of gallstones / C.F. Bellows, D.H. Berger, R.A. Crass // Am Fam Physician. – 2005. – V. 72(4). – P. 637-642.

Рецензенты:

Чурносов М.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой медико-биологических дисциплин, медицинский факультет, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород;

Сорокина И.Н., д.м.н., доцент, профессор, заведующий кафедрой медико-биологических дисциплин, медицинский факультет, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород.