

К. М. Усиченко¹, Ю. І. Бажора¹, О. М. Усиченко¹,
С. Я. Лаврюкова², Н. С. Пастерначенко², В. О. Мозгова²

АСОЦІАЦІЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ЦИТОКІНІВ *IL-4* ТА *IL-10* З ЇХНЬОЮ КІЛЬКІСТЮ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С

¹ Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна,

² КУ «Одеська міська клінічна інфекційна лікарня», Одеса, Україна

УДК 616.36-002.2:577.175.14:575.174.015.3

Е. Н. Усыченко¹, Ю. И. Бажора¹, Е. М. Усыченко¹, С. Я. Лаврюкова², Н. С. Пастерначенко²,
В. А. Мозговая²

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ *IL-4* И *IL-10* С ИХ КОЛИЧЕСТВОМ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧНЫМ ГЕПАТИТОМ С

¹ Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина,

² КУ «Одесская городская клиническая инфекционная больница», Одесса, Украина

Установлен определенный уровень статистической значимости ассоциации генотипов цитокинов *IL-4* и *IL-10* с их количественным содержанием и степенью фиброза печени у больных хроническим гепатитом С, принадлежащих к этнически однородной группе жителей Одесского региона, в сравнении со здоровыми лицами. В результате проведенного пилотного исследования можно предположить, что генотип *CC IL-4* обладает противовоспалительной активностью, так как он доминирует у больных со степенью фиброза F0–F1. Возможно, комбинации генотипов *TT IL-4* и *AA IL-10* ассоциируются с профиброгенным эффектом, так как они обнаружены у пациентов с фиброзом F2–F3. Выраженность изменений в цитокиновом профиле при хроническом гепатите С оказывает влияние на течение патологического процесса. Увеличение содержания *IL-4* и *IL-10* при хроническом гепатите С может быть маркером выраженных морфологических изменений печеночной ткани и высокой активности воспалительного процесса.

Ключевые слова: хронический гепатит С, полиморфизм генов, фиброз печени, цитокиновый профиль.

UDC 616.36-002.2:577.175.14:575.174.015.3

К. М. Usychenko¹, Yu. I. Bazhora¹, O. M. Usychenko¹, S. Ya. Lavryukova², N. S. Pasternachenko², V. O. Mozgova²

THE ASSOCIATION OF POLYMORPHISM OF CYTOKINE GENES *IL-4* AND *IL-10* WITH THEIR QUANTITY OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

¹ The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine,

² The Odessa Municipal Clinical Infection Hospital, Odessa, Ukraine

Aim is to study association of gene polymorphisms *IL-10* (G1082A), *IL-4* (C589T), concentration of these cytokines in blood of the patients with chronic hepatitis C (CHC) and the degree of liver fibrosis, comparison of these results with results of investigation of healthy persons belonging to ethnically homogeneous group of residents of the Odessa region.

Materials and methods. The study includes 100 patients with chronic hepatitis C. The control group includes 30 people who did not have diseases of the hepatobiliary system. Polymorphism amplification was investigated using respective portions of the genome by PCR. The structure of the primers used are described in the GenBank. Evaluation of morphological changes in the liver (the degree of activity and severity of fibrotic changes) was determined on a scale METAVIR using a non-invasive method Fibrotest.

Results. It is established a certain level of statistical significance of genotypes of cytokines, quantity of cytokines and the degree of liver fibrosis. Patients with homozygous *CC* genotype *IL-4* had low level of fibrotic changes. Patients with homozygous *GG* genotype *IL-10* had low level of fibrotic changes. There is moderate positive association between *IL-4* genotypes and *IL-4* content: higher content of *IL-4* is noted in carriers of the *CC* genotype, less *IL-4* in carriers of the *TT* genotype. There is moderate positive association between *IL-4* genotypes and *IL-10* content: higher content of *IL-10* is noted in carriers of the *HS* genotype, less *IL-10* in carriers of the *TT* genotype ($p < 0.01$).

Conclusion. As a result of the pilot study, it can be assumed that the *IL-4 CC* genotype has anti-inflammatory activity, since it dominates in patients with fibrosis F0–F1. Probably, combinations of genotypes of *TT IL-4* and *AA-IL-10* are associated with a profibrogenic effect, as they are found in patients with F2–F3 fibrosis. The severity of changes in the cytokine profile in chronic hepatitis C affects the course of the pathological process. The increase in *IL-4* and *IL-10* in chronic hepatitis C can be a marker of pronounced morphological changes in the hepatic tissue and a high activity of the inflammatory process.

Key words: chronic hepatitis C, gene polymorphism, liver fibrosis, cytokine status.



Вступ

Дослідження останніх років спрямовані на розвиток персоналізованої медицини з метою виявлення чинників, що пов'язані з індивідуальною реактивністю організму людини на вплив вірусу гепатитів В і С та дозволяють прогнозувати особливості перебігу, наслідків захворювання й відповіді на терапію [1–4].

Одним з актуальних питань HCV-інфекції є вивчення ролі імуногенетичних факторів у розвитку та наслідків цирозу печінки і гепатокарциноми.

Особливе місце належить поліморфізму генів цитокінів. Встановлено, що алельний поліморфізм деяких генів цитокінів впливає на рівень експресії гена й утворення відповідних білкових продуктів, що призводять до зміни характеру імунної відповіді [5–7].

Сьогодні вивчено близько 20 генів цитокінів у хворих на хронічні вірусні гепатити. Вибір генів-кандидатів для проведення аналізу поліморфізму генів цитокінів визначається їхньою роллю в імунопатогенезі хронічних гепатитів.

Встановлено, що *IL-10* відіграє основну роль у регуляції запальної реакції та імунної відповіді як продукт Th-2-клітин, пригнічує синтез цитокінів, які продукуються Th-1-клітинами: TNF α , IL-2, IFN γ , IL-1, IL-6 [1; 5; 7].

На думку авторів, виявлення алельних варіантів поліморфізмів *IL-4* дозволяє не тільки оцінити активність хронічного гепатиту, а й прогнозувати його перебіг у цироз печінки [8–10].

Це приводить до необхідності вивчити зв'язок таких поліморфних варіантів генів, як *IL-4* і *IL-10*, з їхнім кількісним вмістом, особливостями функ-

ціонування при хронічному вірусному гепатиті.

Метою цієї роботи є вивчення зв'язку між кількісним вмістом цитокінів IL-4 та IL-10 зі ступенем фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С (ХГС) з наявністю у них поліморфних варіантів генів *IL-4* (C589T) та *IL-10* (G1082A).

Матеріали та методи дослідження

У дослідження включено 100 хворих, які проживають в Одеському регіоні. Серед пацієнтів було 56 чоловіків і 44 жінки, середній вік (42,00 \pm 3,08) року, тривалість захворювання не перевищувала 10 років.

Критеріями для включення в дослідження служили виявлені в крові пацієнтів методом ELISA серологічні маркери ХГС (aHCV-IgM і aHCV), а також вірусна РНК, визначена методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Проводили кількісне і якісне визначення РНК вірусу за допомогою ПЛР і генотипу вірусу. Стадія фіброзу печінки визначалася за допомогою неінвазивної методики Fibrotest.

До контрольної групи були включені 30 практично здорових мешканців Одеси, середній вік яких становив (32,00 \pm 1,05) року. Кількість чоловіків і жінок була однаковою (по 50 %).

Визначення алельного поліморфізму генів цитокінів *IL-10* (G1082A) та *IL-4* (C589T) проводили з використанням ампліфікації та ПЛР. Було використано параметри температурних циклів і структуру праймерів, які описані в базі даних GenBank. Ці дослідження проведені в лабораторії Німецького діагностичного центру ім. Св. Павла (Одеса).

Визначення цитокінів у сироватці крові проводили мето-

дом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів для кількісного визначення концентрації IL-4 і IL-10 у біологічних рідинах людини (виробник — ЗАТ «Вектор-Бест», Новосибірськ) згідно з відповідною інструкцією. Оцінку результатів здійснювали фотометричним способом (мікропланшетний імуноферментний аналізатор "Stat Fax-2100", США).

Результати оброблені статистичними методами. Розподіл отриманих генотипів за дослідженими поліморфними локусами перевіряли на відповідність рівноваги Харді — Вайнберга з використанням критерію χ^2 Пірсона з поправкою Йетса на безперервність при числі степенів вільності 1.

Результати дослідження та їх обговорення

У наших роботах представлені результати вивчення алельного поліморфізму *IL-4* (C589T) і *IL-10* (G1082A) [11].

При вивченні цитокінового профілю у здорових осіб були виявлені значні коливання вмісту IL-4 і IL-10. У здорових людей концентрація IL-4 варіювала від 0 до 4 пг/мл, середнє значення (0,20 \pm 0,02) пг/мл. Концентрація IL-10 перебувала в діапазоні від 0 до 31 пг/мл, середнє значення (5,00 \pm 0,05) пг/мл.

Для оцінки змін у цитокіновому профілі хворі на ХГС були розділені відповідно за певним генотипом досліджуваних цитокінів (табл. 1).

З метою оцінки морфологічних змін у печінковій тканині (ступеня фіброзу та активності запального процесу) було проведено неінвазивне дослідження Fibrotest (рис. 1), виділені 3 групи пацієнтів.



Таблиця 1

Концентрація IL-4 та IL-10 (пг/мл) у крові хворих на хронічний гепатит С залежно від алельного поліморфізму генів цитокінів

Генотип	IL-4	IL-10
Ген <i>IL-4</i>		
CC	5,73±2,98	34,59±8,00
CT	7,03±2,50	39,76±8,50
TT	8,25±0,50	40,25±1,50
Ген <i>IL-10</i>		
GG	6,19±2,90	36,37±7,50
GA	6,37±2,90	36,86±8,00
AA	5,88±2,50	35,25±7,50

Для оцінки взаємозв'язку непараметричних (алельний поліморфізм генів цитокінів, стадія фіброзу печінки) і параметричних даних (концентрація відповідних цитокінів у крові пацієнта) був застосований коефіцієнт рангової кореляції Спірмена.

Встановлено наявність таких зв'язків:

— помірний позитивний зв'язок між ступенем фіброзу і генотипами *IL-4*, $p < 0,01$ (менший ступінь фіброзу відзначається у носіїв генотипу CC, більший ступінь фіброзу — у носіїв генотипу TT);

— помірний негативний зв'язок між генотипами *IL-10* і ступенем фіброзу, $p < 0,01$ (менший ступінь фіброзу відзначається у носіїв генотипу GG, більший ступінь фіброзу — у носіїв генотипу AA);

— помірний позитивний зв'язок між генотипами *IL-4* і вмістом IL-4, $p < 0,01$ (більший вміст IL-4 зазначається у носіїв генотипу CC, менший вміст IL-4 — у носіїв генотипу TT);

— помірний позитивний зв'язок між генотипами *IL-4* і вмістом IL-10, $p < 0,01$ (більший вміст IL-10 відзначається у носіїв генотипу CC, менший вміст IL-10 — у носіїв генотипу TT);

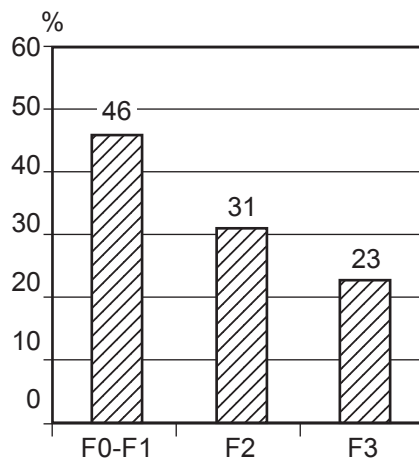


Рис. 1. Кількість хворих на хронічний гепатит С з різним ступенем фіброзу печінки

— сильний позитивний зв'язок між ступенем фіброзу та кількістю цитокінів *IL-4* і *IL-10*, $p < 0,01$.

У результаті проведеного пілотного дослідження можна припустити, що генотип CC *IL-4* має протизапальну активність, тому що він домінує у хворих зі ступенем фіброзу F0–F1. Можливо, комбінації генотипів TT *IL-4* і AA *IL-10* асоціюються з профіброгенним ефектом, оскільки вони виявлені у пацієнтів з фіброзом F2–F3.

Виразність змін у цитокіновому профілі при хронічному гепатиті С впливає на перебіг патологічного процесу. Збільшення вмісту IL-4 і IL-10 при хронічному гепатиті С може бути маркером значних морфологічних змін печінкової тканини і високої активності запального процесу.

Висновок

При обстеженні хворих на хронічний гепатит С потрібний комплексний підхід, вивчення генетичного та цитокінового профілю допоможе спрогнозувати швидкість і ступінь змін печінкової тканини. Необхідні подальші дослідження у великій когорті пацієнтів.

Ключові слова: хронічний гепатит С, поліморфізм генів, фіброз печінки, цитокіновий профіль.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анализ влияния генетических факторов вируса гепатита С и полиморфизма генов инфицированных людей на развитие фиброза печени / Л. И. Николаева и др. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012. № 5. С. 7–13.
2. Genome-wide association study identifies variants associated with progression of liver fibrosis from HCV infection / E. Patin et al. *Gastroenterology*. 2012. Vol. 143. P. 1244–1252.
3. Rau M., Baur K., Geier A. Host Genetic Variants in the Pathogenesis of Hepatitis C. *Viruses*. 2012. № 4. P. 3281–3302.
4. Ивашкин В. Т. Иммунная система и повреждения печени при хроническим гепатитах В и С. *РЖГГК*. 2009. № 6. С. 4–10.
5. Генетические факторы подверженности к хронизации вирусного гепатита и фиброзу печени / И. А. Гончарова и др. *Молекулярная биология*. 2008. Т. 42, № 2. С. 238–241.
6. Analysis of interleukin-10 gene polymorphisms and hepatitis C susceptibility in Pakistan / Afzal M. S. et al. *J. Infect. Dev. Ctries*. 2011. Vol. 5 (6). P. 473–479.
7. Иммунопатогенез вирусного гепатита С. Иммунологические маркеры прогрессирования заболевания / Ю. В. Лобзин и др. *Журнал микробиологии*. 2007. № 6. С. 75–84.
8. Мороз Л. В., Яцик І. В. Імуногенетичний профіль у хворих на хронічний гепатит С. *Гепатологія*. 2011. № 2. С. 28–33.
9. Ассоциация полиморфных маркеров генов иммунной системы с количественными признаками, патогенетически значимыми для хронического вирусного гепатита / И. А. Гончарова и др. *Молекулярная биология*. 2008. Т. 42, № 2. С. 242–246.
10. Распределение аллелей полиморфных участков промоторов генов интерлейкина-4 C-590T IL-4 и генов рецепторов к нему IL-4RA Q-576R и 4RA ILE-50VAL среди больных вирусным гепатитом С / В. В. Авдошина и др. *Журнал микробиологии*. 2007. № 1. С. 43–46.
11. Усиченко Е. Н. Ассоциация генов цитокінов IL-10, IL-4, TNF и стадии фиброза у больных ХГС. *Вест-*



REFERENCES

1. Nikolaeva L.I., Kolotvin A.V., Samohodskaya L.M. et al. Analysis of influence of genetic factors of Hepatitis C virus and polymorphism of genes of infected people on hepatic fibrosis development. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni* 2012; 5: 7-13.
2. Patin E., Kutalik Z., Guernon J. et al. Genome-wide association study identifies variants associated with progression of liver fibrosis from HCV infection. *Gastroenterology* 2012; 143: 1244-1252.
3. Rau M., Baur K., Geier A. Host Genetic Variants in the Pathogenesis of Hepatitis C. *Viruses* 2012; 4: 3281-3302.
4. Ivashkin V.T. Immune system and hepatic damage with Hepatitis B i C. *RZHGGK* 2009; 6: 4-10.
5. Goncharova I.A., Beloborodova E.V., Freydin M.B. et al. Genetic factors of susceptibility to chronization of viral hepatitis and hepatic fibrosis. *Molekulyarnaya biologiya* 2008; 42 (2): 238-241.
6. Afzal M.S., Tahir S., Salman A. et al. Analysis of interleukin-10 gene polymorphisms and hepatitis C susceptibility in Pakistan. *J. Infect. Dev. Ctries* 2011; 5 (6): 473-479.
7. Lobzin Yu.V., Nikitin Yu.V., Suhina I.A. et al. Immunopathogenesis of viral hepatitis C. Immunologic markers of disease progression. *Zhurnal mikrobiologii* 2007; 6: 75-84.
8. Moroz L.V., Yatsik I.V. Immunogenetic profile in patients suffering from chronic hepatitis C. *Gepatologiya* 2011; 2: 28-33.
9. Goncharova I.A., Beloborodova E.V., Freydin M.B. et al. Association of polymorphic markers of genes of immune system with quantitative signs, pathogenetically important for chronic hepatitis. *Molekulyarnaya biologiya* 2008; 42 (2): 242-246.
10. Avdoshina V.V., Kononov V.I., Dortman V.V. et al. Distribution of alleles of polymorphic parts of interleukin-4 S-590TIL-4 genes promoters and genes receptors to it IL-4RA Q-576R and 4RA ILE-50VAL among patients with viral hepatitis C. *Zhurnal mikrobiologii* 2007; 1: 43-46.
11. Usychenko E.N. Association of genes of cytokines IL-10, IL-4, TNF and fibrosis stages in patients with ChHC. *Vestnik Kazhskogo meditsinskogo universiteta* 2015; 4: 83-85.

Надійшла до редакції 23.05.2018

Рецензент д-р мед. наук,
проф. О. Л. Холодкова,
дата рецензії 28.05.2018

УДК 618.145-006.6/-007.61-056-047.44

В. Г. Марічереда, Н. А. Бикова

ОЦІНКА ФАКТОРІВ РИЗИКУ РОЗВИТКУ КОМПЛЕКСНОЇ АТИПОВОЇ ГІПЕРПЛАЗІЇ ЕНДОМЕТРІЯ У ЖІНОК

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 618.145-006.6/-007.61-056-047.44

В. Г. Марічереда, Н. А. Бикова

ОЦЕНКА ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ КОМПЛЕКСНОЙ АТИПИЧЕСКОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Проведен ретроспективный анализ анамнестических данных у 42 пациенток с патоморфологически подтвержденным диагнозом комплексной атипической гиперплазии эндометрия в возрасте 29–67 лет и у 30 женщин контрольной группы без верифицированного гиперпролиферативного процесса эндометрия (ГПЭ).

Оценка полученных результатов путем вычисления отношения шансов факторов риска показала наличие статистически значимых и статистически незначимых факторов.

С целью своевременного повышения мер профилактики, ранней диагностики ГПЭ необходимо выявлять факторы риска на догоспитальном этапе (в поликлиниках, женских консультациях, амбулаториях семейного врача) и проводить их коррекцию.

Ключевые слова: факторы риска, комплексная атипическая гиперплазия эндометрия.

UDC 618.145-006.6/-007.61-056-047.44

V. G. Marichereda, N. A. Bykova

ASSESSMENT OF THE RISK FACTORS OF THE DEVELOPMENT OF COMPLEX ATYPICAL ENDOMETRIAL HYPERPLASIA IN WOMEN

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Hyperproliferative processes of endometrium (HPE) in modern gynecology are considered as a polyetiological disease, which is influenced by various endogenous and epigenetic factors for development, progression and transformation. Endometrial hyperplasia, in combination with concomitant gynecological and extragenital pathology, increases the risk of developing uterine cancer in these patients.

