

УДК 616.981.21/958.7

DOI: 10.15587/2519-4798.2018.148880

РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ IL-6(-174 C/G) У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ БРУЦЕЛЬОЗ

© Гусейнов Ельчин Мамед огли

Відомо про взаємозв'язок поліморфізму IL-6(-174 C/G) та сприйнятливості до бруцельозу.

Мета дослідження: визначити поліморфізм IL-6(-174C/G) у пацієнтів з гострим бруцельозом.

Матеріали та методи. В статті представлені результати обстеження 120 хворих з гострим бруцельозом. Контрольну групу склали 30 практично здорових осіб. Пацієнти обох груп є етнічними азербайджанцями, які постійно проживають в республіці Азербайджан. Діагноз бруцельозу виставлявся на основі скарг, анамнезу, епідеміологічних і клінічних даних та результатів специфічного дослідження. Специфічні методи дослідження проводилися методом ІФА 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. Всім пацієнтам було проведено визначення поліморфізму IL-6(-174C/G). Критеріями виключення з дослідження були вік до 18 років, підтвердження діагнозу підгострого чи хронічного бруцельозу, наявність важкої хронічної супутньої патології, яка б суттєво могла вплинути на достовірність отриманих результатів. Представлена детальна характеристика пацієнтів з бруцельозом. Серед обстежених осіб переважали чоловіки, особи молодого працездатного віку. Критерієм важкості слугували наступні симптоми: лихоманка, пітливість, озноб, головний біль, безсоння, зниження артеріального тиску, тахікардія, гепатоспленомегалія, рівні прозапальних та протизапальних цитокінів. **Результати.** Легкий ступінь захворювання був встановлений у 74 (61,7 %) осіб, тоді як важкий – лише у 11 (9,1 %) пацієнтів. Не було виявлено статистично достовірних відмінностей між різними генотипами IL-6 між хворими на бруцельоз та здоровими особами. Встановлено, що майже в 3 рази частіше у хворих на гострий бруцельоз виявлявся алель G в порівнянні з алелем C.

Висновки. Статистично достовірної різниці між різними генотипами IL-6(-174 C/G) у пацієнтів з бруцельозом та здоровими особами виявлено не було. Генотип GC IL-6 достовірно частіше асоціювався з важким перебігом бруцельозу, тоді як генотип GG з легким перебігом

Ключові слова: бруцельоз, цитокін, інтерлейкін-6, поліморфізм, ген, ступінь важкості, імунопатогенез, генотип, інтерлейкін-4, сприйнятливість

1. Вступ

Одним з найбільш розповсюдженим зоонозом в світі серед людської популяції залишається бруцельоз [1, 2]. Не дивлячись на широке розповсюдження даної інфекції, виділяють території з вираженою ендемічністю щодо бруцельозу. Це насамперед країни в Середземноморському басейні, Аравійському півострові, індійському субконтиненті, западинах Мексики, Центральної і Південної Америки [3]. Щорічно реєструється приблизно 500000 нових випадків інфікування серед людей [4].

Бруцельоз залишається глобальною проблемою, як охорони здоров'я, так і ветеринарії. Дана хвороба характеризується великим поліморфізмом клінічних проявів, значною кількістю стертих форм, значним відсотком хронізації хвороби, як наслідком інвалідації та втрати працездатності. Причому, як правило на бруцельоз хворіють люди молодого працездатного віку, що лягає тягарем не тільки на систему охорону здоров'я, а й на економіку країн в цілому [5, 6].

В патогенезі бруцельозу значне місце посідає імуноталергічний компонент. При цьому особливе місце належить цитокінам, які є важливим компонентом імунопатогенеза бруцельозу, виконуючи протективну роль шляхом активації як природної так і адаптивної імунної відповіді. Серед цитокінів

основне значення надається інтерлейкінам з прозапальною активністю – IL-1 β , IL-6, TNF- α та протизапальною – IL-4 [7, 8].

Особлива увага приділяється IL-6, який приймає участь в реалізації імунної відповіді та запалення при патологічних процесах та станах різного генезу, в тому числі і при бруцельозі [8].

2. Обґрунтування дослідження

IL-6 – це багатофункціональний цитокін, який відіграє важливу роль у запальних реакціях. Цей цитокін продукується кількома типами клітин, такими як Т-лімфоцити, макрофаги, фібробласти та ендотеліальні клітини [9].

На сьогоднішній день доведена роль поліморфізму гену IL-6 в патогенезі різних захворювань. Зокрема, різні генотипи гену IL-6 можуть бути асоційовані з більш частим враженням серцево-судинної системи, а також більш високим ризиком розвитку ускладнень при цукровому діабеті [10, 11].

Подібні дослідження були також проведені і серед пацієнтів з бруцельозом у різних етнічних групах рядом дослідників. Є дані щодо взаємозв'язку поліморфізму IL-6(-174 C/G) та сприйнятливості до бруцельозу. В той же час ряд досліджень спростовує ці дані [9, 12].

3. Мета дослідження

Визначення поліморфізму IL-6(-174C/G) у пацієнтів з гострим бруцельозом в республіці Азербайджан для встановлення взаємозв'язків щодо сприйнятливості до даної хвороби та різних ступенів важкості.

4. Матеріали і методи

Нами було обстежено 178 хворих з підозрою на бруцельоз, які знаходились на лікуванні в Vaku Clinic та Центральній клінічній лікарні м. Баку протягом 2012–2017 рр. Всі пацієнти дали дозвіл на включення їх в дослідження.

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

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

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

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 чоловіки – 75,0 %.

Критерії виключення з дослідження: особи віком до 18 років, підтвердження діагнозу підгострого чи хронічного бруцельозу, наявність важкої хронічної супутньої патології, яка б суттєво могла вплинути на достовірність отриманих результатів.

Також всім пацієнтам було проведено визначення поліморфізму IL-6(-174C/G). Ампліфікацію ДНК досліджуваних локусів проводили в автоматичному режимі, використовуючи структуру наступних праймерів: F 5'-TGACTTCAGCTTTACTCTTTGT-3' та R 5'-CTGATTGGAAACSTTATTAAG-3'. Після початкової денатурації при 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 гену IL-6 застосовували рестрикційний аналіз ампліконів за допомогою ендонуклеази рестрикції NlaIII та проводили рестрикцію протягом 12 годин при температурі 37 °C. Продукти гідролізу ампліфикованих 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». Використано параметричний тест Стьюдента для порівняння двох незалежних вибірок та одномірний дисперсійний аналіз для порівняння більше як 2 незалежних вибірок. Достовірними вважали значення $p < 0,05$.

5. Результати дослідження

Всі пацієнти основної групи були розподілені на три підгрупи за ступенем важкості: легкої, середньої та важкої. Критерієм важкості слугували наступні симптоми: лихоманка, пітливість, озноб, головний біль, безсоння, зниження артеріального тиску, тахікардія, гепатоспленомегалія, міокардити, перикардити, ендокардити, зміни в загальному аналізі крові, рівні прозапальних та протизапальних цитокінів [13]. Так, легкий ступінь був встановлений у 74 (61,7 %) осіб, середнього ступеня – у 35 (29,2 %) осіб і лише у 11 (9,1 %) пацієнтів стан був важким (рис. 1).

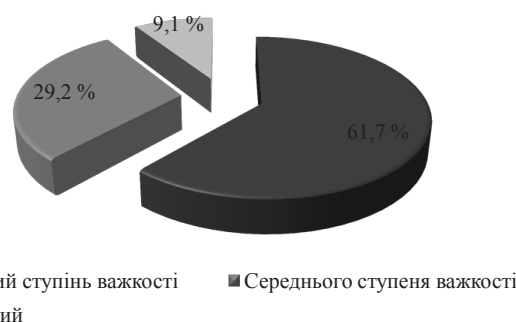


Рис. 1. Розподіл хворих на бруцельоз в залежності від ступеня важкості.

Аналізуючи поліморфізм IL-6(-174 C/G) нами не виявлено статистично достовірних відмінностей між різними генотипами IL-6 між хворими на бруцельоз та здоровими особами. Встановлено, що майже в 3 рази частіше у хворих на гострий бруцельоз виявлявся алель G в порівнянні з алелем C ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1
Частота виявлення поліморфізму (-174 C/G) гену IL-6 у хворих на гострий бруцельоз та здорових осіб

Генотипи та алелі IL-6(-174 C/G)	Хворі на бруцельоз (n=120)		Здорові особи (n=30)	
	Абс.	%	Абс.	%
GG	68	56,7	69	57,5
GC	42	35,0	45	37,5
CC	10	8,3	6	5,0
Алель G	178	74,2	183	76,3
Алель C	62	25,8*	57	23,7

Примітка: * – $p < 0,05$ – між хворими на гострий бруцельоз та здоровими особами

Враховуючи дані колективу авторів Ilkay Karaoglan et al., 2009, які встановили, що полімор-

фізм IL-6(-174) GC асоціюється з підвищеним ризиком розвитку важких ускладнених форм бруцельозу [14], наступним кроком нашого дослідження стала оцінка взаємозв'язку поліморфізму IL-6(-174 C/G) з ступенем важкості бруцельозу. Так, нами було встановлено, що генотип GC достовірно частіше зустрічався у пацієнтів з важким перебігом бруцельозу в порівнянні з хворими на бруцельоз з легким перебігом, тоді як генотип GG в 7 разів частіше зустрічався у пацієнтів з легким перебігом в порівнянні з хворими на важкий перебіг ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблиця 2

Частота виявлення поліморфізму (-174 C/G) гену IL-6 у хворих на бруцельоз

Генотипи IL-6(-174 C/G)	Хворі на бруцельоз (n=120)					
	Легкий ступінь (n=74)		Середнього ступеня важкості (n=35)		Важкий ступінь (n=11)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
GG	47	63,5*	20	57,1	1	9,1*
GC	22	29,7*	11	31,4	9	81,8*
CC	5	6,8	4	11,5	1	9,1

Примітка: * – $p < 0,05$ – між хворими на бруцельоз з різними ступенями важкості

6. Обговорення результатів дослідження

Роль поліморфізму IL-6 та його взаємозв'язок з бруцельозом є неоднозначним. Так, в більшості досліджень, які були проведені серед турецької та іранської популяції не було встановлено асоціацій між поліморфізмом гену IL-6 та сприйнятливості до бруцельозу. Так, Sadaf Asaei та et al. 2013, проаналізували 196 пацієнтів з бруцельозом та 82 особи контрольної групи та встановили, що саме поліморфізм гену IL-8, а не IL-6 являє собою фактор чутливості до бруцельозу [9].

Такі ж дані щодо відсутності взаємозв'язку між поліморфізмом гену IL-6 та бруцельозом було зафіксовано колективом авторів Ozgur Gunal et al. 2017 [15].

Відмінні дані отримали Budak et al. 2009, так їм вдалося встановити взаємозв'язок між поліморфізмом IL-6(-174 C/G) та бруцельозом. А саме, що генотипи (GG та CG) IL-6 були більш поширені у пацієнтів з бруцельозом у порівнянні з контрольною групою здорових осіб. Також автори зробили висновок, що поліморфізми гену IL-6 можуть впливати на сприйнятливості до бруцельозу та розглядатися як генетичний фактор ризику розвитку фульмінантної форми хвороби. Подібні результати отримали Ilkay Karaoglan et al., 2009, а саме генотип GC IL-6 (-174) може бути фактором ризику розвитку вогнищевих ускладнень бруцельозу, тоді як генотип GG може бути захисним чинником проти даної інфекції [14].

Деякі наші результати співпадають з даними отриманими вищенаведеними дослідниками, так ми не знайшли різницю між поліморфізмом IL-6(-174 C/G) між групами хворих на бруцельоз та здоровими особами. Хоча нам вдалося встановити взаємозв'язок між поліморфізмом IL-6(-174 C/G) та ступенями важкості бруцельозу.

Враховуючи проаналізовані літературні дані та отримані нами дані, вважаємо, що неоднозначність отриманих результатів може бути пов'язана з різноманітністю етнічних груп, які приймали участь в дослідженнях.

7. Висновки

1. Поліморфізм IL-6(-174 C/G) достовірно не відрізняється у пацієнтів з бруцельозом та здоровими особами.

2. Встановлено, що генотип IL-6(-174) GC достовірно частіше зустрічається серед пацієнтів з важким перебігом бруцельозу, тоді як генотип GG в 7 разів частіше зустрічається у пацієнтів з легким перебігом ($p \geq 0,05$)

References

- Pappas G., Memish Z. A. Brucellosis in the Middle East: A Persistent Medical, Socioeconomic and Political Issue // Journal of Chemotherapy. 2007. Vol. 19, Issue 3. P. 243–248. doi: <http://doi.org/10.1179/joc.2007.19.3.243>
- Doganay M., Aygen B. Human brucellosis: an overview // International Journal of Infectious Diseases. 2003. Vol. 7, Issue 3. P. 173–182. doi: [http://doi.org/10.1016/s1201-9712\(03\)90049-x](http://doi.org/10.1016/s1201-9712(03)90049-x)
- Brucellosis in low-income and middle-income countries / Rubach M. P. et. al. // Current Opinion in Infectious Diseases. 2013. Vol. 26, Issue 5. P. 404–412. doi: <http://doi.org/10.1097/qco.0b013e3283638104>
- Diagnosis of clinical and laboratory findings of brucellosis in Isfahan / Nourbakhsh F. et. al. // International Archives of Health Sciences. 2017. Vol. 4, Issue 2. P. 48. doi: http://doi.org/10.4103/iahs.iahs_1_17
- Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature / Buzgan T. et. al. // International Journal of Infectious Diseases. 2010. Vol. 14, Issue 6. P. e469–e478. doi: <http://doi.org/10.1016/j.ijid.2009.06.031>
- Brucellosis: a retrospective evaluation of 164 cases / Kazak E. et. al. // Singapore Medical Journal. 2016. Vol. 57, Issue 11. P. 624–629. doi: <http://doi.org/10.11622/smedj.2015163>
- Pathogenesis and Immunobiology of Brucellosis / De Figueiredo P. et. al. // The American Journal of Pathology. 2015. Vol. 185, Issue 6. P. 1505–1517. doi: <http://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.03.003>
- Human Brucellosis Is Characterized by an Intense Th1 Profile Associated with a Defective Monocyte Function / Rodriguez-Zapata M. et. al. // Infection and Immunity. 2010. Vol. 78, Issue 7. P. 3272–3279. doi: <http://doi.org/10.1128/iai.01385-09>
- Asaei S., Rasouli M., Moravej A. Interleukin-8 but not interleukin-6 variant may affect susceptibility to brucellosis // Iranian Journal of Immunology. 2013. Vol. 10, Issue 3. P. 158–166. URL: http://iji.sums.ac.ir/article_16830.html

10. The -174G>C IL-6 Gene Promoter Polymorphism and Diabetic Microvascular Complications / Rudofsky Jr. G. et. al. // Hormone and Metabolic Research. 2009. Vol. 41, Issue 4. P. 308–313. doi: <http://doi.org/10.1055/s-0028-1119373>
11. Inflammatory cytokine gene variants in coronary artery disease patients in Greece / Manginas A. et. al. // Coronary Artery Disease. 2008. Vol. 19, Issue 8. P. 575–582. doi: <http://doi.org/10.1097/mca.0b013e32831286e8>
12. IL-10 and IL-6 gene polymorphisms as potential host susceptibility factors in Brucellosis / Budak F. et. al. // Cytokine. 2007. Vol. 38, Issue 1. P. 32–36. doi: <http://doi.org/10.1016/j.cyto.2007.04.008>
13. Белозеров Е. С. Бруцеллез. Ленинград: Медицина, 1985. 184 с.
14. TNF-alpha, TGF-beta, IL-10, IL-6 and IFN-gamma gene polymorphisms as risk factors for brucellosis / Karaoglan I. et. al. // New Microbiologica. 2009. Vol. 32, Issue 2. P. 173–178. URL: http://www.newmicrobiologica.org/pub/allegati_pdf/2009/2/173.pdf
15. The IL4-VNTR P1 Allele, IL4-VNTR P2P2 Genotype, and IL4-VNTR_IL6-174CG P2P1-GG Genotype Are Associated with an Increased Risk of Brucellosis / Gunal O. et. al. // Japanese Journal of Infectious Diseases. 2017. Vol. 70, Issue 1. P. 61–64. doi: <http://doi.org/10.7883/yoken.jjid.2015.550>

*Рекомендовано до публікації д-р мед. наук, професор Мороз Л. В.
Дата надходження рукопису 25.10.2018*

Гусейнов Ельчин Мамед огли, кандидат медичних наук, доцент, кафедра інфекційних хвороб, Азербайджанський медичний університет, вул. Бакиханова, 23, Нарімановській район, м. Баку, Азербайджан, AZ1022
E-mail: elchinhuseynov@mail.ru

УДК: 616.12-008.331.1:616.151.5:616.153.857

DOI: 10.15587/2519-4798.2018.148791

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН АНТИКОАГУЛЯНТНОЇ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ З СУПУТНЬОЮ ГІПЕРУРИКЕМІЄЮ

© М. С. Валігура

Метою дослідження було вивчення стану антикоагулянтної та фібринолітичної ланок системи гемостазу у пацієнтів з гіпертонічною хворобою, асоційованою з гіперурикемією.

Матеріали та методи. Нами було обстежено 133 хворих (80 – чоловічої статі та 53 – жіночої статі), середній вік яких склав $56,19 \pm 7,29$ років, усіх хворих було розподілено на 3 групи. Першу основну групу склали 54 хворих на артеріальну гіпертензію з супутньою гіперурикемією, другу групу склали 50 хворих на артеріальну гіпертензію з нормальним рівнем сечової кислоти і третю – 15 осіб з гіперурикемією без підвищення рівня АТ, контрольну групу склали 14 практично здорових осіб співставних за віком та статтю. Гіперурикемія визначалася при рівні сечової кислоти >7 мг/дл (>413 мкмоль/л). Активність антикоагулянтної та фібринолітичної ланок гемостазу вивчалася внаслідок проведення спеціальних лабораторних досліджень: антитромбін III, протеїн С, плазміноген та ХІІа-залежний фібриноліз. Для аналізу даних використовувались непараметричні методи статистики: U-Манна-Уїтні, вірогідними вважалися відмінності при $p < 0,05$.

Результати. При обстеженні пацієнтів ми виявили пригнічення активності антитромбіну III було більшим у I групі хворих на 23 %, по відношенню до групи контролю, в той час як міжгруповою відмінністю (I і II група хворих) склали 18,3 %. Активність протеїну С в I групі була знижена на 25,7 % порівняно з групою контролю та на 14,8 % менше за показники II групи. При порівнянні показників протизгортуючого потенціалу крові груп пацієнтів між собою визначено, що рівень АТ III був найнижчим у пацієнтів з I групи, а саме на 18,3 % при порівнянні з III групою ($p < 0,001$), та на 23,1 % при порівнянні з II групою ($p < 0,001$). Показник ПС був найнижчим у пацієнтів I групи на 14,8 % в порівнянні з III групою ($p < 0,001$), та на 25,7 % при порівнянні з II групою ($p < 0,001$).

Плазміноген (ПГ) був пригнічений у всіх групах пацієнтів: при ГХ на 16,7 % ($p < 0,01$), при гіперурикемії на 32,1 % ($p < 0,001$), при ГХ з супутньою гіперурикемією на 26,7 % ($p < 0,001$). Також було виявлене значне підвищення активності показників ХЗФ. У I групі в порівнянні з контрольною групою на 28,9 % ($p < 0,001$), у II групі пацієнтів цей показник виявився в 2,2 рази більшим, ніж у пацієнтів контрольної групи ($p < 0,001$), у III групі пацієнтів в 2,8 рази ($p < 0,001$).

Висновок. При гіпертонічній хворобі без супутньої гіперурикемії відмічалася зниження рівня АТ III та протеїну С, які відображують протизгортуючий потенціал плазми крові, а у хворих на гіпертонічну хворобу, асоційовану супутньою гіперурикемією спостерігалася, ще більше зниження показників антикоагулянтної ланки плазмове гемостазу та подовження часу фібринолізу

Ключові слова: гіперурикемія, артеріальна гіпертензія, антитромбін III, протеїн С, ХІІ а-залежний фібриноліз, атеросклероз