

DOI: 10.31082/1728-452X-2019-208-209-10-11-12-17

УДК 16.36-006-002-616-056.71

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА (-607A/C) ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-18 НА ПРОГРЕССИРОВАНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В И ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В С ДЕЛЬТА-АГЕНТОМ В КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Бибигуль С. ИЛЪЯСОВА^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-4468-593X>,
Айнур Р. АКИЛЬЖАНОВА³,
Даурен А. ЕРЕЖЕПОВ³,
Балжан С. АБЖАПАРОВА¹, <https://orcid.org/0000-0001-9790-8151>,
Болатбек Б. БАЙМАХАНОВ¹, <https://orcid.org/0000-0002-9839-6853>

¹АО «Национальный научный центр хирургии им. А.Н. Сызганова», г. Алматы, Республика Казахстан,

²НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова», г. Алматы, Республика Казахстан,

³АО «Назарбаев Университет», г. Нур-Султан, Республика Казахстан



Ильясова Б.С.

8-летний опыт работы Трансплантационного Центра в г. Алматы показал, что из 146 реципиентов 50 пациентов имели цирроз и/или гепатоцеллюлярный рак в исходе хронического гепатита В+D. Различия в клиническом исходе инфекции вируса гепатита В определяются вирусологическими, иммунологическими и генетическими факторами хозяина. Предполагается, что IL-18 играет важную роль в развитии хронических воспалительных заболеваний, таких как хронический вирусный гепатит. SNP в промоторе гена IL-18 в положениях -607 оказывает критическое влияние на активность гена IL-18.

Цель исследования. Изучить связь между однонуклеотидным полиморфизмом промотора гена IL-18 (-607A/C) и прогрессированием ХГВ и ХГВ+D в казахской популяции.

Материал и методы. В исследование были включены 115 пациентов с диагнозом: хронический вирусный гепатит В с дельта-агентом (ХГВ + D) и 91 пациент с ХГВ, а также 100 здоровых доноров. Исследования пациентов включали: общее клиническое обследование, биохимический анализ крови, непрямую эластометрию печени, ПЦР для вируса гепатита В (HBV) и вируса гепатита (HDV), также определяли уровни цитокинов и профибротических факторов в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа, генетическое исследование определить полиморфизм гена интерлейкина-18 (-607C/A).

Результаты и обсуждение. A/A-генотип преобладал в группе пациентов с ХГВ+D по сравнению с группой здоровых доноров ($p=0,001$). Наличие A/A генотипа промотора ИЛ-18 (-607) в группе пациентов с вирусным гепатитом В с дельта-агентом статистически значимо ассоциировано со стадией фиброза (при циррозе шансы на наличие A/A в 14,73 раза выше (95% ДИ 1,78-122,2). Обнаружена положительная корреляционная связь наследования аллели А промотора ИЛ18rs1946518 с наличием цирроза у пациентов с хроническим вирусным гепатитом В с дельта-агентом ($P=0,020$), а также в общей когорте пациентов (ХГВ и ХГВ+D) ($p=0,019$).

Вывод. Прогрессирование фиброза и наличие цирроза в исходе ХГВ+D в казахской популяции связано с наследованием генотипа A/A и аллеля А промотора IL-18 (-607).

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит В с дельта-агентом, HDV, интерлейкин-18, полиморфизм гена.

Контакты: Ильясова Бибигуль Сапарбековна, главный научный сотрудник. Гепатолог гепатопанкреатобилиарной хирургии и трансплантации печени, АО «Научный центр хирургии им. А.Н. Сызганова», г. Алматы, ул. Желтоқсан, 62. E-mail: bs-hepatolog@mail.ru

Contacts: Bibigul S. Ilyassova, PhD, Associate Professor, Senior Research Hepatologist of Department of Hepatopancreatobiliary Surgery and Liver Transplantation of A.N. Syzganov's National Scientific Center of Surgery, Almaty. E-mail: bs-hepatolog@mail.ru

Поступила: 05.12.19

Для цитирования: Ильясова Б.С., Акильжанова А.Р., Ережепов Д.А., Абжапарова Б.С., Баймаханов Б.Б. Изучение влияния полиморфизма (-607A/C) гена интерлейкина-18 на прогрессирование хронического вирусного гепатита В и хронического вирусного гепатита В с дельта-агентом в казахской популяции // Медицина (Алматы). - 2019. - №10-11 (208-209). - С. 12-17. (In Russ). DOI: 10.31082/1728-452X-2019-208-209-10-11-12-17

Т Ы Ж Ы Р Ы М

ҚАЗАҚ ПОПУЛЯЦИЯЛАРЫНДАҒЫ ДЕЛЬТА-АГЕНТІ БАР СОЗЫЛМАЛЫ В ВИРУСТЫҚ ГЕПАТИТІНІҢ ЖӘНЕ СОЗЫЛМАЛЫ В ВИРУСТЫҚ ГЕПАТИТІНІҢ АСҚЫНУЫНА ИНТЕРЛЕЙКИН-18 (-607A/C) ГЕНІ ПОЛИМОРФИЗМІНІҢ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ

Бибигүл С. ИЛІЯСОВА^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-4468-593X>,
Айнур Р. АҚЫЛЖАНОВА³,
Дәурен А. ЕРЕЖЕПОВ³,
Балжан С. ӘБЖАПАРОВА¹, <https://orcid.org/0000-0001-9790-8151>,
Болатбек Б. БАЙМАХАНОВ¹, <https://orcid.org/0000-0002-9839-6853>

Рецензент: Чуланов Владимир Петрович, д-р мед. наук, заведующий научно-консультативным клинико-диагностическим центром, ФБУН «Центрального НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора. Член EASL, г. Москва.

Понежева Понежева Жанна Бетовна, доктор медицинских наук, заведующая клиническим отделом инфекционной патологии ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт Эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора), г. Москва.

¹«А.Н. Сызганов атындағы Ұлттық ғылыми хирургия орталығы» АҚ,
Алматы қ., Қазақстан Республикасы

²«С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті» КеАҚ,
Алматы қ., Қазақстан Республикасы,

³«Назарбаев Университеті» АҚ, Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан Республикасы

Алматы қаласының Трансплантациялық Орталығындағы 8 жылдық жұмыс тәжірибесі 146 реципиенттің қатарындағы 50 пациентте соңында созылмалы В+D гепатитіне айналатын цирроз және/немесе гепатоцеллюлярлық қатерлі ісік бар екенін көрсетті. В вирустық гепатиті инфекциясының клиникалық нәтижесіндегі айырмашылық вирус иесінің вирусологиялық, иммунологиялық және генетикалық факторлары арқылы анықталады. Болжам бойынша, созылмалы вирустық гепатит сияқты созылмалы қабынбалы аурулардың дамуында IL-18 аса маңызды рөл атқарады – 607 жағдайындағы IL-18 генінің промоторындағы SNPL-18 генінің белсенділігіне қауіпті әсер етеді.

Мақсаты. Қазақ популяцияларындағы СВГ және СВГ+D асқынуы мен IL-18 (-607A/C) гені промоторының бір нуклеотидті полиморфизмінің арасындағы байланысты зерттеу.

Материал және әдістері. Зерттеуге дельта-агенті бар созылмалы В вирустық гепатиті диагнозы қойылған 115 пациент және СВГ-сы бар 91 пациент, сондай 100 сау донор алынды. Байқау мыналарды қамтыды: жалпы клиникалық тексеру, қанның биохимиялық талдауы, бауырдың түзу емес эластометриясы, В (HBV) вирустық гепатитіне және (HDV) вирустық гепатитіне ПТР. Сондай-ақ қанның сарысуындағы цитокиндердің және профибротикалық факторлардың деңгейі анықталып, интерлейкин-18 (-607 C/A) генінің полиморфизміне генетикалық, зерттеу жүргізілді.

Нәтижелері және талқылауы. ($p=0,001$) сау донорлардың тобымен салыстырғанда, СВГ+D тобындағы пациенттерде А/А-генотипі басым болды. Дельта-агенті бар В вирустық гепатитіне шалдыққан пациенттердің тобында ИЛ-18 (-607) промотор А/А генотипінің болуы статистикалық тұрғыдан фиброз (цирроз кезінде А/А болуының мүмкіндігі 14,73 есе жоғары (95% ДИ 1,78-122,2) деңгейімен байланыстырылады. ($P=0,02$) дельта-агенті бар созылмалы В вирустық гепатитіне шалдыққан пациенттерде, сондай-ақ (СВГ и СВГ+D) ($p=0,019$) пациенттерінің жалпы шоғырында цирроздың болуының және ИЛ18rs1946518 промоторының А аллелінің тұқым қуалаушылығының арасында оң корреляциялық байланыс анықталды.

Қорытынды. Қазақ популяцияларындағы СВГ+D-ға айналатын цирроздың болуы мен фиброздың асқынуы А/А генотипінің және IL-18 (-607) промоторының А аллелінің тұқым қуалаушылығымен байланысты.

Негізгі сөздер: созылмалы вирусты гепатит В дельта агентімен, HDV, интерлейкин-18, гендік полиморфизм.

SUMMARY

THE STUDY OF THE EFFECT OF POLYMORPHISM (-607A/C) OF THE INTERLEUKIN-18 GENE ON THE PROGRESSION OF CHRONIC VIRAL HEPATITIS B AND CHRONIC VIRAL HEPATITIS B WITH A DELTA AGENT IN THE KAZAKH POPULATION

Bibigul S ILYASSOVA^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-4468-593X>,
Aynur R AKILZHANOVA³,
Dauren A YEREZHEPOV³,
Balzhan S ABZHAPAROVA¹, <https://orcid.org/0000-0001-9790-8151>,
Botatbek B BAYMAKHANOV¹, <https://orcid.org/0000-0002-9839-6853>

¹A.N. Syzganov National Scientific Center of Surgery, Almaty, Republic of Kazakhstan,

²Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Republic of Kazakhstan,

³Nazarbayev University, Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

The 8-year experience of the transplant Centre in Almaty has shown that out of 146 recipients, 50 patients had cirrhosis and/or HCC in the outcome of chronic hepatitis D (CHB+D). The variation in clinical outcome of hepatitis B virus (HBV) infection is determined by virological, immunological and host genetic factors. IL-18 is suggested to play an important role in the development of chronic inflammatory diseases such as chronic viral hepatitis. The SNP in the IL-18 gene promoter at positions -607 has a critical effect on the activity of the IL-18 gene.

Objective. To study the association between single nucleotide polymorphism of the IL-18 gene promoter (-607A/C) and the progression of chronic HBV and HDV infection in the Kazakh population.

Material and methods. The study included 115 patients diagnosed with CHB+D and 91 patients with chronic viral hepatitis B (CHB), as well as 100 healthy donors. The exams included: general clinical examination, biochemical analysis of blood, indirect liver elastometry, PCR for hepatitis B virus (HBV) and hepatitis delta virus (HDV), the levels of cytokines and profibrotic factors in blood serum were also determined, a genetic study to determine the polymorphism of the gene for interleukin-18 (-607C/A).

Results and discussion. A/A genotype prevailed in the group of patients with CHB+D compared with the group of healthy donors ($p = 0.001$). The presence of A/A of the IL-18 promoter genotype (-607) in the group of patients with viral hepatitis B with a delta agent is statistically significantly associated with the stage of fibrosis (with cirrhosis, the chances of having A/A are 14.73 times higher (95% CI 1, 78-122.2). A positive correlation was found between the inheritance of allele A of IL18rs1946518 promoter and the presence of cirrhosis in patients with chronic viral hepatitis B with delta agent ($P=0.020$), as well as in the general cohort of patients (CHB and CHB+D) ($p=0.019$).

Conclusion. The progression of fibrosis and the presence of cirrhosis in outcome of CHB+D in the Kazakh population is associated with the inheritance of the A/A genotype and the A allele of the IL-18 promoter (-607).

Keywords: chronic viral hepatitis B with delta agent, HDV, interleukin-18, gene polymorphism.

For reference: Ilyassova BS, Akilzhanova AR, Yerezhepov DA, Abzhaparova BS, Baymakhanov BB. The study of the effect of polymorphism (-607A/C) of the interleukin-18 gene on the progression of chronic viral hepatitis B and chronic viral hepatitis B with a delta agent in the Kazakh population. *Meditsina (Almaty) = Medicine (Almaty)*. 2019;10-11(208-209):12-17. (In Russ). DOI: 10.31082/1728-452X-2019-208-209-10-11-12-17

8-летний опыт работы Трансплантационного Центра в г. Алматы показал, что из 146 реципиентов 50 пациентов имели цирроз и/или гепатоцеллюлярный рак в исходе хронического гепатита В с дельта-агентом D (ХГВ+D) [1]. Различия в клиническом исходе инфекции вируса гепатита В (ВГВ) и ХГВ+D определяются вирусологическими, иммунологическими и генетическими факторами хозяина.

IL-18 играет важную роль в развитии хронических воспалительных заболеваний, таких как хронический вирусный гепатит. SNP в промоторе гена IL-18 в положениях -607 оказывает критическое влияние на активность гена IL-18. Предполагается, что SNP в промоторе гена IL-18 в положениях -607 оказывают критическое влияние на активность гена IL-18, что приводит к разному уровню продукции IL-18. Поскольку IL-18 играет важную роль в защите хозяина от HBV-инфекции, предполагается, что разница в уровне его продукции связана с исходом HBV [2, 3]. Исследования в тайской популяции показали, что генотип -607A/A был значительно выше у пациентов с хроническим гепатитом В, чем в контрольной группе. Они предположили, что генотип -607A/A, вероятно, приводит к заметно более низкой транскрипционной активности и более низкой продукции IL-18 из печеночного макрофага в печени, что приводит к снижению ингибирования репликации HBV [4]. В настоящее время исследований о влиянии полиморфизмов гена интерлейкина-18 на прогрессирование хронического гепатита В с дельта-агентом нет.

Целью данного фрагмента исследования является изучение ассоциации между однонуклеотидным полиморфизмом промотора гена IL-18 (-607A/C) и прогрессированием ХГВ и ХГВ+D в казахской популяции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 115 пациентов с диагнозом: хронический вирусный гепатит В с дельта-агентом (ХГВ+D) и 91 пациент с хроническим вирусным гепатитом В (ХГВ). Пациенты находятся на диспансерном учете в региональных Гепатологических центрах г. Алматы, Туркестанской области, Жамбылской области, г. Нур-Султан, Кызылординской, Восточно-Казахстанской и Павлодарской областей, а также 100 здоровых доноров (рис. 1). Диагнозы ХГВ и ХГВ+D были выставлены пациентам в соответствии с казахстанским клиническим протоколом и клиническим протоколом Европейской ассоциации по изучению печени (EASL2017).

В обследование пациентов были включены: общеклиническое обследование, биохимический анализ крови, непрямая эластометрия печени, ПЦР на вирус гепатита В (HBV) и вирус гепатита дельта (HDV), также были определены уровни цитокинов и профибротических факторов

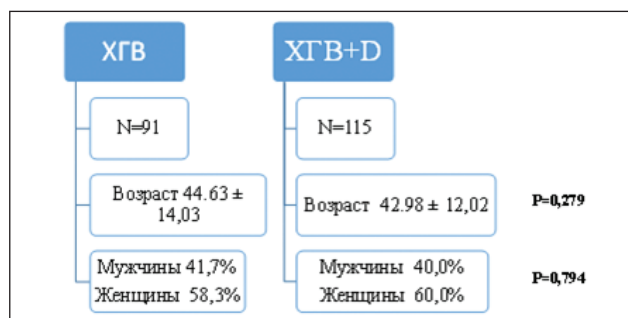


Рисунок 1 - Распределение пациентов по группам

в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа, генетическое исследование на определение полиморфизма гена интерлейкина-18 (-607C/A). Исследование проводилось с сентября 2017 года по 2019 год.

В работе также были использованы следующие методы: выделение ДНК, определение концентрации ДНК, электрофорез в 1-1,5% агарозном геле для качественного анализа ДНК, дизайн праймеров, полимеразно-цепная реакция в режиме реального времени – ПЦР realtime и статистический анализ.

Для выделения ДНК был использован Wizard® Genomic DNA Purification kit (Promega) с модификацией (Miller S.A. et al., 1988). Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре (NanoDrop2000). Качественное определение концентрации ДНК проводилось методом электрофореза на наличие ДНК в электрофоретическом аппарате BioRad Electrophoretic bath при напряжении 120 В в течение 20 минут. Для электрофореза использовали 1,5% агарозный гель в 1xTAE-буфере. Гели агарозы окрашивали бромистым этидием в концентрации 1 мг/см³ и документировали в УФ-свете на аппарате GelDocXR, BioRad, USA (рис. 2).

Количественно концентрацию ДНК измеряли на спектрофотометре NanoDrop 2000. Концентрация ДНК в образцах крови была определена с помощью измерения ее оптической плотности при 260 нм спектрофотометром Nanodrop 2000. Степень очистки образцов ДНК от белковых примесей определяли, используя соотношение между оптической плотностью при 260 и 280 нм. Средние значения концентраций были определены в диапазоне 2 - 132,2 ng/ul. OD260 было в диапазоне 0,04-1,83, OD280 0,0144 - 1,3. Конструирование специфических праймеров проводили с использованием программ Primer 3 v. 0.4.0, EasyExonPrimer и других. Для каждого гена и их отдельных фрагментов подбор праймеров проводят на определенные участки генома. При конструировании олигонуклеотидов подбирают основные параметры, предъявляемые к праймерам для отработки ПЦР. ПЦР амплификация: полиморфизм гена интерлейкина-18 (-607C/A) определяли с помощью ПЦР в режиме реального

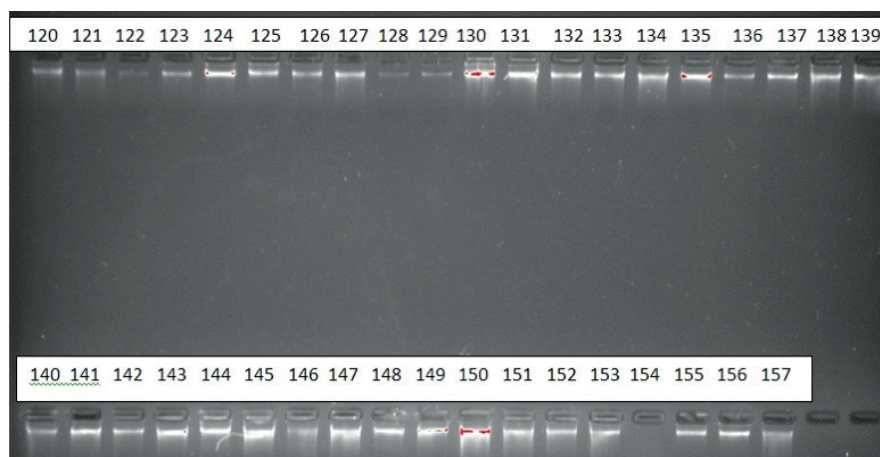


Рисунок 2 - Электрофорез на наличие ДНК

времени с использованием системы аллельной дискриминации TaqMan (SNP Genotyping Assays, Applied Biosystems).

Статистический анализ проводился с помощью программы SPSS.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из общего числа больных с ХГВ ($n=91$) - 99,1% пациентов HBeAg-отрицательные, и только у 3-х пациентов (0,9%) HBeAg-положительные. У пациентов с ХГВ 6 пациентов имели вирусную нагрузку менее 2000 МЕ. На стадии фиброза печени F0 (Metavir) было 53,8% пациентов с ХГВ, F1 - 11,3%, F2 - 7%, F3 - 9,1%, F4 - 18,8% пациентов (рис. 3).

В группе с ХГВ+D у 40,5% диагностировали стадию фиброза F4, 14,7% - F3, 14,7% - F2, 6,9% - F1, 23,3% - F0.

Среднее значение уровня интерлейкина-18 в сыворотке

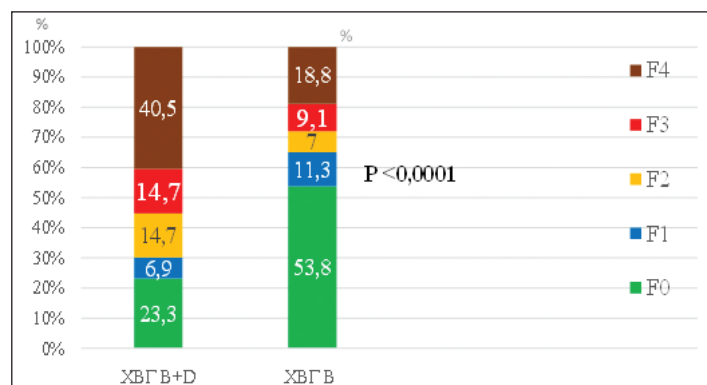


Рисунок 3 - Результаты эластометрии печени у пациентов с вирусным гепатитом В с дельта-агентом (ХГВ+D) и вирусным гепатитом В без дельта-агента (ХГВ)

Таблица 1 - Результаты исследования уровней цитокинов в зависимости от наследования генотипов интерлейкина-18 (А/С-607) у пациентов с ХГВ, ХГВ+D

Группа	Генотип	N	Концентрация в сыворотке крови					
			ИЛ10, пг/мл	ИЛ4, пг/мл	ФНО, пг/мл	ИЛ18, пг/мл	ИЛ17, пг/мл	TGFβ1, нг/мл
ХГВ	С/А	32	102,10	14,41	11,36	330,75	25,66	50,61
	А/А	96	67,23	1,78	15,75	237,13	22,89	45,54
ХГВ+D	С/А	22	6,45*	21,9	20,35	161,67	21,35	113,86
	А/А	71	30,97*	6,50	19,54	220,20	25,12	49,85

* $P=0,036$

крови у пациентов с вирусным гепатитом В составило $330,75 \pm 53,1$ пг/мл и оказалось достоверно выше, чем в группе пациентов с вирусным гепатитом В с дельта-агентом - $161,67 \pm 34,8$ пг/мл ($P=0,017$). Также были определены уровни цитокинов в крови в зависимости от наследования генотипов промотора ИЛ-18 (-607) (табл. 1).

Наши исследования показали, что наследование генотипов А/С, А/А полиморфизма гена ИЛ-18 (-607) достоверно не влияет на уровень интерлейкина-18 в сыворотке крови у пациентов с ХГВ. Аналогичный результат получен в группе пациентов с ХГВ+D. Наследование

генотипа А/А данного промотора ассоциируется с повышением уровня интерлейкина-10 у пациентов с ХГВ+D ($p=0,0036$).

Частота наследования генотипа А/А полиморфизма гена ИЛ-18 (-607) составила 72,1%, генотипа С/А - 27,9%, достоверно чаще встречается в группе пациентов с ВГВ, чем в группе здоровых доноров ($p=0,001$).

Исследование частоты распределения генотипов полиморфизма гена rs1946518 интерлейкина-18 показало, что частота наследования генотипа А/А в казахской популяции составила 70,4%, генотип А/А преобладал как в группе пациентов с хронической моноинфекцией вирусного гепатита В, так и в группе здоровых доноров.

В группе пациентов с ХГВ 29 пациентов имели генотип А/А, 40 пациентов - А/С, 22 - С/С. При исследовании взаимосвязи наследования различных генотипов rs1946518 (-607) в группе пациентов с вирусным гепатитом В ($n=91$) со стадией фиброза достоверных различий не обнаружено ($p=0,686$). Обнаружена достоверная взаимосвязь наследования генотипа А/А (-607) с вирусной нагрузкой у пациентов с гепатитом В ($p=0,018$). Также обнаружена достоверная взаимосвязь наследования данного генотипа к показателям МНО ($p=0,040$) в группе пациентов с ХГВ.

При оценке распределения генотипов в группе пациентов с ХГВ+D обнаружена достоверная положительная корреляционная связь распределения генотипов С/А, А/А со стадией фиброза ($P=0,013$) (рис. 4).

Наличие А/А генотипа промотора ИЛ-18 (-607) в группе пациентов с вирусным гепатитом В с дельта-агентом статистически значимо ассоциировано

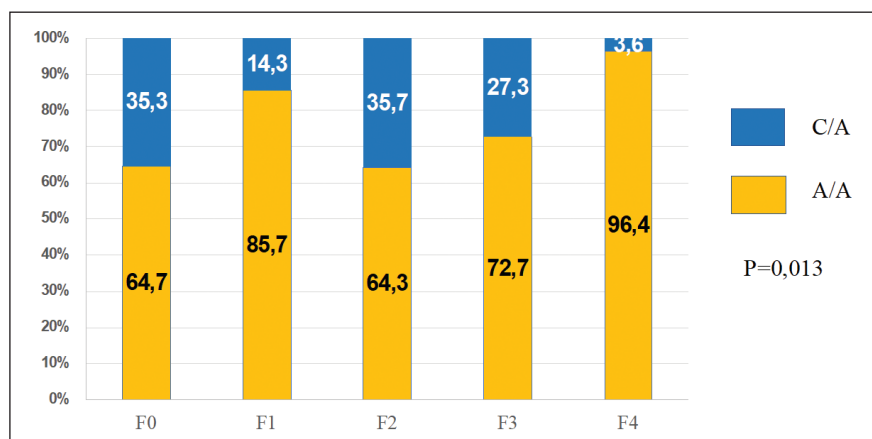


Рисунок 4 - Частота наследования генотипов промотора ИЛ-18 (-607A/C) в зависимости от стадии фиброза для пациентов с вирусным гепатитом В с дельта-агентом в казахской популяции

со стадией фиброза (при 4 стадии фиброза шансы на наличие A/A в 14,73 раза выше (95% ДИ 1,78-122,2)). На основании анализа частоты распределения аллелей у пациентов с наличием цирроза (F4(Metavir) и пациентов со стадией фиброза F0-3(Metavir) и пациентов со стадией фиброза F0-3(Metavir) обнаружена положительная корреляционная связь наследования аллели А промотора ИЛ18rs1946518 с наличием цирроза у пациентов с ХГВ+D ($P=0,020$), а также в общей когорте пациентов (ХГВ и ХГВ+D) ($p=0,019$).

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что активность интерлейкина-18 достоверно снижена у пациентов с ХГВ+D в сравнении с пациентами с ХГВ, существует положительная корреляционная взаимосвязь между наследованием полиморфизма ИЛ-18 (C/A-607) и прогрессированием фиброза у пациентов с вирусным гепатитом В с дельта-агентом в казахской популяции. Наличие цирроза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом В с дельта-агентом ассоциируется с наследованием аллели А промотора ИЛ-18 (C/A-607) у лиц казахской популяции.

Экспериментальные модели показали, что IL-18 способен ингибировать репликацию HBV в печени, особенно в связи с IL-12 [2]. Между тем, было показано, что *in vitro* IL-18 может улучшать моноциты периферической крови (РВМС) у пациентов с хроническим гепатитом В с образованием высокого уровня IFN- γ . Эти результаты позволяют предположить, что данный провоспалительный цитокин может способствовать контролю репликации HBV во время естественной инфекции HBV [3]. Участие IL-18 в иммунном ответе хозяина против инфекции HBV позволяет предположить, что его полиморфизм гена может быть связан с исходом инфекции гепатита В. Принимая это во внимание, возможная роль SNPs области промотора гена IL-18 в прогрессировании хронического гепатита В была исследована в ряде недавних исследований [4, 5].

В исследованиях Хрипка и соавт. [6], проведен анализ влияния полиморфных вариантов в области промотора гена IL-18 при -607 A $\rightarrow$ C на продукцию белка IL-18

РВМС здоровых доноров. Обнаружено, что уровень спонтанной секреции IL-18 у носителей -607A/A ниже по сравнению с носителями C/A и C/C. В японской популяции генотипы GG, GC и CC были обнаружены в положении -137 промотора с частотами 75,4%, 23,1% и 1,2% соответственно; генотипы AA, AC и CC в положении -607 имели частоты 43,9%, 39,2% и 16,9% соответственно [7]. Частота генотипов в китайской популяции составила -137GG, 67,3%; -137GC, 30%; -137CC, 2,7%; -607AA, 24,7%; -607AC, 53,3%; и -607CC, 22% [8]. Для европейских популяций из Швейцарии [9] и Италии [10] характерные частоты генотипов -137GG, -137GC и -137CC составили 54,1% и 48,3%, 38,7% и 43,8% и 7,2% и 7,9% соответственно. Генотипы IL-18 в положении промотора -607 были обнаружены в итальянской популяции со следующими показателями: AA 23,6%; AC 47,2%; CC 29,2% [10].

Переход от C к A в положении -607 нарушил сайт связывания cAMP-чувствительного элемента, связывающего белок. Переход от C к G в положении -137 изменяет сайт связывания ядерного фактора гистон H4-специфического транскрипционного фактора-1. Предыдущие исследования в китайской популяции дали основания предполагать, что аллель C в положении -137 играет защитную роль против развития хронической инфекции HBV.

Для пациентов с ХГВ казахской популяции характерна высокая частота наследования генотипа A/A - 70,4%, частота наследования генотипа C/A составляет 29,6%. Обнаруженная ассоциация генотипа A/A rs1946518 (-607) с вирусной нагрузкой и МНО у пациентов с гепатитом В, в том числе на стадии цирроза, свидетельствует о влиянии наследования генотипа -607 A/A на прогрессирование хронического гепатита В в казахской популяции, поскольку уровень виремии определяет сценарий развития HBV-инфекции: хроническая HBV-инфекция или хронический вирусный гепатит В, а МНО отражает наличие печеночной недостаточности у пациентов с фиброзом и циррозом печени.

Частота наследования генотипа A/A полиморфизма гена ИЛ18(-607) составила 72,1%, генотипа C/A - 27,9%, достоверно чаще встречается в группе пациентов с ВГБД, чем в группе здоровых доноров ($p=0,001$).

Для пациентов с ХГВ+D характерна низкая спонтанная продукция ИЛ-18 в сравнении с контрольной группой и группой с ХГВ, прогрессирование фиброза и наличие цирроза при ХГВ+D в казахской популяции ассоциируется с наследованием генотипа A/A и аллели А промотора ИЛ-18 (-607).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При исследовании взаимосвязи наследования различных генотипов rs1946518 (-607) и стадии фиброза печени у больных ХГВ ($n=91$) значимых корреляций не обнару-

жено ($p=0,686$), но выявлена достоверная взаимосвязь наличия генотипа A/A (-607) с вирусной нагрузкой ($p=0,018$) и уровнем МНО ($p=0,040$).

Прогрессирование фиброза и наличие цирроза при ХГВ+D в казахской популяции ассоциируются с наследованием генотипа A/A и аллели A промотора ИЛ-18 (-607).

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Авторы не получали гонорар за статью.

Вклад авторов

Ильясова Бибигуль Сапарбековна – разработчик концепции и дизайна исследования, анализ, интерпретация результатов исследования, написание окончательного текста статьи.

Акильжанова Айну – генетические исследования.

Ережесов Даурен – анализ результатов генетических исследований.

Абжапарова Балжан – сбор данных пациентов, создание базы данных для статистической обработки.

Баймаханов Болатбек Бимендиевич – написание драфтового варианта статьи, окончательное утверждение статьи для печати.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Baimakhanov Zh., Kaniev Sh., Doskhanov M., Sadykov Ch., Serikuly E., Skakbayev A., Ilyassova B., Baiguissova D., Seisembaev M., Chormanov A., Baimakhanov B. Evolution of Liver Transplantation in Kazakhstan: Two-Era Experience of a Single Center, the First Report // Transplantation Proceedings. November 2019. – Vol. 51(10). – P. 3360-3363. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2019.07.023>
- 2 Arimitsu J., Hirano T., Higa S., Kawai M., Naka T., Ogata A. et al. IL-18 gene polymorphisms affect IL-18 production capability by monocytes // Biochem Biophys Res Commun. – 2006. – Vol. 342(4). – P. 1413–6. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.02.096. [Indexed for MEDLINE]
- 3 Kimura K., Kakimi K., Wieland S., Guidotti L.G., Chisari F.V. Interleukin-18 inhibits hepatitis B virus replication in the livers of transgenic mice // J Virol. – 2002. – Vol. 76(21). – P. 10702–7. DOI: 10.1128/jvi.76.21.10702-10707.2002 [Indexed for MEDLINE]
- 4 Hirankarn N., Manonom C., Tangkijvanich P., Poovorawan Y. Association of interleukin-18 gene polymorphism (-607A/A genotype) with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection // Tissue Antigens. – 2007. – Vol. 70(2). – P. 160–3. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2007.00865.x
- 5 Mahsa Motavaf, Saeid Safari, Seyed Moayed Alavian. Interleukin-18 Gene Promoter Polymorphisms and Susceptibility to Chronic Hepatitis B Infection: A Review Study // Hepat Mon. – 2014 July. – Vol. 14(7). – e19879. DOI: 10.5812/hepatmon.19879
- 6 Khripko O.P., Sennikova N.S., Lopatnikova J.A., Khripko J.I., Filipenko M.L., Khrapov E.A. et al. Association of single nucleotide polymorphisms in the IL-18 gene with production of IL-18 protein by mononuclear cells from healthy donors // Mediators Inflamm. – 2008. – 2008:309721. DOI: 10.1155/2008/309721
- 7 Takada T., Suzuki E., Ishida T., Moriyama H. et al. Polymorphism in RANTES chemokine promoter affects extent of sarcoidosis in a Japanese population // Tissue Antigens. – 2001. – Vol. 58(5). – P. 293–298. DOI: 10.1034/j.1399-0039.2001.580502.x. [Indexed for MEDLINE]
- 8 Zhang P.A., Wu J.M., Li Y., Yang X.S. Association of polymorphisms of interleukin-18 gene promoter region with chronic hepatitis B in Chinese Han population // World Journal of Gastroenterology. – 2005. – Vol. 11(11). – P. 1594–1598. DOI: 10.3748/wjg.v11.i11.1594. [Indexed for MEDLINE]
- 9 Imboden M., Nieters A., Bircher A.J., Brutsche M. et al. Cytokine gene polymorphisms and atopic disease in two European cohorts. (ECRHS-Basel and SAPALDIA) // Clinical and Molecular Allergy. – 2006. – Vol. 4(1, article 9). – P. 1–9. DOI: 10.1186/1476-7961-4-9
- 10 Pratesi C., Bortolin M.T., Bidoli E., Tedeschi R. et al. Interleukin-10 and interleukin-18 promoter polymorphisms in an Italian cohort of patients with undifferentiated carcinoma of nasopharyngeal type // Cancer Immunology, Immunotherapy. – 2006. – Vol. 55(1). – P. 23–30. DOI: 10.1007/s00262-005-0688-z [Indexed for MEDLINE]

REFERENCES

- 1 Baimakhanov Zh., Kaniev Sh., Doskhanov M., Sadykov Ch., Serikuly E., Skakbayev A., Ilyassova B., Baiguissova D., Seisembaev M., Chormanov A., Baimakhanov B. Evolution of Liver Transplantation in Kazakhstan: Two-Era Experience of a Single Center, the First Report // Transplantation Proceedings. Available online 14 November 2019 <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2019.07.023>
- 2 Arimitsu J., Hirano T., Higa S., Kawai M., Naka T., Ogata A. et al. IL-18 gene polymorphisms affect IL-18 production capability by monocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;342(4):1413–6. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.02.096. [Indexed for MEDLINE]
- 3 Kimura K., Kakimi K., Wieland S., Guidotti LG, Chisari FV. Interleukin-18 inhibits hepatitis B virus replication in the livers of transgenic mice. *J Virol.* 2002;76(21):10702–7. DOI: 10.1128/jvi.76.21.10702-10707.2002 [Indexed for MEDLINE]
- 4 Hirankarn N, Manonom C, Tangkijvanich P, Poovorawan Y. Association of interleukin-18 gene polymorphism (-607A/A genotype) with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Tissue Antigens.* 2007;70(2):160–3. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2007.00865.x
- 5 Mahsa Motavaf, Saeid Safari, Seyed Moayed Alavian. Interleukin-18 Gene Promoter Polymorphisms and Susceptibility to Chronic Hepatitis B Infection: A Review Study. *Hepat Mon.* 2014 July;14(7):e19879. DOI: 10.5812/hepatmon.19879 Published online 2014 July 1
- 6 Khripko OP, Sennikova NS, Lopatnikova JA, Khripko JI, Filipenko ML, Khrapov EA, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in the IL-18 gene with production of IL-18 protein by mononuclear cells from healthy donors. *Mediators Inflamm.* 2008;2008:309721. DOI: 10.1155/2008/309721
- 7 Takada T, Suzuki E, Ishida T, et al. Polymorphism in RANTES chemokine promoter affects extent of sarcoidosis in a Japanese population. *Tissue Antigens.* 2001;58(5):293–298. DOI: 10.1034/j.1399-0039.2001.580502.x. [Indexed for MEDLINE]
- 8 Zhang P-A, Wu J-M, Li Y, Yang X-S. Association of polymorphisms of interleukin-18 gene promoter region with chronic hepatitis B in Chinese Han population. *World Journal of Gastroenterology.* 2005;11(11):1594–1598. DOI: 10.3748/wjg.v11.i11.1594. [Indexed for MEDLINE]
- 9 Imboden M, Nieters A, Bircher AJ, et al. Cytokine gene polymorphisms and atopic disease in two European cohorts. (ECRHS-Basel and SAPALDIA). *Clinical and Molecular Allergy.* 2006;4(1,article 9):1–9. DOI: 10.1186/1476-7961-4-9
- 10 Pratesi C, Bortolin MT, Bidoli E, et al. Interleukin-10 and interleukin-18 promoter polymorphisms in an Italian cohort of patients with undifferentiated carcinoma of nasopharyngeal type. *Cancer Immunology, Immunotherapy.* 2006;55(1):23–30. DOI: 10.1007/s00262-005-0688-z [Indexed for MEDLINE]