

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *IL6* У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ С РАЗНЫМИ КЛИНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ

Беляева С.В.

ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Резюме. Во всем мире туберкулез продолжает оставаться одной из самых главных проблем здравоохранения. Согласно многочисленным литературным данным, это генетически детерминированное заболевание, и полиморфизм генов является механизмом, который приводит к прогрессированию от инфицирования к клинической манифестации. В настоящее время широко исследуется ассоциация туберкулеза с полиморфизмом гена *IL6* в позиции -174, который отвечает за низкую продукцию цитокина. Ранее нами была оценена ассоциация аллелей и генотипов гена данного цитокина с предрасположенностью/устойчивостью к туберкулезу у русских Челябинской области. В данном исследовании мы провели сравнение распределения аллелей и генотипов гена *IL6* у больных с разной степенью поражения легких: инфильтративной, очаговой и фиброзно-кавернозной формами туберкулеза. Были использованы следующие методы: выделение образцов ДНК из цельной крови, проведение генотипирования исследуемых полиморфизмов генов с помощью полимеразно-цепной реакции и электрофорез в агарозном геле. Мы установили, что для больных с очаговой формой характерна высокая частота встречаемости генотипа *IL6(-174)*C/C*, связанного с низкой продукцией цитокина, в то время как для больных с тяжелой фиброзно-кавернозной – генотипа *IL6(-174)*G/C*, отвечающего за средний уровень продукции.

Ключевые слова: туберкулез легких, цитокины, полиморфизм генов

ANALYZING *IL6* GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH VARIOUS CLINICAL FORMS OF PULMONARY TUBERCULOSIS

Belyaeva S.V.

Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Throughout the world, tuberculosis still remains one of the most important public health problems. According to numerous publications, TB infection is considered as a genetically determined disease, and host genetical polymorphism underlies a mechanism resulting in disease progression from primary infection to clinical

Адрес для переписки:

Беляева Светлана Валерьевна
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный
университет»
456658, Россия, г. Копейск, мкр Премьера, 22-36.
Тел.: 8 (908) 052-18-66.
E-mail: shshvetlana@yandex.ru

Address for correspondence:

Belyaeva Svetlana V.
Chelyabinsk State University
456658, Russian Federation, Kopeisk,
Microdistrict Premiere, 22-36.
Phone: 7 (908) 052-18-66.
E-mail: shshvetlana@yandex.ru

Образец цитирования:

С.В. Беляева «Анализ полиморфизма гена *IL6* у
больных туберкулезом легких с разными клиническими
формами» // Российский иммунологический журнал,
2020. Т. 23, № 2. С. 191-194.
doi: 10.46235/1028-7221-388-AIG
© Беляева С.В., и соавт., 2020

For citation:

S.V. Belyaeva "Analyzing *IL6* gene polymorphism in patients
with various clinical forms of pulmonary tuberculosis", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 2, pp. 191-194.
doi: 10.46235/1028-7221-388-AIG
DOI: 10.46235/1028-7221-388-AIG

manifestations. Currently, an association between TB infection and *IL6* gene polymorphism at position -174 responsible for low cytokine production has been extensively investigated. Previously, we evaluated the association between *IL6* gene alleles and genotypes and predisposition/resistance to tuberculosis in Russian descendants residing in the Chelyabinsk Region. Here, we conducted a comparative analysis for prevalence of *IL6* gene alleles and genotypes in patients differed in lung damage degree such as infiltrative, focal, and fibrous-cavernous forms of pulmonary tuberculosis by isolating whole blood DNA samples and subsequent genotyping of *IL6* gene polymorphisms with polymerase chain reaction and agarose gel electrophoresis. We found that patients with a focal TB form were characterized by prevalence of *IL6*(-174)*C/C genotype associated with low cytokine production, whereas patients with severe fibrous-cavernous carried *IL6*(-174)*G/C genotype accounting for moderated IL-6 production.

Keywords: tuberculosis, cytokines, genetic polymorphism

Введение

Во всем мире туберкулез продолжает оставаться одной из самых главных проблем здравоохранения. Несмотря на постепенное снижение заболеваемости туберкулезом, ежегодно заболевают более 10 млн. человек и 1,7 млн. погибают от этой инфекции [2, 3]. Туберкулез – это хроническое воспалительное заболевание, вызываемое факультативным патогеном *Mycobacterium tuberculosis*, поражающим макрофаги, в результате взаимодействия с которыми вырабатывается широкий спектр цитокинов, которые, в свою очередь, характеризуют прогрессирование болезни и ее статус в определенный момент времени [8]. Известно, что при тяжелых формах туберкулеза легких наблюдается нарушение баланса цитокинов, что приводит к неспособности организма на полноценный запуск иммунного ответа [2, 4]. Одним из основных цитокинов, участвующих в противотуберкулезном ответе, является *IL6* [9]. Он секретируется клетками, экспрессирующими молекулы Toll-подобного рецептора 2, в ответ на присутствие *Mycobacterium tuberculosis* на ранних стадиях инфекции и участвует в противотуберкулезном иммунитете организма [5]. Известно, что микобактерии усиливают экспрессию *IL6*, и это приводит к повышенным воспалительным реакциям и усилению тяжести заболевания [4]. *IL6*, в отличие от других провоспалительных цитокинов, не так важен для антимикобактериальных эффекторных механизмов, отвечая за контроль роста микобактерий и формирование устойчивости к туберкулезу после инфицирования [5, 9]. Различные эффекты *IL6* связаны с концентрацией цитокина, определяемой полиморфизмами гена. В настоящее время широко исследуется полиморфизм гена *IL6* в позиции -174, который расположен на 7 хромосоме 7p21-p14 в промоторной части гена и отвечает за замену С (цитозина) на G (гуанина), что приводит к снижению продукции цитокина [5, 6]. Данный полиморфизм вовлечен в восприимчивость к туберкулезу во мно-

гих исследованиях в азиатских и латиноамериканских популяциях [5, 7, 9]. Исследование, проведенное в южной бразильской популяции, показало, что минорный аллель *IL6*(-174)*С снижает риск развития туберкулеза [6].

Цель – оценить особенности частоты встречаемости полиморфизма гена *IL6* у больных туберкулезом легких с разными фенотипами заболевания.

Материалы и методы

Выборка больных с туберкулезом легких состояла из 74 человек русской популяции Челябинской области, пациентов ГБУЗ «Челябинский областной клинический противотуберкулезный диспансер».

Выделение геномной ДНК из крови выполняли на колонках согласно инструкции производителя (Ахуген, США). Генотипирование SNPs в гене *IL6*(-174)*G/C осуществляли методом ПЦР (реактивы ООО НПФ «Литех», Москва). Для детекции использовали электрофоретический метод в 3% агарозном геле.

Согласно Российской клинической классификации (Российская клиническая классификация, Приказ МЗ РФ от 21.03.2003 № 109), были выделены группы больных с разными по тяжести формами туберкулеза легких: с очаговой, инфильтративной и фиброзно-кавернозной.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 8.0 for Windows, где использовали критерии Пирсона с поправкой Йейтса и точный двусторонний критерий Фишера, отличия считались значимы при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

На предыдущих этапах работы мы исследовали вклад полиморфизма гена *IL6*(-174)*G/C в формирование предрасположенности к развитию

активного туберкулеза легких и обнаружили, что у больных, характеризующихся бактериовыделением повышена частота встречаемости аллеля G и генотипа G/G в сравнении с больными без бактериовыделения. Между группами больных и контрольной группой достоверные различия не были обнаружены [1].

В настоящей работе мы сравнили частоту аллелей и генотипов гена *IL6* у больных с разной степенью поражения легких: с легкой (очаговый туберкулез) и более тяжелыми (инфильтративный и фиброзно-кавернозный), т.к. по литературным данным известно о роли генетических полиморфизмов в формировании широкого диапазона клинических форм заболевания [1, 4]. В результате анализа было обнаружено достоверное снижение у больных фиброзно-кавернозной формой в сравнении с очаговой генотипа *IL6(-174)*C/C* (18% и 46%, $p = 0,032$, OR = 0,139, CI 0,021-0,925), связанного с низкой продукцией цитокина, и повышение частоты гетерозиготного генотипа *IL6(-174)*G/C* (63% и 23%, $p = 0,045$, OR = 5,833, CI 1,031-34,461), связанного со средней продукцией цитокина. У больных с инфильтративной формой туберкулеза распределение генотипов соответствовало распределению у больных с фиброзно-кавернозной формой: повышена частота гетерозиготного генотипа *IL6(-174)*G/C* (44%) и снижена частота *IL6(-174)*C/C* (30%), но различия не достигли статистической значимости. У больных с более тяжелой инфильтративной формой с распадом генотип *IL6(-174)*C/C* не встречался.

Наши результаты подтверждают теорию о том, что генетические различия определяют развитие различных форм туберкулеза. У больных, имеющих в генотипе *IL6(-174)*C/C*, отвечающий за низкую продукцию цитокина, большая вероятность развития более легких форм. У больных, имеющих в генотипе *IL6(-174)*G/C*, вероятно, более высокий риск развития тяжелых форм: инфильтративной и фиброзно-кавернозной. Эти различия соответствуют литературным данным, согласно которым тяжесть заболевания определяется продукцией *IL6* и характеризуется тенденцией к повышению продукции цитокина у больных с более тяжелыми формами [4].

Заключение

Изучение генетических биомаркеров чувствительности развития различных клинических фенотипов туберкулеза позволит разработать персонализированный подход к диагностике и лечению заболевания, а также глубже изучить его патогенез. Необходимо продолжить исследование генных полиморфизмов цитокинов, продукты которых участвуют в иммунном ответе на туберкулез, а также рассмотреть комбинации и межгенные взаимодействия, поскольку их совместное действие может иметь различные эффекты, что будет способствовать развитию новых взглядов на профилактические и терапевтические подходы при туберкулезе легких.

Список литературы / References

1. Беляева С.В., Сташкевич Д.С., Максимова Е.А. Полиморфизм гена *IL-6* у больных туберкулезом легких русских Челябинской области // Материалы XVII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 75-летию Южно-уральского государственного медицинского университета, 2019. С. 10-11. [Beliaeva S.V., Stashkevich D.S., Maksimova E.A. Polymorphism of the *IL-6* gene in Russian patients with pulmonary tuberculosis of the Chelyabinsk region. Materials of the XVII All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists dedicated to the 75th anniversary of the South Ural State Medical University, 2019, pp. 10-11. (In Russ.)]
2. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Ситникова А.В., Бармина С.Э. Функциональный полиморфизм генов провоспалительных цитокинов при туберкулезе легких // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 1. С. 149-156. [Churina E.G., Urazova O.I., Novitsky V.V., Sitnikova A.V., Barmina S.E. Functional polymorphism of the pro-inflammatory cytokine genes in pulmonary tuberculosis. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 149-156. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-149-156
3. Aravindan P.P. Host genetics and tuberculosis: Theory of genetic polymorphism and tuberculosis. *Lung India*, 2019, Vol. 36, no. 3, pp. 244-252.
4. Delgobo M., Mendes D. AGB., Kozlova E., Rocha E.L., Rodrigues-Luiz G.F., Mascarin L., Dias G., Patrício D.O., Dierckx T. An evolutionary recent IFN/*IL-6*/CEBP axis is linked to monocyte expansion and tuberculosis severity in humans. *eLife*, 2019, Vol. 8. doi: 10.7554/eLife.47013.
5. Martinez A.N., Mehra S., Kaushal D. Role of interleukin 6 in innate immunity to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J. Infect. Dis.*, 2013, Vol. 207, Iss. 8, pp. 1253-1261.
6. Milano M., Moraes M.O., Rodenbusch R., Carvalho C.X., Delcroix M., Mousquer G., Laux da Costa L., Unis G., Dalla Costa E.R., Rossetti M.L. Single nucleotide polymorphisms in *IL17A* and *IL6* are associated with decreased risk

for pulmonary tuberculosis in Southern Brazilian population. *PLoS ONE*, 2016, Vol. 11, no. 2, e0147814. doi: 10.1371/journal.pone.0147814.

7. Singh P.P., Goyal A. Interleukin-6: a potent biomarker of mycobacterial infection. *SpringerPlus*, 2013, Vol. 2, 686. doi: 10.1186/2193-1801-2-686.

8. Singh P.P., Sinha S., Goyal M. Diagnosis of human tuberculosis: identification of new biomarker(s) and biosignature(s). *Int. J. Infect. Dis.*, 2016. Vol. 45, no. 1, 413. doi: 10.1016/j.ijid.2016.02.882.

9. Sun Y., Wang M. Association between IL-6 gene polymorphisms and susceptibility of tuberculosis: evidence based on a meta-analysis. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2017, Vol. 10, no. 3, pp. 4297-4304.

Автор:

Беляева С.В. — к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Author:

Belyaeva S.V., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 26.06.2020

Принята к печати 04.07.2020

Received 26.06.2020

Accepted 04.07.2020