

УДК 616.36:575.174.015.3

ПОЛИМОРФИЗМ –174G>C ГЕНА *IL6* (RS1800795) И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ УРСОДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТОЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕАЛКОГОЛЬНЫМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ

Курбатова И. В.¹, Дуданова О. П.², Топчиева Л. В.¹

¹ Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» (Петрозаводск, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петрозаводский государственный университет» (ПетрГУ) (Петрозаводск, Россия)

–174G>C POLYMORPHISM (RS1800795) OF *IL6* GENE AND ITS IMPACT ON THE EFFECTIVENESS OF TREATMENT WITH URSODEOXYCHOLIC ACID IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC STEATONHEPATITIS

Kurbatova I. V.¹, Dudanova O. P.², Topchieva L. V.¹

¹ Institute of Biology of Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences (IB KarRC RAS, Petrozavodsk, Russia)

² Petrozavodsk State University, the Department of Internal Medicine Propaedeutics and hygiene (Petrozavodsk, Russia)

Для цитирования: Курбатова И. В., Дуданова О. П., Топчиева Л. В. Полиморфизм –174G>C гена *IL6* (rs1800795) и его влияние на эффективность терапии урсодезоксихолевой кислотой у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2018;150(2): 31–36.

For citation: Kurbatova I. V., Dudanova O. P., Topchieva L. V. –174G>C polymorphism (rs1800795) of *IL6* gene and its impact on the effectiveness of treatment with ursodeoxycholic acid in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2018;150(2): 31–36.

Курбатова Ирина Валерьевна — научный сотрудник лаборатории генетики ИБ КарНЦ РАН, к.б.н.

Дуданова Ольга Петровна — Зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней и гигиены Медицинского института-та ПетрГУ, д.м.н., профессор

Топчиева Людмила Владимировна — ведущий научный сотрудник лаборатории генетики ИБ КарНЦ РАН, к.б.н.

Kurbatova I. V. — Institute of Biology of Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences, Laboratory for Genetics, Research Associate, PhD of Biology

Dudanova O. P. — Head of the Department of Internal Medicine Propaedeutics and hygiene PetrSU, MD

Topchieva L. V. — Institute of Biology of Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences, Laboratory for Genetics, Leading Research Associate, PhD of Biology

**Курбатова
Ирина Валерьевна**
Kurbatova I. V.
irina7m@yandex.ru

Резюме

Цель исследования — сравнительный анализ клинико-лабораторных показателей носителей разных генотипов по полиморфному маркеру –174G>C гена *IL6* (rs1800795) в группах здоровых доноров и пациентов с НАСГ в отсутствие гепатопротекторной терапии и на фоне терапии УДХК.

Материалы и методы: обследовано 50 пациентов с установленным впервые диагнозом НАСГ. Пациенты НАСГ проходили лечение препаратами УДХК в дозе 10–15 мг/кг в течение 8–10 недель. Контрольную группу составили 50 доноров без клинических проявлений НАЖБП. Генотипирование проводилось методом ПЦР-ПДРФ. До начала лечения и после монотерапии УДХК определялись печеночные тесты, уровень цитокинов *IL6* и *TNFα* в крови, уровень экспрессии генов *IL6* и *TNF*, активность каспаз в периферических лейкоцитах.

Результаты. У пациентов НАСГ, имеющих в генотипе разные аллели по маркеру –174G>C гена *IL6*, наблюдаются достоверные различия в изменении уровня показателя печеночно-клеточного повреждения, АСАТ, и уровня мРНК гена *TNF* в ЛПК. У носителей аллеля С эффект терапии УДХК на уровень АСАТ и уровень транскриптов гена *TNF* в ЛПК менее выраженный, чем у носителей генотипа GG, что свидетельствует о меньшей чувствительности к терапии УДХК у носителей мутантного аллеля. Медианы снижения уровня АСАТ и уровня относительной экспрессии мРНК гена *TNF* в ЛПК у носителей С аллеля достоверно ниже, чем у носителей генотипа GG, $p < 0,05$. Значимых различий влияния терапии УДХК на уровень других изучаемых показателей в зависимости от генотипа не обнаружено.

Заключение. Получены подтверждения того, что наличие однонуклеотидной замены –174G>C в гене *IL6* (rs1800795), ассоциированной с развитием НАСГ, может определять не только генетическую предрасположенность к развитию данного заболевания, но и различную чувствительность пациентов с НАЖБП к препаратам на основе УДХК.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), интерлейкин-6, полиморфизм, урсодезоксихолевая кислота (УДХК)

Summary

The aim was a comparative analysis of clinical and laboratory parameters in carriers of different genotypes for the $-174G>C$ *IL6* gene polymorphic marker (rs1800795) in healthy donors and patients with NASH in the absence of hepatoprotective therapy and after therapy with UDCA.

Materials and methods: There were examined 50 patients with the diagnosis of NASH. NASH patients were treated with UDCA at a dose of 10–15 mg/kg for 8–10 weeks. The control group consisted of 50 donors without the clinical manifestations of NAFLD. Genotyping was carried out using the PCR-RFLP method. Functional liver tests, the level of cytokines *IL6* and *TNF α* in the blood, the level of expression of the *IL6* and *TNF* genes, the activity of caspases in peripheral leukocytes were estimated before the treatment and after UDCA monotherapy.

Results: In NASH patients with different alleles for the $-174G>C$ *IL6* gene polymorphic marker, there are significant differences in the level of the indicator of hepatic cell damage — AST, and the mRNA level of the *TNF* gene in PBL. In carriers of C allele, the effect of UDCA therapy on the level of AST and the *TNF* gene transcripts in PBL is less pronounced than in carriers of the GG genotype. This indicates a lower sensitivity to UDCA therapy in carriers of the mutant allele. The medians of decrease in the AST level and in the level of mRNA relative expression of the *TNF* gene in carriers of C allele are significantly lower than in carriers of the GG genotype, $p<0.05$. Significant differences in the effect of UDCA therapy on the level of other studied parameters depending on the genotype were not found.

Conclusion: The presence of the $-174G>C$ single nucleotide substitution in the *IL6* gene (rs1800795), which is associated with the development of NASH, can determine not only the genetic predisposition to the development of this disease, but also the different sensitivity of patients with NAFLD to UDCA-based drugs.

Keywords: nonalcoholic steatohepatitis (NASH), interleukin-6, polymorphism, ursodeoxycholic acid (UDCA)

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – широко распространенное хроническое метаболическое мультифакториальное заболевание. Выделяют следующие клинико-морфологические формы НАЖБП: стеатоз, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз и цирроз печени. В последнее время внимание исследователей привлекает изучение воспаления как одного из основных механизмов этиологии и прогрессирования НАЖБП [1]. Основными медиаторами воспалительного процесса при прогрессировании НАЖБП являются провоспалительные цитокины, которые участвуют также в регуляции апоптоза, некроза и фиброгенеза. Среди них ведущую роль играют *TNF α* (фактор некроза опухоли альфа) и *IL6* (интерлейкин-6) [2]. Появляется все больше работ по изучению связи полиморфизма генов, кодирующих провоспалительные цитокины, с развитием НАЖБП, однако такие исследования в основном выполнены на зарубежных популяциях и носят противоречивый характер [3; 4]. Ранее нами впервые была установлена ассоциация $-174G>C$ полиморфизма промоторной области гена *IL6* с развитием НАСГ в российской популяции. Было показано, что у носителей аллеля С достоверно повышен риск развития НАСГ, однако

механизмы влияния данной мутации на патогенез заболеваний печени остаются не ясными [5]. Не исключено, что мутации в генах провоспалительных цитокинов, в том числе гена *IL6*, могут определять разную чувствительность пациентов к терапии гепатопротективными препаратами. В литературе отсутствуют сведения об ответе пациентов с НАСГ, имеющих разные генотипы по маркеру $-174G>C$ гена *IL6*, на прием гепатопротекторов. Одним из наиболее часто применяемых в терапии пациентов с НАСГ гепатопротективных препаратов является урсодезоксихолевая кислота (УДХК), что обусловлено широким спектром ее действия, при этом литературные данные о результатах ее применения у больных НАЖБП противоречивы, а механизмы влияния УДХК на клетку до конца не изучены [6]. Цель настоящей работы – сравнительный анализ клинико-лабораторных показателей (в том числе цитокинового статуса, уровня экспрессии генов *IL6* и *TNF*, активности каспаз в периферических лейкоцитах) носителей разных генотипов по полиморфному маркеру $-174G>C$ гена *IL6* (rs1800795) в группах здоровых доноров и пациентов с НАСГ в отсутствие гепатопротекторной терапии и на фоне терапии УДХК.

Материалы и методы исследования

Обследовано 50 доноров без клинических проявлений НАЖБП (контрольная группа, возраст $48,21\pm 2,40$ лет, 25 мужчин, 25 женщин); 50 пациентов с диагнозом НАСГ слабой и умеренной активности, установленным впервые (группа НАСГ, возраст $49,20\pm 2,35$ лет, 25 мужчин, 25 женщин). Пациенты НАСГ проходили лечение препаратами УДХК в дозе 10–15 мг/кг в течение 8–10 недель, во

время приема УДХК прием других, в том числе гепатотропных, лекарственных препаратов был исключен. В группе НАСГ образцы венозной крови брали до начала лечения (НАСГ0) и после монотерапии УДХК (НАСГ1).

Диагноз установлен на основании традиционных клинических, лабораторных, инструментальных и гистологических данных. Выполнялось

ультразвуковое исследование органов брюшной полости с оценкой экзогенности и размеров печени, размеров селезенки, наличия асцита, при доплерографии определялись диаметры воротной и селезеночной вен и линейная скорость кровотока в них для выявления портальной гипертензии. При эзофагогастроскопии оценивалось наличие варикозного расширения вен пищевода и кардиального отдела желудка. Части больным выполнялась спиральная компьютерная томография печени с оценкой плотности печени и слепая чрескожная пункционная биопсия печени с оценкой степени активности и фиброза по методу E. M. Brunt [7]. У всех пациентов исключен вирусный, алкогольный, лекарственный и аутоиммунный генез поражения печени. Доноры включены в исследование на основании информированного согласия. Критерии исключения, общие для изучаемых групп: перенесенные в последний месяц инфекционно-воспалительные заболевания, беременность и лактация, курение, сахарный диабет, индекс массы тела ≥ 30 кг/м². Все доноры являлись жителями Республики Карелия. На проведение исследований получено согласие Комитета по медицинской этике Минздрава Республики Карелия и ПетрГУ.

ДНК выделяли из цельной крови с помощью реагентов для выделения ДНК на микроколонках (Россия). Генотипирование проводилось методом ПЦР-ПДРФ по [8].

Оценивались печеночные функциональные пробы: активность аланинаминотрансферазы (АЛАТ), аспаратаминотрансферазы (АСАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), уровень общего и прямого билирубина, альбумина, γ -глобулина, общего холестерина (ОХС), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов (ТГ) на анализаторе производства Испания. Концентрацию цитокинов в плазме крови определяли методом неконкурентного ИФА с помощью наборов для ИФА (Россия) на анализаторе (Швейцария).

Лейкоциты периферической крови (ЛПК) выделяли из цельной крови методом, основанным на способности изотонического раствора хлорида аммония гемолизировать эритроциты. Тотальную РНК из ЛПК выделяли с помощью реагента; первую цепь кДНК синтезировали из 5 мкг тотальной РНК с помощью набора (Россия). Степень чистоты и концентрацию кДНК определяли на приборе SmartSpecPlus (США). Уровень транскриптов генов *TNF* и *IL6* оценивали методом ПЦР в режиме реального времени на приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (США).

Для определения активности каспаз 3, 8 и 9 в ЛПК использовали наборы «Caspase 3 Assay Kit, Colorimetric», «Caspase 8 Assay Kit, Colorimetric» и субстрат каспазы 9 «N-Acetyl-Leu-Glu-His-Asp-p-Nitroanilide» (США), согласно инструкциям производителя. Активность ферментов определяли колориметрически по скорости расщепления синтетического субстрата на планшетном ридере (Германия) в нмоль р-нитроанилина (p-NA), образующегося за 1 мин, в расчете на 1 мл пробы (при условии, что 100 мкл лизирующего буфера содержит 10^7 живых клеток).

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук». Статистическая обработка материала проведена с использованием программного обеспечения «Stat-Graphics 2.1». Для оценки различий биохимических показателей в группах исследования использовали непараметрический критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни. Использованы дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса и метод ранговой корреляции Спирмена. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Возраст доноров указан в виде: среднее арифметическое (M) \pm стандартная ошибка среднего (m).

Результаты исследования и их обсуждение

Обнаружено, что на фоне терапии УДХК в дозе 10–15 мг/кг в течение 8–10 недель у больных НАСГ независимо от генотипа отмечается снижение активности печеночных аминотрансфераз, уровня транскриптов гена *TNF* в ЛПК и концентрации провоспалительных цитокинов TNF α и IL6 в плазме крови. Полученные данные корреспондируют с данными других исследователей, согласно которым УДХК обладает гепатопротекторными свойствами, оказывает антиоксидантное, мембраностабилизирующее, противовоспалительное действие [6; 9].

Результаты сравнительного анализа клинико-лабораторных показателей у доноров изучаемых групп в зависимости от генотипа по полиморфному маркеру -174G>C гена *IL6* представлены в Таблицах 1, 2. Нужно отметить, что в работе D. Fishman, впервые описывающей полиморфизм -174G>C гена *IL6*, с помощью метода репортерного гена было показано, что данная мутация влияет на уровень транскрипции гена *IL6* и уровень продукции IL6, при этом высокая продукция данного цитокина

определяется генотипами GG и GC, а низкая – генотипом CC [10]. Позднее в мировой научной литературе было накоплено множество противоречивых сведений о влиянии этого полиморфизма на экспрессию гена *IL6* [11]. В настоящем исследовании не обнаружено влияния генотипа по -174G>C маркеру гена *IL6* на уровень транскрипции гена *IL6* в ЛПК и на содержание IL6 в крови здоровых доноров и пациентов с НАСГ (Табл. 2). По последним данным, эффект изучаемой мутации на продукцию IL6 очень неоднозначен и зависит от конкретного типа клеток, продуцирующих IL6. Так, E. H. Noss и соавторы обнаружили, что высокий уровень экспрессии *IL6* характерен для фибробластов с CC генотипом, при этом для моноцитов CD14+ не было выявлено влияния данной мутации на экспрессию *IL6* [12]. В нашем исследовании мы оцениваем экспрессию *IL6* в гетерогенной фракции – периферических лейкоцитах, поскольку они являются главными клетками, реализующими иммуновоспалительный процесс в печени и прогрессирование печеночно-клеточной недостаточности при НАЖБП. Для

Таблица 1

Клинико-лабораторные показатели носителей разных генотипов по полиморфному маркеру -174G>C гена *IL6* в группах здоровых доноров и пациентов с НАСГ в отсутствие гепатопротекторной терапии и на фоне терапии УДХК

| Показатель | Контроль | | НАСГ0 | | НАСГ1 | |
|----------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | GG (n=22) | GC+CC (n=28) | GG (n=22) | GC+CC (n=28) | GG (n=22) | GC+CC (n=28) |
| Генотип | | | | | | |
| АЛАТ, Ед/л | 21,00±2,47 (20,30) | 15,88±1,02 (15,88) | 53,60±5,98 (46,55)* | 46,08±3,70 (39,05)* | 49,04±8,84 (41,20)* ^Δ | 44,82±4,08 (35,00)* ^Δ |
| АСАТ, Ед/л | 20,96±1,84 (18,00) | 21,74±2,59 (19,00) | 42,85±3,38 (39,95)* | 37,95±2,72 (33,75)* | 38,76±5,88 (30,80)* ^Δ | 33,80±3,31 (30,00)* ^Δ |
| Билирубин общий, мкмоль/л | 20,35±8,50 (17,00) | 18,90±5,19 (16,60) | 19,59±1,86 (17,00) | 18,69±1,47 (19,55) | 20,12±5,11 (19,21) | 21,52±4,75 (20,10) |
| Билирубин прямой, мкмоль/л | 7,81±1,47 (6,11) | 5,64±1,26 (5,04) | 7,55±1,10 (6,88) | 7,40±1,27 (7,01) | 11,68±4,55 (6,25) | 8,04±2,04 (6,60) |
| ЩФ, Ед/л | 113,50±28,18 (106,50) | 126,25±23,65 (127,00) | 199,17±16,68 (186,00)* | 205,21±8,69 (231,00)* | 189,40±42,48 (177,00) | 222,51±22,85 (217,75)* |
| Альбумин, г/л | 41,83±1,68 (43,10) | 47,81±4,93 (44,05) | 39,73±1,57 (39,00) | 41,32±1,41 (42,70) | 46,50±2,50 (46,00) | 42,88±1,99 (43,70) |
| γ-глобулин, г/л | 11,16±0,58 (9,96) | 14,94±2,82 (12,35) | 11,48±0,80 (11,95) | 12,84±0,59 (12,30) | 10,16±2,85 (10,36) | 12,36±1,38 (12,37) |
| ОХС, ммоль/л | 5,53±0,30 (5,40) | 5,50±0,23 (5,20) | 6,05±0,33 (5,72) | 6,18±0,16 (6,15)* | 5,68±0,55 (6,30) | 5,89±0,36 (6,20) |
| ЛПВП, ммоль/л | 2,07±0,34 (1,39) | 1,75±0,21 (1,32) | 1,34±0,11 (1,19)* | 1,19±0,05 (1,08)* | 1,21±0,25 (1,25) | 1,33±0,20 (1,16) |
| ЛПНП, ммоль/л | 3,04±0,33 (3,20) | 4,06±0,74 (3,50) | 3,68±0,22 (3,70) | 3,98±0,17 (3,79)* | 3,44±0,55 (3,67) | 4,34±0,54 (4,02)* |
| ТГ, ммоль/л | 1,26±0,15 (0,88) | 1,46±0,13 (1,29) | 2,70±0,74 (1,86)* | 3,12±0,54 (2,32)* | 2,26±0,65 (1,71)* | 2,13±0,16 (2,06)* |

Примечание.

Данные представлены в виде M±m (Медиана). Достоверные отличия (p<0,05 согласно критерию U Вилкоксона-Манна-Уитни):

* – по сравнению с контрольной группой у носителей того же генотипа,

Δ – по сравнению с группой НАСГ0 у носителей того же генотипа.

Таблица 2

Содержание TNFα и IL6 в плазме крови, уровень экспрессии кодирующих генов и активность каспаз в ЛПК носителей разных генотипов по полиморфному маркеру -174G>C гена *IL6* в группах здоровых доноров и пациентов с НАСГ в отсутствие гепатопротекторной терапии и на фоне терапии УДХК

| Показатель | Контроль | | НАСГ0 | | НАСГ1 | |
|--|-------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | GG (n=22) | GC+CC (n=28) | GG (n=22) | GC+CC (n=28) | GG (n=22) | GC+CC (n=28) |
| Генотип | | | | | | |
| Уровень экспрессии гена <i>IL6</i> в ЛПК, отн. ед. | 0,040±0,016 (0,017) | 0,075±0,030 (0,021) | 0,039±0,009 (0,021) | 0,080±0,016 (0,032) | 0,073±0,054 (0,030) | 0,045±0,021 (0,032) |
| Уровень экспрессии гена <i>TNF</i> в ЛПК, отн. ед. | 16,350±9,720 (5,579) | 13,643±4,467 (9,517) | 22,179±5,189 (10,919)* | 24,077±6,642 (12,328)* | 11,830±8,479 (1,473) ^Δ | 15,925±9,397 (6,320) ^Δ |
| Содержание IL6 в крови, пг/мл | 3,50±1,25 (2,00) | 3,11±0,63 (1,98) | 6,12±1,12 (5,49)* | 6,32±1,11 (5,02)* | 6,50±3,30 (3,75) ^Δ | 7,09±2,93 (3,50) ^Δ |
| Содержание TNFα в крови, пг/мл | 3,03±0,50 (2,56) | 5,64±0,43 (5,69)* | 5,75±0,33 (5,95)* | 6,32±0,58 (5,81) | 5,17±0,72 (5,09)* ^Δ | 4,12±0,87 (4,51) ^Δ |
| Активность каспазы 3 в ЛПК, нмоль rNA/мин/мл | 0,610±0,133 (0,412) | 0,568±0,105 (0,484) | 2,268±0,690 (0,823)* | 0,952±0,103 (0,770)* | 0,933±0,386 (0,573) | 1,250±0,532 (0,678) |
| Активность каспазы 8 в ЛПК, нмоль rNA/мин/мл | 2,128±0,311 (2,178) | 3,013±0,894 (1,775) | 5,494±1,242 (4,760)* | 5,516±1,024 (3,388)* | 3,319±0,784 (2,884) | 4,027±0,753 (3,388)* |
| Активность каспазы 9в ЛПК, нмоль rNA/мин/мл | 1,858±0,419 (1,522) | 2,208±0,779 (1,591) | 3,324±0,779 (2,455)* | 5,228±0,876 (3,527)* | 3,428±1,601 (2,074) | 3,052±0,700 (3,181)* |

Примечание.

Данные представлены в виде M±m (Медиана). Достоверные отличия (p<0,05 согласно критерию U Вилкоксона-Манна-Уитни):

– по сравнению с генотипом GG в той же группе,

* – по сравнению с контрольной группой у носителей того же генотипа,

Δ – по сравнению с группой НАСГ0 у носителей того же генотипа.

оценки влияния генотипа по маркеру -174G>C гена *IL6* был использован дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса, достоверное влияние мутации было выявлено только на уровень TNFα в контрольной группе (H=7,21; p=0,022), то есть носительство аллеля С по -174G>C маркеру гена *IL6* может определять повышение продукции TNFα в крови здоровых лиц. При этом значимой корреляции между уровнем транскриптов кодирующих генов в ЛПК и содержанием соответствующих цитокинов в крови доноров групп исследования не обнаружено. У здоровых людей и у пациентов НАСГ0 положительно коррелируют содержание IL6 и TNFα в крови (r_s=0,655, p=0,039 и r_s=0,829, p=0,042 соответственно), что подтверждает сложность системы регуляции экспрессии кодирующих генов и продукции IL6и TNF, которая включает взаимодействия не только на уровне генной транскрипции, но и посттранскрипционные биохимические механизмы, действующие в каждом конкретном типе клеток.

Поскольку мутация -174G>C в гене *IL6* ассоциирована с развитием НАСГ в изучаемой нами российской популяции [5], а в литературе нет сведений о влиянии генотипа по данному маркеру на чувствительность к терапии гепатопротективными препаратами, мы провели анализ изменения оцениваемых показателей у носителей разных генотипов на фоне терапии УДХК. Было показано, что медианы снижения уровня АЛАТ (выраженные в процентах разницы между уровнем показателя до начала терапии и после терапии УДХК) у носителей генотипа GG и носителей аллеля С достоверно не различаются и составляют 11,04% и 10,41% соответственно. Что касается снижения уровня АСАТ у пациентов на фоне терапии УДХК, у носителей аллеля С эффект терапии на уровень данного показателя менее выраженный, чем у носителей генотипа GG. Медиана снижения уровня АСАТ у носителей С аллеля достоверно ниже (11,01%), чем у носителей генотипа GG (22,00%), p=0,027. На фоне терапии

УДХК у больных НАСГ зарегистрировано также снижение уровня транскриптов гена *TNF* в ЛПК. Полученные данные коррелируют с данными К. Ishizaki и соавторов, которые в работе по индуцированному повреждению печени у мышей отмечали достоверное снижение уровня экспрессии мРНК гена *TNF* и продукции TNFα в гепатоцитах наряду со снижением уровня активности печеночных аминотрансфераз [13]. Согласно нашим данным, медиана снижения уровня относительной экспрессии мРНК гена *TNF* в ЛПК на фоне терапии УДХК у пациентов с НАСГ, носителей GG генотипа по маркеру -174G>C гена *IL6*, достоверно выше (79,42%), чем у носителей аллеля С (46,17%), $p=0,016$. На фоне терапии УДХК содержание TNFα и IL6 в крови снижено не зависимо от генотипа. В группе пациентов с НАСГ у носителей С аллеля, прошедших терапию УДХК, уровень TNFα не отличается от контроля. Это связано с тем, что базальный уровень TNFα у здоровых доноров с генотипом GG значительно ниже, чем у носителей С аллеля. Аналогичная тенденция прослеживается у больных НАСГ, однако различия содержания TNFα в крови пациентов НАСГ0 с разными генотипами не достоверны. Значимых различий влияния терапии УДХК на уровень экспрессии гена *IL6* в ЛПК и на содержание провоспалительных цитокинов в крови в зависимости от генотипа по полиморфному маркеру -174G>C гена *IL6* не обнаружено. Так, медиана снижения уровня TNFα у носителей аллеля С (19,94%)

достоверно не отличается от таковой у носителей генотипа GG (15,01%). Также не обнаружено достоверных различий между медианами снижения уровня IL6 у носителей генотипа GG и носителей аллеля С (30,58% и 29,21% соответственно).

Согласно нашим данным, пациенты НАСГ, носители мутантного аллеля, на фоне монотерапии УДХК показывают менее выраженную динамику снижения АСАТ и уровня мРНК гена *TNF* в ЛПК по сравнению с носителями альтернативного аллеля. При этом механизм влияния изучаемой мутации на эти показатели остается не ясным. Следует отметить, что сведения об эффективности терапии УДХК в зависимости от полиморфизма генов крайне редки. Только недавно стали появляться работы, прослеживающие связь фармакокинетики этой кислоты и отзывчивости пациентов на терапию УДХК с полиморфизмом генов, среди которых гены транспортеров желчных кислот и фарнезоидного X рецептора [14; 15; 16]. Только в одном из указанных исследований была обнаружена связь полиморфизма гена (*BSEP*) с эффективностью терапии УДХК (при билиарном циррозе) [15]. Данные о влиянии генотипа по маркеру -174G>C гена *IL6* на чувствительность к терапии УДХК получены нами впервые, они расширяют представления о связи полиморфизма генов провоспалительных цитокинов с развитием НАЖБП и могут быть полезны для разработки индивидуального терапевтического подхода в лечении НАСГ.

Заключение

Обнаружено, что у больных НАСГ, имеющих в генотипе разные аллели по маркеру -174G>C гена *IL6*, на фоне терапии УДХК наблюдаются достоверные различия в изменении уровня показателя печеночно-клеточного повреждения – АСАТ, и уровня мРНК гена *TNF* в ЛПК. Полученные данные свидетельствуют об индивидуальной, генетически детерминированной реакции организма на терапию данным препаратом. Так, у носителей аллеля С эффект терапии УДХК на уровень АСАТ и уровень транскриптов гена *TNF* в ЛПК менее выраженный, чем у носителей генотипа GG, что свидетельствует о меньшей чувствительности к терапии УДХК

у носителей мутантного аллеля. Значимых различий влияния терапии УДХК на уровень других изучаемых показателей (в том числе цитокинового статуса, уровня экспрессии гена *IL6*, активности каспаз в периферических лейкоцитах) в зависимости от генотипа не обнаружено.

Таким образом, получены подтверждения того, что наличие однонуклеотидной замены -174G>C в гене *IL6* (rs1800795), ассоциированной с развитием НАСГ, может определять не только генетическую предрасположенность к развитию данного заболевания, но и различную чувствительность пациентов с НАЖБП к препаратам на основе УДХК.

Финансирование осуществлялось из федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (тема № 0221-2017-0049) и при поддержке стипендии Президента РФ для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики на 2015–2017 гг.

Литература

1. Дранкина О. М., Деева Т. А., Волкова Н. П., Ивашкин В. Т. Современные подходы к диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени // Тер. арх. – 2014. – Т. 86, № 10. – С. 116–123.
2. Brauersreuther V., Viviani G. L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease // World J. Gastroenterol. – 2012. – Vol. 18, № 8. – P. 727–735.
3. Cheng Y., An B., Jiang M. et al. Association of tumor necrosis factor-alpha polymorphisms and risk of coronary artery disease in patients with non-alcoholic fatty liver disease // Hepat. Mon. – 2015. – Vol. 15, № 3. – e26818.
4. Cengiz M., Yasar D. G., Ergun M. A. et al. The role of interleukin-6 and interleukin-8 gene polymorphisms in non-alcoholic steatohepatitis // Hepat. Mon. – 2014. – Vol. 14, № 12. – e24635.
5. Курбатова И. В., Топчиева Л. В., Дуданова О. П. Экспрессия генов каспаз 3, 6, 8 и 9 в лейкоцитах периферической крови и концентрация IL-6 и TNF-α в плазме крови у носителей разных генотипов

- по полиморфному маркеру -174G>C гена *IL6*, ассоциированному с риском развития неалкогольного стеатогепатита // Бюл. эксп. биол. и мед. – 2016. – Т. 162, № 9. – С. 356–361.
6. Xiang Z., Chen Y.P., Ma K.F. et al. The role of ursodeoxycholic acid in non-alcoholic steatohepatitis: a systematic review // BMC Gastroenterol – 2013. – Vol. 13, № 140. – Online: <http://www.biomedcentral.com/1471-230X/13/140>.
 7. Brunt E.M., Janney C.G., Di Bisceglie A.M. et al. Non-alcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions // Am. J. Gastroenterol. – 1999. – Vol. 94, № 9. – P. 2467–2474.
 8. Fernández-Real J. M., Broch M., Vendrell J. et al. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2000. – Vol. 85, № 3. – P. 1334–1339.
 9. Lindor K.D., Kowdley K.V., Heathcote E.J. et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: Results of a randomized trial // Hepatology. – 2004. – Vol. 39, № 3. – P. 770–778.
 10. Fishman D., Faulds G., Jeffery R. et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis // J. Clin. Invest. – 1998. – Vol. 102, № 7. – P. 1369–1376.
 11. Giannitrapani L., Soresi M., Balasus D. et al. Genetic association of interleukin-6 polymorphism (-174 G/C) with chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma // World J. Gastroenterol. – 2013. – Vol. 19, № 16. – P. 2449–2455.
 12. Noss E.H., Nguyen H.N., Chang S.K. et al. Genetic polymorphism directs IL-6 expression in fibroblasts but not selected other cell types // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2015. – Vol. 112, № 48. – P. 14948–14953.
 13. Ishizaki K., Iwaki T., Kinoshita S. et al. Ursodeoxycholic acid protects concanavalin A-induced mouse liver injury through inhibition of intrahepatic tumor necrosis factor-alpha and macrophage inflammatory protein-2 production // Eur. J. Pharmacol. – 2008. – Vol. 578, № 1. – P. 57–64.
 14. Xiang X., Vakkilainen J., Backman J.T. et al. No significant effect of the SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics of ursodeoxycholic acid // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2011. – Vol. 67, № 11. – P. 1159–1167.
 15. Chen R.R., Li Y.J., Zhou X.M. et al. The association between bile salt export pump single-nucleotide polymorphisms and primary biliary cirrhosis susceptibility and ursodeoxycholic acid response // Dis. Markers. – 2014. – ID350690. – Online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4216684/>
 16. Hu M., Fok B.S., Wo S.K. et al. Effect of common polymorphisms of the farnesoid X receptor and bile acid transporters on the pharmacokinetics of ursodeoxycholic acid // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2016. – Vol. 43, № 1. – P. 34–40.

Reference

1. Drapkina O.M., Deeva T.A., Volkova N.P., Ivashkin V.T. Current approaches to diagnosing and treating nonalcoholic fatty liver disease // Ter. Arkh. – 2014. – Vol. 86, № 10. – P. 116–123.
2. Braumersreuther V., Viviani G.L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease // World J. Gastroenterol. – 2012. – Vol. 18, № 8. – P. 727–735.
3. Cheng Y., An B., Jiang M. et al. Association of tumor necrosis factor-alpha polymorphisms and risk of coronary artery disease in patients with non-alcoholic fatty liver disease // Hepat. Mon. – 2015. – Vol. 15, № 3. – e26818.
4. Cengiz M., Yasar D.G., Ergun M.A. et al. The role of interleukin-6 and interleukin-8 gene polymorphisms in non-alcoholic steatohepatitis // Hepat. Mon. – 2014. – Vol. 14, № 12. – e24635.
5. Kurbatova I.V., Topchieva L.V., Dudanova O.P. Expression rates of the caspase 3, 6, 8 and 9 genes in peripheral blood leukocytes and the concentration of IL6 and TNF α in blood plasma of donors with different genotypes for the -174G>C IL6 gene polymorphic marker, associated with a risk of non-alcoholic steatohepatitis development // Bull. Exp. Biol. Med. – 2017. – Т. 162, № 3. – С. 370–374.
6. Xiang Z., Chen Y.P., Ma K.F. et al. The role of ursodeoxycholic acid in non-alcoholic steatohepatitis: a systematic review // BMC Gastroenterol – 2013. – Vol. 13, № 140. – Online: <http://www.biomedcentral.com/1471-230X/13/140>.
7. Brunt E.M., Janney C.G., Di Bisceglie A.M. et al. Non-alcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions // Am. J. Gastroenterol. – 1999. – Vol. 94, № 9. – P. 2467–2474.
8. Fernández-Real J. M., Broch M., Vendrell J. et al. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2000. – Vol. 85, № 3. – P. 1334–1339.
9. Lindor K.D., Kowdley K.V., Heathcote E.J. et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: Results of a randomized trial // Hepatology. – 2004. – Vol. 39, № 3. – P. 770–778.
10. Fishman D., Faulds G., Jeffery R. et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis // J. Clin. Invest. – 1998. – Vol. 102, № 7. – P. 1369–1376.
11. Giannitrapani L., Soresi M., Balasus D. et al. Genetic association of interleukin-6 polymorphism (-174 G/C) with chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma // World J. Gastroenterol. – 2013. – Vol. 19, № 16. – P. 2449–2455.
12. Noss E.H., Nguyen H.N., Chang S.K. et al. Genetic polymorphism directs IL-6 expression in fibroblasts but not selected other cell types // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2015. – Vol. 112, № 48. – P. 14948–14953.
13. Ishizaki K., Iwaki T., Kinoshita S. et al. Ursodeoxycholic acid protects concanavalin A-induced mouse liver injury through inhibition of intrahepatic tumor necrosis factor-alpha and macrophage inflammatory protein-2 production // Eur. J. Pharmacol. – 2008. – Vol. 578, № 1. – P. 57–64.
14. Xiang X., Vakkilainen J., Backman J.T. et al. No significant effect of the SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics of ursodeoxycholic acid // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2011. – Vol. 67, № 11. – P. 1159–1167.
15. Chen R.R., Li Y.J., Zhou X.M. et al. The association between bile salt export pump single-nucleotide polymorphisms and primary biliary cirrhosis susceptibility and ursodeoxycholic acid response // Dis. Markers. – 2014. – ID350690. – Online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4216684/>
16. Hu M., Fok B.S., Wo S.K. et al. Effect of common polymorphisms of the farnesoid X receptor and bile acid transporters on the pharmacokinetics of ursodeoxycholic acid // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2016. – Vol. 43, № 1. – P. 34–40.