

АНАЛИЗ УРОВНЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 И ПОЛИМОРФИЗМА G-174C ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 У ПАЦИЕНТОВ С НЕКЛАПАННОЙ ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Цель исследования: изучить уровень интерлейкина-6 (ИЛ-6), распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта G-174C гена ИЛ-6 у пациентов Гродненского региона, а также оценить их взаимосвязь с развитием неклапанной фибрилляции предсердий (ФП).

Обследовано 105 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и/или артериальной гипертензией (АГ). Среди них: 74 пациента с ФП и 31 пациент без эпизодов ФП в анамнезе. В группу контроля вошли 37 относительно здоровых пациентов без сердечно-сосудистых заболеваний и ФП. Уровень ИЛ-6 в плазме крови оценивали методом иммуноферментного анализа. Выявление полиморфизма G-174C гена ИЛ-6 проводили с помощью полимеразной цепной реакции.

Было выявлено, что у пациентов с ФП и систолической дисфункцией левого желудочка (ЛЖ) уровень ИЛ-6 выше чем у пациентов без ФП, при этом различия в уровне ИЛ-6 по сравнению с пациентами с ФП и сохраненной функцией ЛЖ выявлено не было. Различий в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма G-174C гена ИЛ-6 у пациентов всех исследуемых групп не наблюдалось.

Повышение уровня ИЛ-6 связано не с наличием у пациента ФП, а с присоединением к ней систолической дисфункции ЛЖ. Полиморфизм G-174C гена ИЛ-6 не продемонстри-

ровал взаимосвязи с циркулирующим в плазме уровнем ИЛ-6 и развитием неклапанной ФП у пациентов с ИБС и/или АГ.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, систолическая дисфункция левого желудочка, интерлейкин-6, полиморфизм G-174C гена интерлейкина-6.

D. A. Bubeshka, V. A. Snezhitskiy, T. L. Stepuro

ANALYSIS OF INTERLEUKIN-6 LEVEL AND POLYMORPHISM G-174C OF GENE IL-6 IN PATIENTS WITH NONVALVULAR ATRIAL FIBRILLATION

The purpose of research to study interleukin-6 (IL-6) plasma level, the distribution of genotypes and allele frequencies of the polymorphic marker G-174C of gene IL-6 in patients of the Grodno region and to evaluate their relationship with risk of atrial fibrillation development.

Were examined 105 patients with ischemic heart disease and/or hypertension. Of which 74 patients with persistent and permanent atrial fibrillation (AF) and 31 patients without history of AF. The control group includes 37 relatively healthy patient without cardiovascular diseases and AF. IL-6 plasma level was evaluated by ELISA test. Identification of a polymorphism G-174C of gene IL-6 was performed using the polymerase chain reaction.

It was revealed that in patients with AF and left ventricular systolic dysfunction level IL-6 higher than in patients without AF, but IL-6 plasma level did not differ compared to patients with AF and preserved left ventricular systolic function.

Increased IL-6 plasma levels is not associated with atrial fibrillation, but with accession left ventricular systolic dysfunction. G-174C polymorphism of the gene IL-6 did not show correlation with IL-6 plasma level and the development of nonvalvular AF in patients with coronary artery disease and/or hypertension.

Keywords: atrial fibrillation, left ventricular systolic dysfunction, interleukin -6, polymorphism G-174C of gene IL-6.

Актуальность Фибрилляция предсердий (ФП) является наиболее распространенной аритмией в клинической практике. Из-за своей высокой распространенности и отсутствия эффективной терапии, ФП остается нерешенной проблемой в современной медицине. Лучшее понимание механизмов, лежащих в основе возникновения и поддержание этой аритмии, может быть полезно для профилактики, ранней диагностики и выбора тактики лечения.

Маркеры системного воспаления продемонстрировали свою взаимосвязь с наличием ФП в ряде исследований [1]. Ключевым элементом иммунной системы в развитии воспаления являются цитокины. Интерлейкин-6 (ИЛ-6) представляет собой многофункциональный цитокин провоспалительного характера, который является одним из основных медиаторов активации иммунного ответа. ИЛ-6 секретируется клетками врожденной и адаптивной иммунной системы, стимулирует рост В-клеток и их дифференциацию, а также индуцирует синтез С-реактивного белка [5]. Уровень циркулирующего ИЛ-6 связан с наличием и длительностью у пациентов ФП [1], а также выступает как прогностический маркер развития новых случаев ФП [8]. В исследовании, проведенном с участием пациентов с ФП, принимающих пероральные антикоагулянты, высокочувствительный ИЛ-6 был независимым предиктором долгосрочных сердечно-сосудистых событий (ОШ 1,97; $p = 0,002$) и смертности от всех причин (ОШ 2,48; $p < 0,001$). К тому же добавление ИЛ-6 в шкалы риска (CHA2DS2 и CHA2DS2-Vasc)

улучшило значение индекса дискриминации для прогнозирования долгосрочных сердечно-сосудистых событий и смерти [4].

Полиморфные варианты гена ИЛ-6 в промоторной области влияют на межиндивидуальную вариацию в транскрипции и экспрессии указанного цитокина. Поэтому генетические варианты данного гена могут играть важную роль в восприимчивости человека к разнообразным заболеваниям. Участок ДНК в регуляторной области гена ИЛ-6, в котором происходит замена гуанина (G) на цитозин (C), называется генетическим маркером G-174C, который может непосредственно изменить экспрессию гена ИЛ-6. Данные подтверждаются исследованием *in vitro*, в котором было показано, что присутствие в генотипе аллели С ассоциировано с 40 % снижением активности промотора, по сравнению с аллелью G [14].

Цель исследования. Изучить уровень ИЛ-6, распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта G-174C гена ИЛ-6, а также оценить их взаимосвязь с ФП у пациентов Гродненского региона.

Материалы и методы. На базе УЗ «Гродненский областной клинический кардиологический центр» были обследованы 74 пациента (60 мужчин, 81,1 %; средний возраст 59 (54;65)) с персистирующей и постоянной формой ФП на фоне ишемической болезни сердца (ИБС) и/или артериальной гипертензии (АГ), которые в зависимости от значения фракции выброса (ФВ) левого желудочка были разделены на 2 группы. Группа 1 – 31 пациент с ФВ <50 % (25 мужчин, 80,6 %;

Оригинальные научные публикации

средний возраст 59 (50;63)). Группа 2 – 43 пациента с ФВ $\geq 50\%$. (35 мужчин, 81,4 %; средний возраст 61 (55;65)). В группу 3 включен 31 пациент с ИБС и/или АГ без эпизодов ФП в анамнезе (22 мужчины, 71 %; средний возраст 57 (50;61)). Пациенты вышеуказанных групп по нозологической характеристике (ИБС, АГ) между собой были сопоставимы. Группа 4 была сформирована на базе УЗ «Поликлиника УВД г. Гродно», которую составили 37 относительно здоровых лиц без сердечно-сосудистых заболеваний (21 мужчина, 56,8 %; средний возраст 53 (52;56)). Пациенты группы 3 и группы 4 были несколько моложе пациентов группы 2, но при этом не имели различий по возрасту между собой и с пациентами группы 1. В исследование не включались пациенты с пароксизмальной формой ФП, ФП на фоне органических клапанных пороков сердца, острым или перенесенным инфарктом миокарда, миокардитом, тиреотоксикозом, острым нарушением мозгового кровообращения, острыми воспалительными процессами любой локализации, с предположительной связью между наличием ФП и алкогольными эксцессами.

Всем пациентам с сердечно-сосудистой патологией проводились общеклинические исследования, тест 6 минутной ходьбы, определение в сыворотке крови N-концевого фрагмента мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) и эхокардиографическое исследование (ЭХО-КГ). Методом иммуноферментного анализа в плазме венозной крови определялся уровень ИЛ-6. Генетические методы исследования включали в себя определение полиморфного маркера G-174C гена ИЛ-6 с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для статистического анализа данных использовался пакет прикладных программ STATISTICA 10.0. Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей у разных групп пациентов осуществлялся с помощью точного критерия Фишера. Количественные данные, распределение которых не являлось нормальным, приводились в виде медианы, 25 % и 75 % квартилей. Для оценки различий количественных признаков между двумя независимыми группами использовался критерий Мана-Уитни, а между несколькими независимыми группами критерий Краскела-Уоллиса. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При определении уровня ИЛ-6 в плазме крови достоверные отличия наблюдались только между пациентами группы 1 и группы 3. Медиана уровня ИЛ-6 в группе 1 составила 3,03 (1,85; 3,81) пг/мл, а у пациентов группы 3 – 1,82 (1,29; 3,33) пг/мл ($p < 0,05$). Данные представлены на рисунке.

Выявлена положительная корреляционная связь между уровнем ИЛ-6 и некоторыми ЭХО-КГ параметрами, такими как: передне-задний размер левого предсердия ($R = 0,21$), конечно-диастолический размер ЛЖ ($R = 0,25$), конечно-систолический размер ЛЖ ($R = 0,27$), конечно-диастолический объем ЛЖ ($R = 0,25$), конечно-систолический объем ЛЖ ($R = 0,25$), уровень систолического давления в легочной артерии

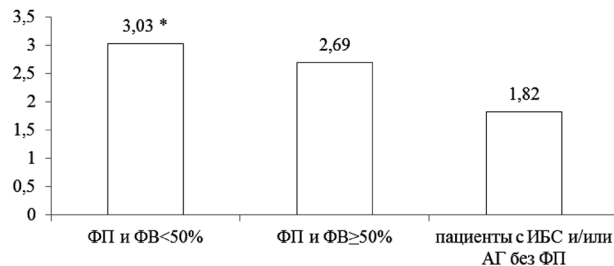


Рисунок. Уровень ИЛ-6 (пг/мл) в плазме крови у обследуемых пациентов

Примечание: * – достоверные различия по сравнению с группой 3.

($R = 0,33$) ($p < 0,05$). Значение ФВ имеет отрицательную корреляционную связь с уровнем ИЛ-6 ($R = -0,21$) ($p < 0,05$). Также наблюдалась взаимосвязь между уровнем ИЛ-6 и показателями, характеризующими функциональное состояние миокарда: отрицательная корреляционная связь с данными теста 6-минутной ходьбы ($R = -0,31$; $p < 0,01$) и положительная связь с уровнем NT-proBNP ($R = 0,26$; $p < 0,01$). Взаимосвязи между давностью ФП и уровнем ИЛ-6 выявлено не было.

Анализ распределения частот генотипов по полиморфному маркеру G-174C гена ИЛ-6 показал, что из общей выборки в 59,2 % случаев встречались гетерозиготные генотипы. Аллель G и аллель C встречались практически с одинаковой частотой (табл. 1).

Таблица 1. Распределение генотипов и аллелей полиморфизма G-174C гена ИЛ-6 (абс./%)

Аллель, n (%)		Генотип, n (%)		
C	G	CC	CG	GG
132 (46,5 %)	152 (53,5 %)	24 (16,9 %)	84 (59,2 %)	34 (23,9 %)

В каждой группе пациентов распределение генотипов подчинялось равновесию Харди-Вайнберга. Полученное при этом значение $p > 0,05$ говорит о выполнении условий данного равновесия и дает возможность использовать полученные результаты как прогнозные для исследуемой популяции.

Первым этапом мы изучили частоту распределения генотипов и аллелей среди пациентов с ФП (табл. 2).

Таблица 2. Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма G-174C гена ИЛ-6 у пациентов с ФП в зависимости от уровня ФВ ЛЖ (абс./%)

	Частота (абс./ %)				p 1–2
	Группа 1, ФВ < 50 % (n = 31)		Группа 2, ФВ $\geq 50\%$ (n = 43)		
	абс.	%	абс.	%	
Генотип CC	6	19,4	6	13,9	нд
Генотип CG	17	54,8	26	60,5	нд
Генотип GG	8	25,8	11	25,6	нд
Аллель C	29	46,8	38	44,2	нд
Аллель G	33	53,2	48	55,8	нд

Примечание: нд – недостоверные межгрупповые отличия.

В связи с тем, что, статистически значимых межгрупповых различий по частоте генотипов и аллелей получено не было, для дальнейшего анализа мы рассматривали данных пациентов как «группу пациентов с ФП». При изучении частоты распределения генотипов и аллелей среди пациентов каждой из групп, в зависимости от нозологии, различий установлено не было. Данные представлены в табл. 3.

Таблица 3. Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфного варианта G-174C гена ИЛ-6 в зависимости от нозологической формы (абс./%)

	Частота (абс./ %)			P
	ФП на фоне ИБС и/или АГ (группа 1 + группа 2) n = 74	ИБС и/или АГ без ФП (группа 3) n = 31	Относительно здоровые (группа 4) n = 37	
Генотип CC	12 (16,2 %)	5 (16,1 %)	7 (18,9 %)	нд
Генотип CG	43 (58,1 %)	19 (61,3 %)	22 (59,5 %)	нд
Генотип GG	19 (25,7 %)	7 (22,6 %)	8 (21,6 %)	нд
Аллель C	67 (45,3 %)	29 (46,8 %)	36 (48,6 %)	нд
Аллель G	81 (54,7 %)	33 (53,2 %)	38 (51,4 %)	нд

Примечание: нд – недостоверные межгрупповые отличия.

Для изучения влияния генотипа полиморфного маркера G-174C гена ИЛ-6 на экспрессию указанного цитокина, пациенты каждой группы были разделены на 3 подгруппы в зависимости от генотипа. Уровень ИЛ-6 в данных подгруппах значимо не различался (табл.4).

Таблица 4. Сравнительная характеристика уровня ИЛ-6 в зависимости от генотипа

	Генотип	Генотип			P
		CC	CG	GG	
ИЛ-6, пг/мл	Группа 1 (n = 31)	3,43 (3,05; 3,8)	2,81 (1,85; 3,71)	2,72 (1,72; 3,77)	нд
	Группа 2 (n = 43)	3,81 (1,8; 7,25)	2,42 (1,51; 3,66)	2,69 (1,63; 3,38)	нд
	Группа 3 (n = 31)	1,28 (1,14; 1,47)	2,33 (1,61; 3,37)	1,56 (1,1; 2,08)	нд

Примечание: нд – недостоверные межгрупповые отличия.

Таким образом, по нашим данным уровень ИЛ-6 был ассоциирован не с наличием у пациента ФП, а с присоединением к ФП систолической дисфункции ЛЖ. В пользу этого предположения выступают и полученные нами корреляционные связи между уровнем ИЛ-6 и эхокардиографическими параметрами. Эти данные согласуются с некоторыми исследованиями, в которых уровень ИЛ-6 был повышен у пациентов с систолической дисфункцией ЛЖ и в регрессионном анализе демонстрирует независимую обратную взаимосвязь с глобальной сократительной способностью миокарда [2, 12]. Полученная взаимосвязь между тестом 6-минутной ходьбы, значением NT-proBNP и уровнем ИЛ-6 отражает зависимость степени тяжести сердечной недостаточности от цирку-

лирующего уровня ИЛ-6, о чем также упоминается в литературе [10]. Повышенный уровень ИЛ-6 отмечен у пациентов с дисфункцией ЛЖ даже при отсутствии клинического синдрома ХСН [3]. Эти данные свидетельствуют о том, что ИЛ-6 может быть вовлечен в прогрессию субклинической дисфункции ЛЖ, в клиническую ХСН.

Циркулирующий уровень ИЛ-6 может отличаться в различных популяциях, и генетические факторы, наряду с факторами окружающей среды, могут играть в этом важную роль. В нашей выборке пациентов одинаково часто встречалась аллель G (53,5 %) и аллель C (46,5 %). Полученные нами результаты подтверждают данные о том, что у европеоидной расы –174C аллель выявляется достаточно часто, по сравнению с восточными популяциями, где указанная аллель встречается крайне редко [6].

Относительно влияния генотипа на риск развития ФП и циркулирующий уровень ИЛ-6 получены неоднозначные результаты. Так при исследовании полиморфного варианта G-174C гена ИЛ-6 у пациентов с ИБС, участвовавших в Heart and Soul Study, определено, что CC генотип чаще встречался у пациентов с ФП и был связан с более высоким уровнем ИЛ-6. Носители генотипа CC имели 2,35-кратное увеличение риска развития ФП на фоне ИБС, по сравнению с носителями CG и GG генотипов [7]. В другой работе выявлена ассоциация полиморфного маркера G-174C гена ИЛ-6 с риском развития послеоперационной ФП. У гомозигот по аллели C, которые преобладали в группе с ФП, титр ИЛ-6 в крови был повышен [11]. Значимая связь между полиморфизмом G-174C гена ИЛ-6 и риском развития ФП наблюдалась и у пациентов китайской популяции. Однако в данной выборке прослеживается противоположная ассоциация по сравнению с предыдущими работами. Частота аллели G в группе ФП была значительно выше, чем в контрольной группе, и у пациентов с генотипом GG риск возникновения ФП был выше в 4,74 раза по сравнению с носителями CC и CG генотипов [9]. Несмотря на то, что *in vitro* было продемонстрировано влияние полиморфного варианта G-174C гена ИЛ-6 на активность промотора, в естественных условиях это не всегда осуществимо за счет регуляторного влияния как со стороны других генов, так и средовых факторов. В ряде исследований уровень ИЛ-6 имел взаимосвязь с определенным генотипом [7,11], в других же работах полиморфный маркер G-174C не оказывал существенного влияния на концентрацию ИЛ-6 в плазме [13, 15].

В нашем исследовании, проведенном на жителях Гродненского региона мы не выявили различий в частоте встречаемости генотипов и аллелей полиморфного маркера G-174C у пациентов с ФП и у лиц без данной аритмии. Ассоциации между циркулирующим уровнем ИЛ-6 и генотипом ни в одной из групп пациентов нами также получено не было. Однако была выявлена корреляция между повышенным уровнем ИЛ-6 и наличием у пациента систолической дисфункции ЛЖ.

❑ Оригинальные научные публикации

Выводы

1. Уровень ИЛ-6 оказался выше у пациентов с ФП и сниженной фракцией выброса по сравнению с пациентами без ФП, в то же время указанный показатель значимо не различался при сравнении с пациентами, имеющими ФП с сохраненной фракцией выброса.

2. У пациентов Гродненского региона с ФП на фоне ИБС и/или АГ не выявлено различий в частоте носительства аллелей и генотипов полиморфного маркера G-174C гена ИЛ-6 по сравнению с пациентами с ИБС и/или АГ без ФП и относительно здоровыми лицами.

3. Уровень циркулирующего ИЛ-6 во всех исследуемых группах пациентов Гродненского региона не обнаружил зависимости от аллелей и генотипов полиморфного маркера G-174C гена ИЛ-6.

Литература

1. Снежицкий, В. А. Роль воспаления в патогенезе фибрилляции предсердий / В. А. Снежицкий, Д. А. Бубешко // Кардиология в Беларуси. – 2015. – Т. 41, № 4. – С. 129–138.

2. Cover image serum interleukin-6 and C-reactive protein are markedly elevated in acute decompensated heart failure patients with left ventricular systolic dysfunction / M. Matsumoto [et al.] // Cytokine. – 2010. – Vol. 49, № 3. – P. 264 – 268.

3. Elevated interleukin-6 levels in patients with asymptomatic left ventricular systolic dysfunction / R. J. Raymond [et al.] // Am. Heart J. – 2001. – Vol. 141, № 3. – P. 435–438.

4. High sensitivity cardiac troponin T and interleukin-6 predict adverse cardiovascular events and mortality in anticoagulated patients with atrial fibrillation / V. Roldán [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2012. – Vol. 10, № 8. – P. 1500–1507.

5. IL-6 switches the differentiation of monocytes from dendritic cells to macrophages / P. Chomarat [et al.] // Nat. Immunol. – 2000. – Vol. 1. – P. 510–514.

6. Interleukin-6 promoter polymorphisms in normal Han Chinese population: frequencies and effects on inflammatory

markers / M. Pan [et al.] // J. Investig. Med. – 2011. – Vol. 59, № 2. – P. 272 – 276.

7. Interleukin-6 and atrial fibrillation in patients with coronary artery disease; data from the Heart and Soul Study / G. M. Marcus [et al.] // Am. Heart. J. – 2008. – Vol. 155. – P. 303–309.

8. Interleukin-6 is a risk factor for atrial fibrillation in chronic kidney disease: findings from the CRIC study / R. L. Admur [et al.] // PLOS ONE. – 2016. – Vol. 11, № 2. – P. 1–12.

9. Interleukin-6 Promoter Polymorphisms and Susceptibility to Atrial Fibrillation in Elderly Han Chinese Patients with Essential Hypertension / L. Jing [et al.] // Journal of interferon & cytokine research. – 2012. – Vol. 32, № 11. – P. 542–547.

10. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) / G. Torre-Amione [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 1996. – Vol. 27. – P. 1201–1206.

11. Relation of the –174 G/C polymorphism of interleukin-6 to interleukin-6 plasma levels and to length of hospitalization after surgical coronary revascularization / F. Burzotta [et al.] // Am. J. Cardiol. – 2001. – Vol. 88. – P. 1125–1128.

12. Relationship of interleukin-6 with regional and global left-ventricular function in asymptomatic individuals without clinical cardiovascular disease: insights from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis / A. T. Yan [et al.] // Eur. Heart. J. – 2010. – Vol. 31, № 7. – P. 875–882.

13. Stromelysin-1 and interleukin-6 gene promoter polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis / R. Rauramaa [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2000. – Vol. 20. – P. 2657–2662.

14. 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 / D. Fishman [et al.] // J. Clin. Invest. – 1998. – Vol. 102. – P. 1369–1376.

15. The interleukin-6G (–174) C promoter polymorphism in the LURIC cohort: no association with plasma interleukin-6 coronary artery disease and myocardial infarction / M. Nauck [et al.] // J. Mol. Med. – 2002. – Vol. 80. – P. 507–513.