

ЧАСТОТА МУТАЦИЙ ГЕНОВ TNF α , VEGFA, IL6 ПРИ ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ

Рыбачков В.В.¹, Хохлов А.Л.¹, Сорогин С.А.², Березняк Н.В.*¹

DOI: 10.25881/20728255_2022_17_2_49

¹ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль

² ГБУЗ ЯО Областная клиническая больница, Ярославль

Резюме. Полиморфные варианты генов изучены у 50 пациентов с язвенным колитом в возрасте от 18 до 79 лет, 28 мужчин (56%) и 22 женщины (44%). Возраст: до 35 лет (38%), от 36 до 50 лет (30%), старше 51 года (32%). По протяженности патологического процесса преобладали больные с тотальным колитом (84%). Больные с левосторонним колитом (14%) или проктитом (2%) встречались реже. У 28 пациентов (56%) наблюдалось хроническое непрерывное течение, у 14 (28%) — хроническое рецидивирующее, у 8 (16%) — острое течение. По степени тяжести атаки: со среднетяжелой (42%), легкая (28%) и тяжелая (32%) атаки наблюдались реже. Среди обследуемых оперативное вмешательство было выполнено у 8 больных (16%), остальные больные (84%) были пролечены консервативно. Диагноз язвенный колит ставился на основании данных клиники, ультразвукового исследования, колоноскопии, визуальной оценки патологического процесса во время операции и гистологического исследования операционного материала. Цель: разработать подходы к оценке течения и повысить эффективность прогнозирования язвенного колита с учетом мутаций генов, регулирующих фактор некроза опухоли (TNF α), фактор роста сосудистого эндотелия (VEGFA) и интерлейкин-6 (IL6). Мутации гена, кодирующего интерлейкин-6 (IL6) по гомозиготному варианту G174G, встречались в 24%, мутации гена, кодирующего фактор роста эндотелия сосудов (VEGFA) по гомозиготному варианту C634C, встречались с частотой 12%. Мутаций в гене, кодирующим фактор некроза опухоли (TNF α) в исследуемой группе выявлено не было. Мутация гена IL6 практически в равной степени встречается среди групп больных, которым была выполнена операция, и пациентов после консервативного лечения, а именно в 25% и 23,8%, соответственно. Однако мутации гена VEGFA достоверно чаще встречались ($p = 0,03$) среди пациентов с оперативным лечением в анамнезе (37,5%). Генетическое тестирование у пациентов с язвенным колитом позволяет прогнозировать эффективность лечебных мероприятий, вероятность повышенного риска оперативного лечения и может выступать одним из критериев при реализации персонализированного подхода у данного контингента больных.

Ключевые слова: язвенный колит, лечение, мутация генов.

Введение

Согласно актуальной отечественной и зарубежной литературе язвенный колит — это воспалительное заболевание кишечника, в развитии которого, как и при болезни Крона, играют роль дефекты врожденного и приобретенного иммунитета, нарушения кишечной микрофлоры, факторы окружающей среды на фоне генетической предрасположенности [1; 2]. Однако вопрос этиологии заболевания до сих пор остается открытым.

В настоящее время считается, что полиморфные гены цитокинов, определяющих основу гомеостаза физиологических параметров организма, участвуют в установке адаптивных иммунных реакций на заболевания человека [3–7]. Одним из звеньев патогенеза является гиперэкспрессия провоспалительных цитокинов, в первую очередь, фактора некроза опухоли-альфа (TNF α) и интерлейкинов, в частности IL6, следствием чего является воспалительная

CLINICAL SIGNIFICANCE OF GENETIC TESTING IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS

Rybachkov V.V.¹, Khokhlov A.L.¹, Sorogin S.A.², Bereznyak N.V.*¹

¹ Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl

² Yaroslavl Regional Clinical Hospital, Yaroslavl

Abstract. Polymorphic variants of the genes were studied in 50 patients with ulcerative colitis aged 18 to 79 years, 28 men (56%) and 22 women (44%). Age: under 35 years old (38%), from 36 to 50 years old (30%), over 51 years old (32%). According to the length of the pathological process, patients with total colitis prevailed (84%). Patients with left-sided colitis (14%) or proctitis (2%) were less common. 28 patients (56%) had a chronic continuous course, 14 (28%) had a chronic relapsing course, and 8 (16%) had an acute course. According to the severity of attacks: with moderate (42%), mild (28%) and severe (32%) attacks were observed less frequently. Among the studied patients, surgery was performed in 8 patients (16%), the remaining patients (84%) were treated conservatively. Aim: To develop approaches to assess the course and improve the efficiency of predicting ulcerative colitis, taking into account mutations in the genes that regulate tumor necrosis factor (TNF α), vascular endothelial growth factor (VEGFA) and interleukin-6 (IL6). Mutations of the gene encoding interleukin-6 (IL6) for the homozygous G174G variant occurred in 24%, mutations of the gene encoding vascular endothelial growth factor (VEGFA) for the homozygous C634C variant occurred at a frequency of 12%. Mutations in the gene encoding tumor necrosis factor (TNF α) were not found in the study group. Mutations in the IL6 gene are almost equally found among the groups of patients who underwent surgery and patients after conservative treatment, namely, in 25% and 23.8%, respectively. However, mutations in the VEGFA gene were significantly more common ($p = 0.04$) among patients with a history of surgical treatment (37.5%). Genetic testing in patients with ulcerative colitis makes it possible to predict the effectiveness of therapeutic measures, the risk of surgical treatment, and can be one of the criteria for implementing a personalized approach in this group of patients.

Keywords: ulcerative colitis, treatment, genetic mutation.

лимфоплазмочитарная инфильтрация и деструкция слизистой оболочки толстой кишки с характерными макроскопическими изменениями толстой кишки [8; 9].

Менее изучено значение сосудистого эндотелия в развитии язвенного колита [10]. У пациентов с язвенным колитом при иммуногистохимическом исследовании наблюдали наличие повышенной плотности микрососудов ткани толстой кишки, что коррелировало со степенью активности заболевания и экспрессией фактора роста сосудистого эндотелия [11].

Изложенные моменты являлись отправными для изучения влияния мутаций в генах, кодирующих фактор некроза опухоли (TNF α), интерлейкин-6 (IL6) и фактор роста сосудистого эндотелия (VEGFA).

Цель исследования

Разработать подходы к оценке течения язвенного колита с учетом мутаций генов, регулирующих фактор

* e-mail: nvbereznyak@mail.ru

некроза опухоли (TNF α), фактор роста сосудистого эндотелия (VEGFA) и интерлейкин-6 (IL6).

Материалы и методы

Полиморфные варианты генов TNF α , VEGFA, IL6 изучены у 50 пациентов с язвенным колитом в возрасте от 18 до 79 лет. Вычисления проводились с использованием критерия χ^2 (хи-квадрат). Диагноз язвенный колит ставился на основании данных клиники, ультразвукового исследования, колоноскопии, визуальной оценки патологического процесса во время операции и гистологического исследования операционного материала.

В исследуемой группе было 28 мужчин (56%) и 22 женщины (44%). В возрастном аспекте пациенты были разделены на 3 группы: до 35 лет (38%), от 36 до 50 лет (30%), старше 51 года (32%). По протяженности патологического процесса преобладали больные с тотальным колитом (84%). Больные с левосторонним колитом (14%) или проктитом (2%) встречались значительно реже. Что касается характера течения заболевания, у 28 пациентов (56%) наблюдалось хроническое непрерывное течение, у 14 (28%) — хроническое рецидивирующее, у 8 (16%) — острое течение. По степени тяжести атаки по Truelove-Witts (Ивашкин В.Т., 2019) превалировали пациенты с среднетяжелой атакой (42%), легкая (28%) и тяжелая (32%) атаки наблюдались реже.

Исследования проводились в сроки от 1 года до 20 лет с момента выписки из стационара. 32 больным (64%) исследования проведены в течение 5 лет после выписки, 8 (16%) в течение 10 лет, 7 (14%) в течение 15 лет, 3 больным (6%) в сроки более 15 лет после выписки из стационара.

Среди исследуемых оперативное вмешательство было выполнено у 8 больных (16%), остальные больные (84%) были пролечены консервативно. Комплекс лечебных мероприятий включал в себя антибактериальную терапию, применение сульфаниламидных препаратов (сульфасалазин, месалазин по схеме), гормональная терапия (преднизолон) и биологическая терапия (инфликсимаб, адалимумаб, голимумаб) по показаниям. Оперативное пособие сводилось к выполнению колпроктэктомии с выведением одноствольной илеостомы по Бруку (50%), колэктомии с выведением одноствольной илеостомы по Бруку (25%), субтотальной колэктомии с выведением одноствольной илеостомы по Бруку (12,5%), операции Гартмана (12,5%). Летальных исходов не было.

В качестве контроля проведено аналогичное исследование у 40 условно здоровых людей без выявленной сопутствующей патологии. В возрастном аспекте группу контроля составили лица от 21 до 59 лет. Соотношение мужчин и женщин было равным.

Забор крови проводился после добровольного информированного согласия пациентов. Исследуемым образцом являлась венозная кровь, которую после получения помещали в пробирки с антикоагулянтом ЭДТА.

Биоматериал переносился в пробирку амплификатора для проведения полимеразной цепной реакции. Амплификатор обеспечивает циклический нагрев и охлаждение биоматериала, активизируя процесс расхождения цепей ДНК. При доведении содержимого до нужной температуры добавлялись праймеры, которые прикрепляются к определенным нуклеотидам, выделяя заданный участок генома. После этого вносился энзим ДНК-полимераза для активации процесса репликации и выделения полиморфизмов исследуемого гена.

Результаты

В исследуемой группе мутации гена, кодирующего интерлейкин-6 (IL6) по гомозиготному варианту G174G встречались с частотой 24%, мутации гена, кодирующего фактор роста эндотелия сосудов (VEGFA) по гомозиготному варианту C634C встречались с частотой 12%. Мутаций в гене, кодирующим фактор некроза опухоли (TNF α) в исследуемой группе выявлено не было. Распределение полиморфизмов соответствует закону Харди-Вайберга.

Исходя из данных, представленных в таблице 1, следует, что среди пациентов с язвенным колитом чаще встречались мутации гена IL6 (24%). Мутации гена VEGFA встречались в 2 раза реже (12%). Частота полиморфных вариантов IL-6 (G174G) и VEGFA (C634C) существенно ниже в группе сравнения и составила 5% и 2,5%, соответственно.

Наиболее часто встречалась мутация гена IL6 среди мужчин (28,6%). Частота мутации этого гена среди женщин не превысила 18,9%. Что касается возрастного аспекта гомозиготный вариант IL-6 (G174G) с наибольшей частотой встречался среди пациентов старшей возрастной категории (старше 51 года, 43,8%), реже среди больных до 35 лет (21,1%). Наименьшая частота (6,7%) наблюдалась в группе больных от 36 до 50 лет.

Мутация гена VEGFA так же наблюдалась чаще среди мужчин 14,3%, однако в возрастном аспекте высокая частота изменений фиксирована среди больных старше 51 года (18,8%) и пациентов от 36 до 50 лет (13,3%), в отличии от частоты мутаций среди пациентов молодого возраста (5,3%).

Табл. 1. Частота мутаций в генах IL6 и VEGFA при язвенном колите

Группа больных		Частота мутаций генов		
		IL-6 (G174G)	VEGFA (C634C)	
Язвенный колит	Всего (n = 50)		12 (24%)*	6 (12%)
	Пол (n = 50)	Мужчины (n = 28)	8 (28,6%)*	4 (14,3%)
		Женщины (n = 22)	4 (18,9%)	2 (9,1%)
	Возраст (n = 50)	До 35 лет (n = 19)	4 (21,1%)	1 (5,3%)
От 36 до 50 лет (n = 15)		1 (6,7%)	2 (13,3%)	
От 51 лет (n = 16)		7 (43,8%)*	3 (18,8%)	
Группа сравнения (n = 40)		2 (5%)	1 (2,5%)	

Примечание: * — достоверность к группе сравнения ($p < 0,05$).

Табл. 2. Частота мутаций в генах IL6 и VEGFA при язвенном колите в зависимости от протяженности процесса

Протяженность процесса		Частота полиморфных вариантов генов	
		IL-6 (G174G)	VEGFA (C634C)
Язвенный колит	Проктит (n = 1)	—	—
	Левосторонний колит (n = 7)	1 (14,2%)	2 (28,6%)*
	Тотальное поражение (n = 42)	11 (26,2%)*	4 (9,5%)
Группа сравнения (n = 40)		2 (5%)	1 (2,5%)

Примечание: * — достоверность к группе сравнения ($p < 0,05$).

Табл. 3. Частота мутаций в генах IL6 и VEGFA при язвенном колите в зависимости от метода лечения и объема оперативного пособия

Метод лечения		Частота полиморфных вариантов гена	
		IL-6 (C174G)	VEGFA (G634C)
Операция	Оперативное (n = 8)	2 (25%)	3 (37,5%)*
	Колэктомия с илеостомией по Бруку (n = 2)	1 (50%)	—
	Операция Гартмана (n = 1)	—	1 (100%)*
	Колпротэктомию с илеостомией по Бруку (n = 4)	1 (25%)	2 (50%)*
	Субтотальная колэктомия с илеостомией по Бруку (n = 1)	—	—
Консервативное лечение (n = 42)		10 (23,8%)	3 (7,1%)

Примечание: * — достоверность к группе больных без оперативного лечения в анамнезе ($p < 0,05$).

Согласно полученным данным мутации гена IL6 по гомозиготному варианту G174G встречались с наибольшей частотой среди пациентов с тотальным поражением толстой кишки, и почти в 2 раза реже (14,2%) среди пациентов с левосторонним колитом. Что касается гена VEGFA, наблюдалась противоположная картина. Мутации по гомозиготному варианту C634C встречались чаще при левостороннем колите (28,6%), чем при тотальном поражении толстой кишки (9,5%). У пациента с проктитом мутации генов выявлено не было.

Анализируя таблицу 3, можно сделать вывод о том, что мутация гена IL6 практически в равной степени встречается среди групп больных, которым была выполнена операция и пациентов после консервативного лечения, а именно в 25% и 23,8%, соответственно. Однако мутации гена VEGFA достоверно чаще встречались ($p < 0,05$) среди пациентов с оперативным лечением в анамнезе (37,5%), чем среди больных без оперативного лечения (7,1%). У пациентов с субтотальной колэктомией в анамнезе мутаций исследуемых генов выявлено не было.

Выводы

При язвенном колите частота мутаций гена IL6 достигает 24%. Мутации гена VEGFA встречались в 2 раза реже (12%). Мутаций в гене TNF α выявлено не было. Установлено, что мутации в гене IL6 чаще встречаются среди пациентов мужского пола, старше 51 года. По про-

тяженности процесса мутации гена IL6 ассоциированы с левосторонним колитом, а мутации VEGFA с тотальным поражением кишки. Мутация гена VEGFA в определенной степени может свидетельствовать о вероятности повышенного риска оперативного лечения.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов (The authors declare no conflict of interest).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Валуиких Е.Ю. Влияние генетических и средовых факторов на клинические проявления хронических воспалительных заболеваний кишечника (болезнь Крона и неспецифический язвенный колит): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Новосибирск; 2012. [Valujskih EYU. Vliyaniye geneticheskikh i sredovykh faktorov na klinicheskie proyavleniya hronicheskikh vospalitel'nykh zabolevaniy kishchnika (bolezni' Krona i nespecificheskij yuzvennyy kolit). [Avtoref. dis.] Novosibirsk; 2012. (In Russ).]
2. Ивашкин В.Т. и др. Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению язвенного колита // Колопроктология. — 2019. — №18(4). — С.7-36. [Ivashkin VT, et al. Proekt klinicheskikh rekomendacij po diagnostike i lecheniyu yuzvennogo kolita. Koloproktologiya. 2019; 18(4): 7-36. (In Russ).]
3. Майекина М.А. и др. Генетические прогностические факторы течения неспецифического язвенного колита // Практическая медицина. — 2012. — №9(65). — С.133-136. [Makejina MA, et al. Geneticheskie prognosticheskie faktory techeniya nespecificheskogo yuzvennogo kolita. Prakticheskaya medicina. 2012; 9(65): 133-136. (In Russ).]
4. Насыхова Ю.А. и др. Анализ полиморфизма генов NOD2/ CARD15 и TNF α у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта // Молекулярная медицина. — 2010. — №3. — С.32-37. [Nasyhova YUA, et al. Analiz polimorfizma genov NOD2/ CARD15 i TNF α u pacientov s hronicheskimi vospalitel'nyimi zabolevaniyami zheludochno-kishechnogo trakta. Molekulyarnaya medicina. 2010; 3: 32-37. (In Russ).]
5. Рыбачков В.В., Шубин Л.Б., Березняк Н.В. Критерии прогнозирования течения болезни Крона // Актуальные аспекты хирургии. Сборник научно-практических работ. Южно-Уральский государственный медицинский университет. — 2020. — №13. — С.39-42. [Rybachkov VV, Shubin LB, Berезnyak NV. Kriterii prognozirovaniya techeniya bolezni Krona. Aktual'nye aspekty hirurgii. Sbornik nauchno-prakticheskikh rabot. YUzhno-Ural'skij gosudarstvennyy medicinskij universitet. 2020; 13: 39-42. (In Russ).]
6. Стёпина Е.А. и др. Диагностическая и прогностическая значимость маркеров эндотелиальной дисфункции у пациентов с язвенным колитом // Казанский медицинский журнал. — 2016. — Т.97. — №2. — С.187-191. [Styopina EA, et al. Diagnosticheskaya i prognosticheskaya znachimost' markerov endotelial'noj disfunkcii u pacientov s yuzvennym kolitom. Kazanskij medicinskij zhurnal. 2016; 97(2): 187-191. (In Russ).]
7. Хохлов А.Л., Рыбачков В.В., Березняк Н.В. Частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 при болезни Крона // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова. — 2019. — №1. — С.53-55. [Hohlov AL, Rybachkov VV, Berезnyak NV. Chastota polimorfizma gena CARD15/NOD2 pri bolezni Krona. Vestnik Nacional'nogo mediko-hirurgicheskogo Centra im. N. I. Pirogova. 2019; 1: 53-55. (In Russ).]
8. Шумилов П.В. и др. Полиморфизм генов NOD2/CARD15, OCTN1 и OCTN2 у 5. детей с болезнью Крона и язвенным колитом // Лечение и профилактика. — 2011. — №1. — С.16-21. [SHumilov PV, et al. Polimorfizm genov NOD2/CARD15, OCTN1 i OCTN2 u 5. detej s boleznyu Krona i yuzvennym kolitom. Lechenie i profilaktika. 2011; 1: 16-21. (In Russ).]
9. Alkim C, et al. Expression of p53, VEGF, microvessel density, and cyclin-D1 in noncancerous tissue of inflammatory bowel disease. J. Dig. Dis. 2009; 54: 1979-1984.
10. Barkhordari E, et al. Proinflammatory cytokine gene polymorphisms in irritable bowel syndrome. J. Clin. Immunol. 2010; 30: 74-79.
11. Stankovic B, et al. Variations in inflammatory genes as molecular markers for prediction of inflammatory bowel disease occurrence. J. Dig. Dis. 2015; 16: 723-733.