

DOI: 10.26693/jmbs02.05.108

УДК 616.12–008.331.1-06: 616.379–008.64–056.7 008.9.

Сулаєва О. М.¹, Гончаров С. В.², Ларін О. С.¹,
Дігтяр Н. І.³, Герасименко Н. Д.³

ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМУ IL-6 -174G>C З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

¹Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, Київ

²Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця, Київ

³ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава

oksana.sulaieva@gmail.com

В роботі проведено аналіз взаємозв'язку IL-6 -174G>C поліморфізму з розвитком цукрового діабету 2 типу (ЦД2) та його клініко-лабораторними проявами. До дослідження були залучені 120 хворих на ЦД2 типу та 66 пацієнтів, які не страждали на ЦД2. В роботі виявлено зв'язок поліморфізму IL-6 -174G>C з розвитком ЦД2: показано, що GG генотип у сайті IL-6 -174G>C був асоційований з зростанням ризику розвитку ЦД2 (OR=2,52; 95% CI 1,24-5,13; P=0,011). Порівняння лабораторних показників, що відбивають особливості регуляції метаболізму вуглеводів та ліпідів виявили, що генотип GG асоційований з виразністю гіперглікемії та гіперінсулінемії (P=0,025), а також більш високими рівнями тригліцеридів (P=0,046) та загального холестерину (P=0,0326). Проте не було встановлено взаємозв'язку поліморфізму IL-6 -174G>C з розвитком таких ускладнень СД2, як полінейропатія, ретинопатія, нефропатія, синдром діабетичної стопи тощо.

Ключові слова: цукровий діабет, генетичні детермінанти, інтерлейкін 6.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у рамках НДР «Патогенез молекулярно-генетичних порушень жирового та вуглеводного обміну за цукровий діабет 2 типу та оптимізація цукрознижуючої терапії», № держ. реєстрації 0116U003041.

Вступ. Ожиріння та цукровий діабет 2 типу асоційовані із значними метаболічними зрушеннями та розвитком запалення [4]. Останнє пов'язують в першу чергу з дисфункцією жирової тканини [9], зростанням в ній кількості M1 макрофагів, зміною спектру секреції адипокінів та гіперпродукцією прозапальних цитокінів [1]. Серед останніх важливу роль відіграє інтерлейкін 6 (IL-6) [7]. Численні дослідження довели роль цього цитокіну у патогенезі метаболічного синдрому та інсулінорезистентності [5, 6]. Із зростанням рівня IL-6 пов'язують розвиток

ЦД2 та його ускладнень [7]. Одним з факторів, що визначають гіперпродукцію IL-6, є поліморфізм в промоторі гену IL-6 – в сайті -174 з однонуклеотидною заміною G/C [8]. На сьогодні є роботи, що демонструють зв'язок поліморфізму гену IL-6 у сайті -174G>C з розвитком ЦД2 та деяких його ускладнень [2, 6]. Проте між іншим, даний вид поліморфізму пов'язують з розвитком ожиріння, коронарної патології, раку молочної залози тощо [7]. Крім того, результати генотипування IL-6 у поліморфному сайті -174G>C у різних виборках пацієнтів з цукровим діабетом суттєво варіюють за частотою різних генотипів та їх зв'язком з проявами ЦД2. У цьому контексті цікаво, чи є зв'язок поліморфізму IL-6 -174G>C специфічним для певних проявів хвороби.

Метою даної роботи став аналіз взаємозв'язку IL-6 -174G>C поліморфізму з розвитком різних фенотипів ЦД2.

Матеріал і методи дослідження. До дослідження були залучені 120 хворих на ЦД2 типу, які проходили обстеження та лікування в Українському науково-практичному центрі ендокринної хірургії. Середній вік хворих складав 54,69±0,57 років. Критерії включення: наявність ЦД2 за нормальних показників еритроцитів та гемоглобіну. Критерії виключення: пацієнти з ЦД1, хворі у стані термінальної органної недостатності, вірусом гепатиту, особи з гестаційним діабетом. Групу порівняння склали 66 пацієнтів, що проходили діагностичне обстеження або знаходилися на лікуванні у стаціонарі з приводу ендокринної патології, проте не страждали на ЦД2. Периферійну кров збирали в пробірки з EDTA і зберігали при -20°C до використання. Екстракцію геномної ДНК виконували з використанням QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, USA) відповідно до інструкцій виробника. Генотипування IL-6 для поліморфного сайту -174G>C (rs1800795) проводили з Real-Time PCR, використовуючи тест-системи TaqMan Mutation Detection

Таблиця 1 – Характеристика груп пацієнтів, залучених у дослідження

Показники	Група порівняння	Хворі на ЦД2	Значущість розбіжностей
Стать			
Жінки	34 (51,5%)	58 (48,3%)	
Чоловіки	32 (49,2%)	62 (51,7%)	
Концентрація глюкози (ммоль/л)	4,84±0,12	10,163±0,28	P<0,001
Систолічний артеріальний тиск	133,82±3,65	139,68±1,89	P = 0,0617
Діастолічний артеріальний тиск	80,79±1,70	83,74±0,97	P = 0,0562
ІМТ	24,23±0,48	29,41±0,39	P<0,001
ЛПВЩ (ммоль/л)	1,46±0,09	1,15±0,04	P<0,001
ЛПНЩ (ммоль/л)	3,01±0,16	3,15±0,12	P = 0,372
Тригліцериди (ммоль/л)	1,12±0,10	2,01±0,12	P<0,001
Загальний холестерин (ммоль/л)	4,41±0,19	5,27±0,15	P<0,001

Примітка: всі дані у таблиці представлені у форматі М±m. ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності, ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності.

Assays Thermo Fisher Scientific (США). Для співставлення генотипів з проявами хвороби оцінювали наявність ускладнень ЦД2 (периферійна полінейропатія, діабетична ретинопатія, діабетична нефропатія, синдром діабетичної стопи). Крім того, враховували показники артеріального тиску, наявність ознак атеросклерозу, ішемічної хвороби серця, ураження судин нижніх кінцівок, дані ліпідограми, рівні інсуліну та С-реактивного білку. Оцінку розбіжності частоти генотипів між групами проводили з використанням χ^2 тесту. Про зв'язок різних генотипів з клініко-лабораторними даними судили за даними відношення ризиків (OR) з урахуванням 95% довірчого інтервалу [3].

Усі дослідні проводили у відповідності до Конвенції Ради Європи «Про захист прав людини і людської гідності в зв'язку з застосуванням досягнень біології та медицини: Конвенція про права людини та біомедицину (ETS № 164)» від 04.04.1997 р і Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (2008 г.). Кожен пацієнт підписував інформовану згоду на участь у дослідженні.

Результати дослідження та її їх обговорення. Характеристика пацієнтів основної групи та групи порівняння представлені у **таблиці 1**. Групи не відрізнялися за гендерними характеристиками. В обох групах спостерігали підвищені показники

артеріального тиску. Проте в основній групі визначено більш високі показники індексу маси тіла, рівні холестерину та тригліцеридів (P<0,001). Аналіз поліморфізму гену IL-6 -174G>C, дані якого представлені у **таблиці 2**, показав його значущий зв'язок з ризиком розвитку ЦД2 $\chi^2=7,17$ (P = 0,0278).

Серед пацієнтів групи порівняння переважав генотип CG (41 пацієнт; 62,1%), варіант GG зустрічався у 15 хворих (22,7%), тоді як CC генотип було виявлено у 10 осіб (15,2%). На відміну від цього у хворих на ЦД2 було виявлено значно вищу частоту реєстрації гомозигот. При цьому генотип GG серед хворих на ЦД2 реєстрували майже в 2 рази частіше (39,2% проти 22,7% відповідно у основній групі та групі порівняння). Цей факт в принципі є закономірним, оскільки rs1800795-G-алель асоційований з більш високим рівнем ІЛ-6, а підвищення останнього напряму пов'язане з розвитком інсулінорезистентності та метаболічними зрушеннями. Закономірно, що GG генотип був асоційований з зростанням ризику розвитку ЦД2 (OR=2,52; 95% CI 1,24-5,13; P = 0,011).

Порівняння лабораторних показників, що відбивають особливості регуляції метаболізму вуглеводів та ліпідів виявили вельми цікаві факти. Так, у осіб з генотипом GG реєстрували більш високі значення глікозильованого гемоглобіну (P= 0,465) та препрандіальної глюкози (P=0,034), інсуліну (P=0,025), тригліцеридів (P=0,046) та загального холестерину (P=0,0326). Ці дані по суті відбивають роль поліморфізму гену інтерлейкіну 6 у розвитку гіперінсуліємії, та вірогідно резистентності до інсуліну. Проте серед пацієнтів, залучених у дослідження, не було встановлено взаємозв'язку поліморфізму IL-6 -174G>C з розвитком таких ускладнень СД2, як полінейропатія, ретинопатія, нефропатія, синдром діабетичної стопи тощо. Крім того, не було встановлено зв'язку генотипу за

Таблиця 2 – Порівняльна характеристика частоти генотипів у поліморфному сайті -174G>C

Генотипи	Група порівняння	Пацієнти з ЦД2
C;G	41 (62,1%)	50 (41,6%)
G;G	15 (22,7% СТ)	47 (39,2%)
C;C	10 (15,2%)	23 (19,2%)
	66	120
Chi-squared		7,168
Рівень значущості		P = 0,0278

IL-6 -174G>C з такими показниками як зайва вага чи ожиріння, наявність атеросклеротичного ураження судин та ішемічної хвороби.

Висновки. Отримані у дослідженні дані відбивають роль поліморфізму IL-6 -174G>C у розвитку цукрового діабету, що підтверджує дані інших досліджень. Виявлені у роботі зв'язки GG генотипу з метаболічними зрушеннями відповідають концепції ролі IL-6 у регуляції вуглеводного та ліпідного

обміну. Проте ми не виявили зв'язку IL-6 -174G>C поліморфізму з розвитком органоспецифічних ускладнень ЦД2.

Перспективи подальших досліджень: Подальше вивчення молекулярно-генетичних детермінант розвитку цукрового діабету 2 типу та його ускладнень дозволить розробити стратегію персоналізованої профілактики та корекції порушення метаболізму.

References

1. Bai Y, Sun Q. Macrophage recruitment in obese adipose tissue. *Obes Rev.* 2015; 16 (2): 127-36. DOI: 10.1111/obr.12242.
2. Banerjee M, Saxena M. Genetic polymorphisms of cytokine genes in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2014; 5 (4): 493-504. DOI: 10.4239/wjd.v5.i4.493.
3. Diez DM, Barr CD, Cetinskaya-Rundel M. OpenIntro Statistics (3d edition). 2015. Available from: https://www.openintro.org/stat/textbook.php?stat_book=os.
4. Guzik TJ, Cosentino F. Epigenetics and Immunometabolism in Diabetes and Aging. *Antioxid Redox Signal.* 2017 Sep; 11. doi: 10.1089/ars.2017.7299.
5. Illig T, Bongardt F, Schöpfer A, Müller-Scholze S, Rathmann W, Koenig W, Thorand B, Vollmert C, Holle R, Kolb H, Herder C. Significant association of the interleukin-6 gene polymorphisms C-174G and A-598G with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89 (10): 5053-8. DOI: 10.1210/jc.2004-0355.
6. Lu QK, Zhang JT, Zhao N Association of IL-6 Gene (-174 and -572 G/C) Polymorphisms with Proliferative Diabetic Retinopathy of Type 2 Diabetes in a Chinese Population. *Ophthalmic Res.* 2017; 58 (3): 162-7.
7. Malenica M, Šilar M, Dujic T, Bego T, Semiz S, Škrbo S, Prnjavorac B, Čaušević A. Importance of inflammatory markers and IL-6 for diagnosis and follow up of patients with type 2 diabetes mellitus. *Med Glas (Zenica).* 2017; 14 (2): 169-75. doi: 10.17392/920-17.
8. Nadeem A, Mumtaz S, Naveed AK, Aslam M, Siddiqui A, Lodhi GM, Ahmad T. Gene-gene, gene-environment, gene-nutrient interactions and single nucleotide polymorphisms of inflammatory cytokines. *World J Diabetes.* 2015; 6 (4): 642-7. doi: 10.4239/wjd.v6.i4.642.
9. Rasouli N. Adipose tissue hypoxia and insulin resistance. *J Investig Med.* 2016; 64 (4): 830-2. DOI: 10.1136/jim-2016-000106.

УДК 616.12–008.331.1-06: 616.379–008.64–056.7 008.9.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА IL-6 -174G> C САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Сулаева О. Н., Гончаров С. В., Ларин А. С.,

Дегтярь Н. И., Герасименко Н. Д.

Резюме. В работе проведен анализ взаимосвязи IL-6 -174G> C полиморфизма с развитием сахарного диабета 2 типа (СД2) и его клинико-лабораторными проявлениями. В исследование были вовлечены 120 больных СД2 и 66 пациентов, не страдавших СД2. В работе выявлена связь полиморфизма IL-6 -174G> C с развитием СД2: показано, что GG генотип в сайте IL-6 -174G> C был ассоциирован с увеличением риска развития СД2 (OR = 2,52; 95% CI 1, 24-5,13; P = 0,011). Сравнение лабораторных показателей, отражающих особенности регуляции метаболизма углеводов и липидов показало, что генотип GG ассоциирован с выраженностью гипергликемии и гиперинсулинемии (P = 0,025), а также более высокими уровнями триглицеридов (P = 0,046) и общего холестерина (P = 0,0326). Однако было установлено взаимосвязи полиморфизма IL-6 -174G> C с развитием таких осложнений СД2, как полинейропатия, ретинопатия, нефропатия, синдром диабетической стопы.

Ключевые слова: сахарный диабет, генетические детерминанты, интерлейкин 6.

UDC 616.12–008.331.1-06: 616.379–008.64–056.7 008.9.

Connection between IL-6 -174g> C Polymorphism and Type II Diabetes

Sulaieva O. M., Goncharov S. V., Larin O. S.,

Digitiar N. I., Gerasymenko N. D.

Abstract. It is widely recognized that obesity and type II diabetes are associated with meaningful metabolic alterations and low grade inflammation. The last one is due to increase of proinflammatory M1 macrophages in adipose tissues that is accompanied with secretion of the wide spectrum of proinflammatory cytokines and

adipocytes, leading to insulin resistance and metabolic syndrome development. One of the most influential factors is interleukin 6 (IL-6). The number of evidences proved the role of IL 6 in type II diabetes pathogenesis. IL-6 hyper production could be caused by single nucleotide polymorphism in IL gene promoter, known as -174G> C polymorphism. On the other hand, there are numerous data demonstrating the same polymorphism role in obesity, cancer, coronary artery diseases etc. Thus, it is important to examine whether -174G> C polymorphism demonstrate specific relations with T2D complications development, such as: diabetic polyneuropathy, retinopathy, nephropathy or diabetic food syndrome with ulcers.

The purpose of the study was to examine the relationship between IL-6 -174G> C polymorphism and T2D and its clinical and laboratory manifestations development. 120 patients with T2D and 66 non-diabetic patients were examined. Genomic DNA extraction was performed using QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, USA) with manufacturer guideline. *IL-6* genotyping for polymorphous site 174G>C (rs1800795) was conducted with Real-Time PCR, using test-systems TaqMan Mutation Detection Assays Thermo Fisher Scientific (USA). To compare the genotypes with T2D phenotypes we considered such complications of T2D as peripheral polyneuropathy, diabetic retinopathy, diabetic nephropathy, and diabetic foot syndrome. In addition, the indicators of cardiovascular risks including blood pressure, signs of atherosclerosis, coronary heart disease, and angioplasty of the lower extremities were concerned. In addition, lipidogram data, levels of insulin and C-reactive protein were taken into account when comparing data of patients with different genotypes. The frequency difference between genotypes was evaluated using χ^2 test. The connection between different genotypes and clinical and laboratory data was judged according to the ratio of risks (OR), taking into account the 95% confidence interval.

The relationship between IL-6-174G>C polymorphism and the development of T2D was revealed: the GG genotype at the IL-6-174G>C site was associated with an increased risk of T2D development (OR=2.52; 95% CI 1,24-5,13; P=0.011). Comparison of laboratory parameters reflecting the peculiarities of carbohydrate and lipid metabolism in T2D patients revealed that GG genotype is associated with hyperglycemia and hyperinsulinemia (P = 0.0125), as well as higher levels of triglycerides (P = 0.046) and total cholesterol (P = 0,0326). However, the relationship between the IL-6-174G>C polymorphism and such complications of T2D as polyneuropathy, retinopathy, nephropathy, diabetic foot syndrome development was not found.

In conclusion, research results suggest that homozygous carriers of pro-inflammatory 'G' allele of *IL6-174G>C* polymorphism may be more susceptible to Type II diabetes, supporting the relevance of inflammatory pathways, metabolic alterations and insulin resistance as well. However, specific links between IL-6-174G>C polymorphism and T2D complications were not found.

Keywords: diabetes mellitus, genetic determinants, interleukin 6.

Стаття надійшла 15.09.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування