

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА TM6SF2 RS58542926 С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ И ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМОЙ



Миррахимова Наргиза Мирзахидовна¹, Ибадуллаева Наргиза Сайпиевна¹,
Ходжаева Малика Эркиновна², Хикматуллаева Азиза Сайдуллаевна¹, Абдукадырова Муаззам Алиевна¹
1 - Научно-исследовательский институт вирусологии Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний, Республика Узбекистан, г. Ташкент;
2 - Ташкентский Государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Ташкент

TM6SF2 RS58542926 ГЕН ПОЛИМОРФИЗМИНИНГ ЖИГАР ЦИРРОЗИ ВА ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯР КАРЦИНОМА БИЛАН БОҒЛИҚЛИГИ

Миррахимова Наргиза Мирзахидовна¹, Ибадуллаева Наргиза Сайпиевна¹,
Ходжаева Малика Эркиновна², Хикматуллаева Азиза Сайдуллаевна¹, Абдукадырова Муаззам Алиевна¹
1 - Республика ихтисослаштирилган эпидемиология, микробиология, юқумли ва паразитар касалликлар илмий-амалий тиббиёт марказининг Вирусология илмий-тадқиқот институти, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.;
2 - Тошкент давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

ASSOCIATION OF TM6SF2 RS58542926 GENE POLYMORPHISM WITH LIVER CIRRHOSIS AND HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Mirrahimova Nargiza Mirzakhidovna¹, Ibadullaeva Nargiza Saypievna¹, Khojaeva Malika Erkinovna²,
Khikmatullaeva Aziza Saidullaevna¹, Abdukadyrova Muazzam Alievna¹
1 - Research Institute of Virology of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, Republic of Uzbekistan, Tashkent;
2 - Tashkent State Medical University, Republic of Uzbekistan, Tashkent

e-mail: rivuzb@gmail.com

Резюме. Мақсад: Жигар касалликларининг турли шакллари билан оғриган беморлар орасида TM6SF2 генининг rs58542926 полиморфизми генотиплари ва аллелларининг тақсимланишини таҳлил қилиши ва ушбу генетик вариантнинг гепатоцеллюляр карцинома ривожланиши хавфи билан потенциал боғлиқлигини баҳолаш. Материаллар ва усуллар: Тадқиқотга 159 нафар бемор киритилган: 30 нафари сурункали гепатит, 37 нафари жигар циррози, 92 нафари гепатоцеллюляр карцинома, шунингдек, назорат гуруҳини ташкил этган 30 нафар соғлом шахслар. Бутун қон намуналарида TM6SF2 генининг rs58542926 полиморфизмини аниқлаш ПЗР усули билан амалга оширилди. Натижалар: TM6SF2 генининг rs58542926 полиморфизмининг T аллелини ташиши ва гепатоцеллюляр карцинома ривожланиши хавфининг ошиши ўртасидаги боғлиқлик аниқланди. Олинган натижалар сурункали жигар касалликларининг ривожланишида ушбу генетик вариантнинг потенциал ролини ва уни ўсма трансформациясига генетик мойиллик маркери сифатида ишлатиши мумкинлигини кўрсатади. Хулоса: T аллелининг энг юқори частотаси жигар циррози билан оғриган беморларда кузатилган, бу унинг фиброз ривожланишининг юқори хавфи маркери ва гепатоцеллюляр карцинома ривожланишининг потенциал предиктори сифатидаги ролини кўрсатади.

Калим сўзлар: TM6SF2, rs58542926 полиморфизми, жигар циррози, гепатоцеллюляр карцинома.

Abstract. Objective: To analyze the distribution of genotypes and alleles of the TM6SF2 rs58542926 gene polymorphism among patients with various forms of liver diseases and to assess the potential association of this genetic variant with the risk of developing hepatocellular carcinoma. Materials and methods: The study included 159 patients: 30 with chronic hepatitis, 37 with liver cirrhosis, 92 with hepatocellular carcinoma, as well as 30 healthy individuals who served as the control group. Detection of the TM6SF2 rs58542926 gene polymorphism in whole blood samples was performed using PCR. Results: An association was found between the carriage of the T-allele of the TM6SF2 rs58542926 gene polymorphism and an increased risk of developing hepatocellular carcinoma. The obtained results suggest a poten-

tial role of this genetic variant in the progression of chronic liver diseases and its possible use as a marker of genetic predisposition to tumor transformation. Conclusion: The highest frequency of the T-allele was observed in patients with liver cirrhosis, suggesting its role as a marker of increased risk for fibrosis progression and potentially a predictor of hepatocellular carcinoma development.

Key words: *TM6SF2, rs58542926 polymorphism, liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma.*

Цирроз печени представляет собой широко распространённое хроническое прогрессирующее заболевание, характеризующееся диффузным фиброзом, формированием псевдодольков и, в конечном итоге, развитием портальной гипертензии, печёночной недостаточности или гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) [1]. По данным G.B.D.C. Collaborators, цирроз печени ежегодно становится причиной более 1,32 миллиона случаев смерти по всему миру, что составляет 2,4% от общего числа глобальных летальных исходов [2]. Он занимает 11-е место по распространённости среди заболеваний и является третьей по частоте причиной смерти среди людей в возрасте 45–64 лет [3]. Несмотря на серьёзность последствий, на сегодняшний день не существует полностью эффективного метода лечения цирроза печени. Более глубокое понимание патогенетических механизмов цирроза печени может способствовать разработке новых терапевтических подходов. Одним из наиболее тяжёлых осложнений цирроза печени является ГЦК. Развитие ГЦК чаще всего наблюдается на фоне хронических заболеваний печени, в том числе вирусных гепатитов, что подчёркивает важность своевременного выявления и контроля факторов, способствующих прогрессированию фиброза и трансформации гепатоцитов. Согласно данным 2016 года, уровень заболеваемости раком печени в мире составляет 10,1 случая на 100 000 населения, при этом мужчины болеют примерно в три раза чаще, чем женщины [4]. Зачастую диагноз ГЦК устанавливается на поздних стадиях заболевания, что напрямую связано с высокой смертностью от этой формы рака. В результате, ГЦК занимает третье место среди причин смерти от онкологических заболеваний [5]. Своевременная диагностика и точная оценка риска её развития особенно важны для пациентов с хроническими заболеваниями печени. Одним из перспективных подходов в этом направлении является генотипирование, позволяющее выявлять однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) - точечные изменения в ДНК, возникающие в результате мутаций типа транзиции или трансверсии. Выявление определённых SNP, ассоциированных с повышенным риском ГЦК, может способствовать более точной стратификации пациентов, разработке индивидуализированных схем скрининга и, как следствие, повышению эффективности медицинской помощи [6]. Современные исследования показывают, что определённые SNP оказывают

влияние на повреждение печени. [7]. Особый интерес вызывает полиморфизм в гене TM6SF2 (rs58542926, с.449C>T, р.Glu167Lys, E167K), который влияет на обмен липидов и связан с хроническими болезнями печени. Многие научные работы посвящены изучению влияния данного варианта на развитие ГЦК [8, 9]. Ряд исследований, проведённых в Китае и других странах, показали наличие связи между вариантом rs58542926 TM6SF2 и повышенным риском развития ГЦК [10]. Однако другие научные работы не подтвердили эту взаимосвязь [11]. Оценка наследственных факторов риска, связанных с ГЦК, может способствовать более раннему выявлению опухоли и потенциально снизить уровень смертности от заболевания. В связи с этим, мы провели исследование, направленные на уточнение роли полиморфизма rs58542926 в гене TM6SF2 в развитии ГЦК.

Цель исследования. Проанализировать распределение генотипов и аллелей полиморфизма гена TM6SF2 rs58542926 среди пациентов с различными формами заболеваний печени, а также оценить возможную связь данного генетического варианта с риском развития гепатоцеллюлярной карциномы.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 159 пациентов, из них 30 человек с хроническими гепатитами, 37 - с циррозом печени, 92 - с ГЦК, а также 30 здоровых лиц в качестве контрольной группы. Забор крови для последующего генотипирования проводился в условиях клиники НИИ вирусологии РСНПМЦЭМИПЗ, а также у пациентов, обратившихся за медицинской помощью в Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии (РСНПМЦОиР).

Диагноз устанавливался на основании клинического обследования, данных эпидемиологического анамнеза, результатов лабораторных и инструментальных исследований. Проведена комплексная оценка жалоб, анамнеза заболевания и эпидемиологического анамнеза, а также физикальное обследование с определением степени тяжести состояния пациента.

Этиологический диагноз устанавливали на основе данных иммуноферментного анализа (ИФА) и молекулярно-биологического метода (ПЦР).

Таблица 1. Распределение генотипов и аллелей TM6SF2 rs58542926 в исследуемых группах

Группа	СС	СТ	ТТ	Аллель С (n, %)	Аллель Т (n, %)
ГЦК (n=92)	80	11	1	171 (92,9%)	13 (7,1%)
Хронический гепатит (n=30)	29	1	0	59 (98,3%)	1 (1,7%)
Цирроз печени (n=37)	31	5	1	67 (90,5%)	7 (9,5%)
Здоровые (n=30)	30	0	0	60 (100,0%)	0 (0,0%)

Для выявления антител к HCV и HDV, а также HBsAg в сыворотке крови использовались наборы «ИФА-АНТИ-HCV» «ИФА-АНТИ-HDV» и «ДС-ИФА-HBsAg» (Диагностические системы, Нижний Новгород) соответственно. Для молекулярной диагностики вирусных нуклеиновых кислот в образцах крови использовали ПЦР-наборы: АмплиСенс® HBV-FL, АмплиСенс® HDV-FL, АмплиСенс® HDV-Монитор-FL и АмплиСенс® HCV-FL (Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Россия). Выявление полиморфизма гена TM6SF2 rs58542926 в образцах цельной крови осуществлялось методом ПЦР с применением «Набора реагентов для выявления полиморфизма гена TM6SF2 rs58542926, разработанного и произведенного «ООО ROSSA» (Узбекистан). Статистический анализ данных выполнялся с использованием программ STATISTICA 7.0 (StatSoft) и Microsoft Excel. Для статистической обработки рассчитывали средние значения показателей (M) и стандартные ошибки средних (m). Статистическая значимость принималась при уровне $p < 0,05$.

Результаты исследования. Для оценки частоты встречаемости различных генотипов TM6SF2 rs58542926 среди обследуемых был проведен анализ, результаты которого представлены в таблице 1. Данное распределение позволяет провести сравнительный анализ между исследуемыми группами и выявить возможные ассоциации между вариантом гена и риском развития заболеваний печени, включая ГЦК.

В рамках проведенного исследования установлено, что минорный Т-аллель преимущественно встречался у больных с циррозом печени и ГЦК, тогда как среди здоровых лиц он не был выявлен. Наиболее высокая частота Т-аллеля зарегистрирована в группе пациентов с циррозом печени. Полученные данные, вероятно, отражают патогенетическую роль полиморфизма гена TM6SF2 rs58542926 в механизмах развития и прогрессирования хронических заболеваний печени.

Носительство минорного Т-аллеля полиморфизма гена TM6SF2 rs58542926, по результатам проведенного исследования, ассоциируется с прогрессированием хронических заболеваний печени и развитием цирроза печени, что подтверждается его наибольшей частотой именно в группе пациентов с циррозом печени. У больных ГЦК данный аллель также выявлялся значительно ча-

ще, чем среди здоровых лиц, что может свидетельствовать о его возможном участии в механизмах канцерогенеза печени. Отсутствие Т-аллеля в контрольной группе, вероятно, обусловлено как относительно небольшим размером выборки, так и низкой распространённостью этого генетического варианта в популяции в целом, что требует подтверждения в исследованиях с привлечением более крупных когорт. Учитывая, выявленную ассоциацию, носительство Т-аллеля у пациентов с циррозом печени может рассматриваться как потенциальный молекулярно-генетический маркер риска развития ГЦК. Его повышенная частота по сравнению со здоровыми лицами указывает на патогенетическую значимость данного полиморфизма, позволяя отнести его к числу генетических факторов предрасположенности к неблагоприятному течению заболеваний печени - от прогрессирования до цирроза и последующего злокачественного перерождения.

С целью выявления возможной ассоциации между полиморфизмом исследуемого гена и риском развития ГЦК был проведен сравнительный анализ по различным моделям наследования - аллельной, доминантной, рецессивной и сверхдоминантной, при этом в качестве контрольной группы рассматривались здоровые лица. Результаты анализа свидетельствуют о наличии ассоциации между Т-аллелем гена TM6SF2 rs58542926 и повышенным риском развития ГЦК, особенно выраженной при аллельной ($p=0,042$) и доминантной ($p=0,037$) моделях наследования. В то же время, рецессивная и сверхдоминантная модели не продемонстрировали статистически значимой связи с развитием заболевания. Таким образом, выявлена связь между носительством Т-аллеля полиморфизма гена TM6SF2 rs58542926 и повышенным риском развития гепатоцеллюлярной карциномы. Полученные результаты свидетельствуют о возможном участии данного генетического варианта в патогенезе хронических заболеваний печени и его перспективном использовании в качестве маркера генетической предрасположенности к опухолевой трансформации.

Обсуждение. Ряд исследований продемонстрировали, что белок TM6SF2 преимущественно экспрессируется в промежуточных структурах эндоплазматического ретикулума (ЭР) и ЭР-Гольджи комплексе в гепатоцитах линии HepG2, где он функционирует как мембранный компонент ЭР [12]. Мутация E167K, связанная с поли-

морфизмом rs58542926, приводит к усиленному клеточному делению и повышенной деградации самого белка TM6SF2. Снижение его экспрессии нарушает секрецию Toll-подобных рецепторов и влияет на образование липидных капель в клетках печени, что указывает на его роль в регуляции липидного обмена [13]. Дополнительно, вариант E167K оказывает влияние на клеточный цикл в клетках гепатоцеллюлярной карциномы (HEPA1–6), сопровождаясь повышением уровней циклина D1 и P53 и снижением экспрессии P27 - белка-ингибитора клеточного цикла. Эти изменения могут вызывать нарушения энергетического метаболизма и быть связаны с повышенным риском развития ГЦК [14]. Кроме того, данные последних исследований свидетельствуют о том, что TM6SF2 с мутацией E167K может не только повышать генетическую предрасположенность к развитию ГЦК, но и непосредственно участвовать в патогенетических механизмах опухолевого процесса. Так, в работе Du S. и соавторов показано, что сверхэкспрессия TM6SF2 E167K в клетках HEPA1–6 приводит к значительному увеличению экспрессии провоспалительных цитокинов IL-2 и IL-6, что указывает на его роль в усилении воспалительного ответа и повреждении клеток при ГЦК [15]. Это указывает на то, что данный вариант может усиливать воспалительные процессы и повреждение клеток при ГЦК.

Выявленная в исследовании наибольшая частота T-аллеля у пациентов с циррозом печени указывает на его роль как фактора риска именно фиброзных изменений, а уже через них - развития ГЦК. Важно отметить, что хотя T-аллель чаще встречался у пациентов с ГЦК, его частота была ниже, чем в группе с циррозом печени. Это подтверждает предположение о многофакторной природе развития ГЦК, где генетические полиморфизмы действуют не изолированно, а в сочетании с внешними и вирусными факторами. Отсутствие T-аллеля у здоровых лиц также подчёркивает его потенциальную значимость как маркер предрасположенности, однако для окончательных выводов необходимы более масштабные популяционные исследования. Модели ассоциации (аллельная и доминантная) показали статистически значимую связь между наличием T-аллеля и риском развития ГЦК, что делает его потенциально полезным в качестве генетического маркера для стратификации риска, особенно у пациентов с уже установленным диагнозом цирроза печени или хронического гепатита.

Выводы:

1. Наибольшая частота T-аллеля отмечена у пациентов с циррозом печени, что позволяет рассматривать его как маркер повышенного риска прогрессирования фиброза и потенциально - предиктор развития ГЦК.

2. Модели наследования (аллельная и доминантная) показали статистически значимую связь между T-аллелем и риском развития ГЦК, что подчёркивает его диагностический потенциал.

3. Учитывая полученные данные, полиморфизм гена TM6SF2 rs58542926 возможно использовать в качестве генетического маркера предрасположенности к тяжёлым формам заболеваний печени, особенно в группах высокого риска, однако его прогностическая ценность требует подтверждения в более широких когортах.

Литература:

1. Parola M., Pinzani M. (2019). Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Mol. Asp. Med.* 65, 37–55. 10.1016/j.mam.2018.09.002.
2. Collaborators G. B. D. C. The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the global Burden of disease study 2017. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.*, 2020.- 5 (3), 245–266. 10.1016/S2468-1253(19)30349-8.
3. Asrani S.K., Devarbhavi H., Eaton J., Kamath P.S. (2019). Burden of liver diseases in the world. *J. Hepatol.* 70 (1), 151–171. 10.1016/j.jhep.2018.09.014.
4. Llovet J.M., Zucman-Rossi J., Pikarsky E., Sangro B., Schwartz M., Sherman M., Gores G. Hepatocellular carcinoma, *Nature Reviews Disease Primers* 2016; 2: 16018.
5. Sartorius K., Sartorius B., Aldous C., Govender P.S., Madiba T.E. Global and country underestimation of hepatocellular carcinoma (HCC) in 2012 and its implications, *Cancer Epidemiology*, 2015; 39: 284–290.
6. Stickel F., Buch S., Nischalke H.D., Weiss K.H., Gotthardt D. et. Genetic variants in PNPLA3 and TM6SF2 predispose to the development of hepatocellular carcinoma in individuals with alcohol-related cirrhosis, *American journal of gastroenterology*, 2018; 113: 1475–1483.
7. Vespasiani-Gentilucci U., Gallo P., Dell'Unto C., Volpentesta M., Antonelli-Incalzi R., Picardi A. Promoting genetics in non-alcoholic fatty liver disease: Combined risk score through polymorphisms and clinical variables, *World J Gastroenterol*, 2018; 24: 4835–4845.
8. Eslam M., Mangia A., Berg T., Chan H.L., Irving W.L., et. Diverse impacts of the rs58542926 E167K variant in TM6SF2 on viral and metabolic liver disease phenotypes, *Hepatology*, 2016; 64: 34–46.
9. Fan Y., Lu H., Guo Y., Zhu T., Garcia-Barrio M.T., Jiang Z., Willer C.J., Zhang J., Chen Y.E. Hepatic Transmembrane 6 Superfamily Member 2 Regulates Cholesterol Metabolism in Mice, *Gastroenterology*, 2016; 150: 1208–1218.

10. Donati B., Dongiovanni P., Romeo S., Meroni M., McCain M., Miele L., et. MBOAT7 rs641738 variant and hepatocellular carcinoma in non-cirrhotic individuals, *Sci Rep*, 2017; 7: 4492.
11. Liu Y.L., Reeves H.L., Burt A.D., Tiniakos D., McPherson S., Leathart J.B., et. TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease, *Nature Communications*, 2014; 5: 4309.
12. Carim-Todd L., Escarceller M., Estivill X., Sumoy L. Cloning of the novel gene TM6SF1 reveals conservation of clusters of paralogous genes between human chromosomes 15q24-->q26 and 19p13.3-->p12, *Cytogenet Cell Genet*, 2000; 90: 255–260.
13. Mahdessian H., Taxiarchis A., Popov S., Silveira A., Franco-Cereceda A., Hamsten A., Eriksson P., VanT H.F. TM6SF2 is a regulator of liver fat metabolism influencing triglyceride secretion and hepatic lipid droplet content, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014; 111: 8913–8918.
14. Du S., Lu L., Miao Y., Jin W., Li C., Xin Y., Xuan S. E167K polymorphism of TM6SF2 gene affects cell cycle of hepatocellular carcinoma cell HEPA 1–6, *Lipids in Health and Disease*, 2017; 16: 76.
15. Du S., Liao S., Liu S., Xin Y. TM6SF2 E167K Variant Overexpression Promotes Expression of Inflammatory Cytokines in the HCC Cell Line HEPA 1–6, *J Clin Transl Hepatology*, 2019; 7: 27–31.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА TM6SF2 RS58542926 С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ И ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМОЙ

Миррахимова Н.М., Ибадуллаева Н.С., Ходжаева М.Э., Хикматуллаева А.С., Абдукадырова М.А.

Резюме. Цель: Анализ распределения генотипов и аллелей полиморфизма rs58542926 гена TM6SF2 среди пациентов с различными формами заболеваний печени и оценка потенциальной ассоциации данного генетического варианта с риском развития гепатоцеллюлярной карциномы. Материалы и методы: В исследование включены 159 пациентов: 30 с хроническим гепатитом, 37 с циррозом печени, 92 с гепатоцеллюлярной карциномой, а также 30 здоровых лиц, составивших контрольную группу. Выявление полиморфизма rs58542926 гена TM6SF2 в образцах цельной крови проводилось методом ПЦР. Результаты: Выявлена ассоциация между носительством аллеля Т полиморфизма rs58542926 гена TM6SF2 и повышенным риском развития гепатоцеллюлярной карциномы. Полученные результаты указывают на потенциальную роль данного генетического варианта в прогрессировании хронических заболеваний печени и его возможное использование в качестве маркера генетической предрасположенности к опухолевой трансформации. Заключение: Наибольшая частота аллеля Т наблюдалась у пациентов с циррозом печени, что указывает на его роль в качестве маркера повышенного риска прогрессирования фиброза и потенциального предиктора развития гепатоцеллюлярной карциномы.

Ключевые слова: TM6SF2, полиморфизм rs58542926, цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома.