

Interleukinų IL1A ir IL6 genų polimorfizmas: sąsajų su APOE genotipu ir sporadinės Alzheimerio ligos klinicine eiga paieška

G. Pšemeneckienė
K. Petrikonis
D. Rastenytė

Lietuvos sveikatos mokslų
universitetas, Medicinos
akademija, Neurologijos klinika

Santrauka. *Įvadas.* Yra duomenų, kad IL1 ir IL6, kaip vieni svarbiausių citokinų, dalyvaujančių neurodegeneracijos procesuose, genų polimorfizmai yra susiję su Alzheimerio ligos (AL) rizika. Šiame tyrime siekėme įvertinti IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų sąsajas su sporadinės AL rizika APOE 4 nešiotojams ir APOE rizikos alelio neturintiems asmenims. Taip pat tyrėme IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų sąsajas su AL progresavimo pobūdžiu.

Tiriamieji ir tyrimo metodai. Tyrime dalyvavo 110 sergančiųjų sporadine AL ir 115 sutapatintų pagal amžių ir lytį sveikų kontrolinių tiriamųjų, kurių pažinimo funkcijos nesutrikusios (Lietuvos populiacija). IL1A -889C>T (rs1800587) ir IL6 -174G>C (rs1800795, Intro tipo) genotipavimas atliktas tikro laiko PGR (TL-PGR) metodu.

Rezultatai. IL1A -889C>T genotipų dažniai APOE4+ grupėje (C/C – 52,9 %, C/T – 41,2 %, T/T – 5,9 %), lyginant su APOE4- sergančiais AL (C/C – 55,6 %, C/T – 37,0 %, T/T – 7,4 %), nesiskyrė (p = 0,887). Sergantiems AL pacientams IL6 -174G>C genotipai APOE4+ grupėje (G/G – 11,8 %, G/C – 62,7 %, C/C – 25,5 %) ir APOE4- grupėje (G/G – 14,8 %, G/C – 61,1 %, C/C – 24,1 %) buvo pasiskirstę panašiai (p = 0,898). Genotipų dažniai reikšmingai nesiskyrė sergantiems greitai progresuojančia AL, lyginant su lėtai progresuojančia AL (p (IL1A -889C>T) = 0,638; p (IL6 -174G>C) = 0,118). IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų paveldėjimas (dominantinio, overdominantinio ir recesyvinio modelių), atsižvelgiant į APOE genotipą, reikšmingai nekeitė galimybių santykio sirgti AL (p < 0,05). Lėtai ir greitai progresuojančios AL grupėse IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų paveldėjimas AL galimybei reikšmingos įtakos neturėjo (p < 0,05).

Išvados. IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C genotipų pasiskirstymas grupėse pagal APOE 4 ir grupėse pagal AL progresavimo pobūdį reikšmingai nesiskyrė. Reikšmingų IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų sąsajų su AL rizika nei APOE4+, nei APOE4- tiriamiesiems nenustatyta. Mūsų duomenimis, IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų paveldėjimas nesusijęs su spartesniu AL progresavimu.

Raktažodžiai: Alzheimerio liga, IL1A, IL6, polimorfizmas, APOE.

ĮVADAS

Alzheimerio liga (AL) – labiausiai paplitusi neurodegeneracinė centrinės nervų sistemos (CNS) liga ir dažniau-

sia demencijos priežastis [1]. Pagrindine AL patogenezės grandimi laikomi toksinis amiloido beta (A β) kaupimasis ir tau baltymo (Tau) pokyčiai. Uždegiminiai procesai taip pat reikšmingi AL neurodegeneracijai, ir galimai inicijuoja bei palaiko A β ir Tau patogenezės kaskadą galvos smegenyse [2, 3]. Transgeninių pelių modeliuose įrodyta, kad dėl pataloginio A β 1-42 peptido poveikio didėja tumoro nekrozės faktoriaus alfa (TNF α), interleukinų IL6, IL8, pro-IL1-beta bei kitų uždegimo mediatorių koncentracijos [4]. Amiloido sankaupų aplinkoje stimuliuojama mikroglija, aktyvėja uždegimo mediatorių ga-

Adresas:

Greta Pšemeneckienė
LSMU MA, Neurologijos klinika
Eivenių g. 2, LT-50161, Kaunas
El. paštas greta.psemeneckiene@lsmuni.lt

© Neurologijos seminarai, 2019. Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License CC-BY 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

myba [5, 6]. Be to, IL1 siejamas su pataloginiu amiloido pirmtako baltymo (angl. *Amyloid precursor protein*, APP) skilimo keliu [7–9], astrocituose IL1 indukuoja IL6 gamybą, stimuliuoja azoto oksido sintazių aktyvumą, sustiprina neuronų acetilcholinesterazės veikimą, skatina mikroglijos aktyvaciją ir papildomo IL1 išsiskyrimą, astrocitų aktyvaciją – lemia save palaikantį uždegimo procesų ciklą [10, 11]. Manoma, kad interleukino 1 genų ekspresija taip pat turi įtakos neurodegeneracijai ir amiloido metabolizmui per mikroglijos aktyvaciją, neurouždegiminiam procesui [12, 13]. Buvo publikuota, kad IL1A -889 T alelis yra susijęs su didesne AL rizika [14–16]. Tačiau yra ir neigiamų rezultatų, kad IL1A -889C>T polimorfizmas AL rizikai reikšmingos įtakos neturi [17, 18]. Metaanalizėse patvirtinta, kad reikšmingos IL1A -889C>T polimorfizmo sąsajos su AL nustatytos tik europidų rasės, bet ne azijiečių kilmės tiriamiesiems [19, 20]. Yra duomenų, kad IL1A -889C>T polimorfizmas skirtingai pasireiškia priklausomai nuo APOE 4 genotipo [21], galimai lemia skirtingą klinikinę eigą, progresavimo greitį [22].

Interleukinas 6 (IL6) yra už keletą funkcijų atsakingas citokinas, atliekantis svarbų apsauginį vaidmenį reguliuojant uždegiminį atsaką. Jis pasižymi tiesioginiu ir netiesioginiu neurotrofiniu poveikiu neuronams [10]. IL6 skatina astrogliazę, aktyvuoja mikroglijos ląsteles, stimuliuoja ūmios fazės uždegiminių baltymų produkciją [9, 10, 23], gali indukuoti neuronų diferenciaciją [24]. *In vitro* tyrimuose nustatyta, kad padidėjusi IL6 geno ekspresija aktyvina procesus, indukuojančius tau baltymo fosforilinimą, spartina neurofibrilinių tinklelių formavimąsi [25]. Daugiausia duomenų, kad IL6 -174G>C polimorfizmas pasižymi apsauginiu poveikiu ir susijęs su mažesne AL rizika [12, 26]. Ši teiginį patvirtina ir tyrimas su 1246 tiriamaisiais (Italijos populiacija), kur IL6 -174 G/G genotipas buvo reikšmingai dažnesnis AL sergantiesiems, lyginat su pažinimo funkcijų sutrikimo neturinčiais asmenimis [27]. Tačiau kai kuriuose tyrimuose reikšmingų sąsajų su AL rizika nenustatyta [16, 28]. Kol kas nepakanka tyrimais pagrįstų įrodymų dėl IL6 -174G>C polimorfizmo reikšmės Alzheimerio ligai [16]. Dar mažiau analizuotos IL6 -174G>C sąsajos su APOE 4 polimorfizmu, vertinant AL riziką. Kita vertus, yra duomenų, kad apolipoproteino E (APOE) 4 alelio paveldėjimas, kaip svarbiausias genetinis sporadinės AL rizikos veiksnys, susijęs su neurouždegimu. Nustatyta tarpusavio sąveika tarp pataloginės amiloidogenezės, apolipoproteino E ir branduolio faktoriaus kapa B (angl. *Nuclear factor kappa B*, NF B), kuris reguliuoja ir uždegimo mediatorių genų raišką [6]. Tikėtinos sąsajos su AL rizika iki šiol yra prieštaringos. Priklausantys nuo rasės, etninės grupės, IL1A ir IL6 genų polimorfizmų duomenys paskatino analizuoti IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmus ir jų sąsajas su APOE genotipu bei sporadinės AL klinikinę eigą. Genetinių rizikos veiksnių išaiškinimas yra ne tik svarbus analizuojant uždegiminių procesų reikšmę AL patogenezėje, bet ir galėtų būti naudingas personalizuoto gydymo ir prevencijos metodų paieškose.

DARBO TIKSLAS

Šiuo tyrimu siekėme įvertinti interleukinų IL1A -889C>T (rs1800587) ir IL6 -174G>C (rs1800795) vieno nukleotido polimorfizmų pasiskirstymą, atsižvelgiant į APO 4 buvimą, ir jų sąsajas su AL rizika. Taip pat kėlėme hipotezę, kad interleukinų IL1 ir IL6, kaip vienu svarbiausių uždegimo mediatorių, genų polimorfizmai yra galimai susiję su spartesniu AL progresavimu.

TIRIAMIEJI IR TYRIMO METODAI

Dalyvauti atvejo kontrolės tyrime buvo kviečiami Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikos (LSMUL KK) Neurologijos klinikos geros somatinės būklės pacientai, atitinkantys įtraukimo ir neįtraukimo kriterijus, pasirašytinai sutikę dalyvauti tyrime. Visi Alzheimerio ligos (AL) grupės pacientai buvo konsultuojami ir kviečiami į tyrimą dalyvaujant lydinčiam asmeniui (paciento atstovui), dažniausiai sutuoktiniui arba vaikui. Tyrimui atlikti buvo gautas Kauno regioninio biomedicinos tyrimų etikos komiteto leidimas (2017-12-19 Nr. BE-2-47, papildymas 2018-03-22 Nr. P1-BE-2-47/2017) ir Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos leidimas atlikti asmens duomenų tvarkymo veiksmus (2018-04-10 Nr. 2R-2603 (2.6-1.)).

Įtraukimo kriterijai:

Pagrindinę AL sergančiųjų grupę sudarė asmenys, kuriems buvo diagnozuota sporadinė tikėtina AL pagal NINCDS-ADRDA diagnostinius kriterijus [29, 30]. Kontrolinę tiriamųjų grupę (K) sudarė asmenys, sutapatinti pagal amžių ir lytį, kurie buvo tiriami ar gydomi Neurologijos klinikoje dėl kitų, ne neurodegeneracinės kilmės ligų, neturintys pažinimo funkcijų sutrikimo, savanoriškai sutikę dalyvauti moksliniame tyrime.

Atmetimo kriterijai:

Asmenys, kuriems buvo įtariama ar nustatyta uždegiminė ar kita neurodegeneracinė nervų sistemos liga (PL, ŠAS, FTD, IS ir pan.), ilgą laiką vartojantys pažinimo funkcijas veikiančius vaistus, į tyrimą nebuvo įtraukti. Šiurkštus neurologinis deficitas (regos sutrikimas, afazija, parėzė, ryški ataksija, išreikšta ekstrapiramidinė simptomatika) ar išreikšta psichikos liga (šizoafektinės būklės, sunki depresija, priklausomybės), dekompenzuota somatinė patologija (išplitusi onkologinė liga, širdies, inkstų ar kepenų funkcijos nepakankamumas ir kt.) taip pat laikyti atmetimo kriterijais.

Visi tiriamieji buvo europidų rasės, ilgą laiką nuolatini gyventantys Lietuvos Respublikoje, laisvai kalbantys ir skaitantys lietuvių kalba. Didžioji dalis tiriamųjų buvo lietuvių tautybės.

Tyrimo metodai

Visiems tyrime dalyvaujantiems asmenims atlikta anketinė apklausa, demografiniams duomenims, ligos ir šeimiinei anamnezei, rizikos veiksniams (žalingi įpročiai, išsila-

1 lentelė. Alzheimerio ligos ir kontrolinės tiriamųjų grupių charakteristikos

Charakteristika	Alzheimerio liga (n = 110)	Kontrolinė grupė (n = 115)	P reikšmė
Lytis, n (%)			
vyrų	37 (33,6)	39 (33,9)	0,965
moterų	73 (66,4)	76 (66,1)	
Amžius (m.)	74,5 (69,8 – 79,0)	73,0 (68,00 – 78,00)	0,323
MMSE (balai)	19 (15,0 – 21,0)	28 (28,00 – 30,00)	0,001
Blessedo sk. (balai)	10 (7,0 – 13,5)	-	-
Išsimokslinimas (m.)	12 (8,0 – 15,0)	14 (11,00 – 16,00)	0,002
KMI (kg / m ²)	25,5 (23,2 – 28,9)	26,53 (23,30 – 30,86)	0,009
Šeiminė anamnezė (+)	38 (34,5)	18 (15,7)	0,001
APOE4+, n (%)	51 (48,6) (n = 105)	29 (26,4) (n = 110)	0,001

MMSE – Protinės būklės mini testo įvertis, Blessedo sk. – Blessedo demencijos skalės įvertis, KMI – kūno masės indeksas, APOE4+ – bent vieno APOE 4 alelio nešiotojai.

Kiekybinių požymių rezultatai pateikti – mediana (1 kvartilis – 3 kvartilis), kokybinių – n (%). Palyginimui taikytas Mann-Whitney U testas (kiekybiniais) ir Pirsono chi-kvadrato testas (kokybiniais požymiais), reikšmingas skirtumas (p < 0,05) – **paryškinti**.

vinimas, kraujagysliniai įvykiai, galvos smegenų trauma anamnezėje), vartojamiems vaistams įvertinti. Kūno masės indeksas (KMI) skaičiuotas pagal standartinę formulę: $KMI = \text{kūno masė (kg)} / \text{ūgis (m)}^2$. Tiriamųjų išsimokslinimas vertintas bendru mokymosi metų skaičiumi (sumuojant studijų metus pagal vidurinio ir aukštesniojo / aukštojo išsilavinimo programas). Šeiminė anamnezė laikyta teigiama, jei žinomas bent vienas patvirtintas demencijos atvejis tarp pirmos ir antros eilės giminaičių. Standartinio neurologinės būklės vertinimo metu objektyvuota židininė ir ekstrapiramidinė simptomatika. Pažinimo funkcijos vertintos pirmoje dienos pusėje, išlaikant sąlygą, kad 30–90 min. iki neuropsichologinių testų taikymo nebūtų atliekamos kitos diagnostinės procedūros ar išplėstinės konsultacijos. Vertinimui taikyti standartizuoti testai ir klausimynai: Protinės būklės mini testas (*Mini Mental State Exam*, MMSE), laikrodžio piešimo testas (*Clock Drawing Test*, CDT). AL grupės pacientams buvo atliekamas kasdienės veiklos, įgūdžių, asmenybės pokyčių tyrimas, taikant Blessedo demencijos skalę [30].

Pagal APOE genotipą, sergančiuosius AL ir kontrolinės grupės tiriamuosius išskyrėme į atskiras pogrupes: APOE4+ – bent vieno 4 alelio nešiotojai, APOE4- – neturintys nė vieno 4 alelio. Be to, AL grupės tiriamieji buvo stebėti, dinamikoje vertintos pažinimo funkcijos, neurologinė būklė, gretutinės ligos. Šešiasdešimt AL grupės tiriamųjų atvyko pakartotiniam vizitui (54,5 %). Stebėjimo mėnesių vidurkis – 15,82 mėn. (SN ± 6,38, mediana 15,50 (interkvartilinis plotis – 11,0–22,0)). Greitai progresuojančios AL grupei priskirti pacientai, kurių MMSE įvertis stebėjimo laikotarpiu sumažėjo 2 balais per 12 mėn.

Periferinio veninio kraujo mėginiai apolipoproteino E (APOE), IL1A ir IL6 genų polimorfizmo tyrimui paimti į du vakuuminius mėgintuvėlius su etilendiamintetraacetatu (EDTA, violetiniu kamšteliumi, 5 ml talpos, iš viso 10 ml). Dezoksiribonukleino rūgštys (DNR) išskirtos iš periferinio kraujo limfocitų automatinio silikagelio kolonėliniu metodu, naudojant komercinį standartinį DNR išskyrimo

rinkinį *QIAmp®DNA Blood Mini Kit* (Qiagen, Vokietija), pagal gamintojo rekomendacijas ir protokolus, taikant QIAcube išskyrimo robotą.

Apolipoproteino E (APOE) 4 alelio polimorfizmas buvo tiriamas hibridizacijos metodu, laikantis reagento gamintojo tyrimo protokolo (*GenoType ApoE, ver. 1.0, 2015, Hain Lifescience GmbH, Vokietija*). Galimi genotipų variantai – APOE 2/2, 2/3, 3/3, 3/4, 4/4, 4/2.

Interleukinų IL1A -889C>T (rs1800587) ir IL6 -174G>C (rs1800795, Intron tipo) genotipavimas atliktas tikro laiko PGR (TL-PGR) metodu. Naudotas TL-PGR rinkinys *Type-it Fast SNP Probe PCR Kit* (Qiagen, Vokietija) bei nukleotidų pradmenys ir zondai (*TaqMan®*, *ThermoFischer Scientific*, Didžioji Britanija). Pradmenų sekos: IL1A -889C>T (rs1800587) – GAT TTT TAC ATA TGA GCC TTC AAT G[A/G]T GTT GCC TGG TTA CTA TTA TTA AAG (*TaqMan®*, *ThermoFischer Scientific*, Didžioji Britanija); ACT TTT CCC CCT AGT TGT GTC TTG C[C/G]A TGC TAA AGG ACG TCA CAT TGC ACA (*TaqMan®*, *ThermoFischer Scientific*, Didžioji Britanija). Į Ependorf tipo mėgintuvėlį (laikant šaltai, ant šaldomo blokelių) buvo ruošiamas TL-PGR mišinys reikiamam mėginių skaičiui – tiriami mėginiai ir kontroliniai mėginiai (neigiama kontrolė – vanduo). Mišinio sudėtis vienai reakcijai:

- Type-it Fast SNP Probe PCR Master Mix – 12,5 µl;
- TaqMan pradmenys ir zondai – 1,25 µl;
- DNR (20 ng/µl) – 1 µl;
- Dejonizuotas vanduo – iki 25 µl (galutinis reakcijos tūris).

TL-PGR reakcija buvo vykdoma tikro laiko PGR gautintuvu „Rotor – Gene Q“ (Qiagen, Vokietija) pagal programą: 1 ciklas – 5 min. 95 °C, 40 ciklų – 15 sek. 95 °C ir 30 sek. 60 °C temperatūroje. Genotipui nustatyti taikyta „Alelių nustatymo“ programa, paremta fluorescencijos metodu, pagal skirtingų detektorių intensyvumo santykį nustatant genotipą. Rezultatai vertinami atliekant analizę geltonajame (*Cycling A. Yellow*) ir žaliajame (*Cycling*

2 lentelė. Interleukinų IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C alelių ir genotipų pasiskirstymas sergančiųjų Alzheimerio liga ir kontrolinėje grupėje, atsižvelgiant į APOE genotipą

Polimorfizmas	Genotipas / alelis	Dažnis, n (%)						
		Kontrolinė grupė (N = 115)			Alzheimerio liga (N = 110)			P reikšmė
		APOE4-, n (%)	APOE4+, n (%)	P reikšmė	APOE4-, n (%)	APOE4+, n (%)	P reikšmė	
IL1A -889C>T (rs1800587)	Genotipas			0,887			0,887 ¹	0,920 ² 0,738 ³
	C/C	42 (52,5)	14 (48,3)		30 (55,6)	27 (52,9)		
	C/T	34 (42,5)	13 (44,8)		20 (37,0)	21 (41,2)		
	T/T	4 (5,0)	2 (6,9)	4 (7,4)	3 (5,9)			
	Iš viso	80	29	54	51			
	Alelis							
C	118 (73,8)	41 (70,7)	80 (74,1)	75 (73,5)				
T	42 (26,2)	17 (29,3)	28 (25,9)	27 (26,5)				
IL6 -174G>C (rs1800795)	Genotipas			0,758			0,898 ¹	0,877 ² 0,697 ³
	G/G	8 (10,0)	4 (13,8)		8 (14,8)	6 (11,8)		
	G/C	51 (63,8)	19 (65,5)		33 (61,1)	32 (62,7)		
	C/C	21 (26,3)	6 (20,7)	13 (24,1)	13 (25,5)			
	Iš viso	80	29	54	51			
	Alelis							
G	94 (43,1)	27 (46,6)	49 (45,4)	44 (43,1)				
C	124 (56,9)	31 (53,4)	59 (54,6)	58 (56,9)				

N – tiriamųjų skaičius grupėje, AL – Alzheimerio liga, K – kontrolinė grupė, APOE4+ – bent vieno APOE 4 alelio nešiotojai, APOE4- – neturintys nė vieno APOE 4 alelio; lyginta grupėse: p – K grupėje APOE4+ vs APOE4-; p¹ – AL grupėje APOE4+ vs APOE4-; p² – APOE4+ grupėje AL vs K; p³ – APOE4- grupėje AL vs K.

A. Green) kanaluose. Geltonajame kanale (naudojamas VIC fluorescencinis žymuo) amplifikacija vyko esant IL1A -889T ir IL6 -174C aleliams, žaliajame kanale (naudojamas FAM fluorescencinis žymuo) amplifikacija vyko esant IL1A -889C ir IL6 -174G aleliams. Heterozigotinio genotipo atveju amplifikacija stebima abiejuose kanaluose. Galimi IL1A -889 (rs1800587) genotipo variantai – C/C, C/T, T/T; IL6 -174 (rs1800795) genotipo variantai – G/G, G/C, C/C.

Statistinis duomenų apdorojimas

Statistinė analizė atlikta taikant kompiuterinę duomenų kaupimo ir analizės programą SPSS 23.0 (*Statistical Package for the Social Sciences, IBM® SPSS Statistics, JAV*). Skirstinių normalumo prielaida tikrinta naudojant Shapiro-Wilk testą. Duomenys neturėjo normaliojo skirstinio, todėl analizei buvo taikyti neparametriniai statistiniai metodai. Kiekybinių kintamųjų rezultatai pateikti mediana (1 kvartilis – 3 kvartilis), kategorinių – dažniu (proc.). Statistiniam palyginimui tarp grupių taikytas Mann-Whitney U testas. Genotipų ir alelių pasiskirstymas vertintas pagal Hardy-Weinberg pusiausvyros dėsnį (HWE, *Hardy-Weinberg equilibrium*, atitinka HWE, kai $p > 0,05$). Genotipų ir alelių pasiskirstymo homogeniškumui palyginti atvejo ir kontrolės grupėse taikytas Pirsono chi-kvadrato testas (*Pearson's chi-square test*, ²). Logistinė regresija taikyta ryšiui tarp atvejo (priklausomo kintamojo – Alzheimerio liga) galimybės ir kitų (nepriklausomų) kintamųjų išreikšti. Buvo skaičiuotas rizikos veiksnio veikiamų ir neveikiamų tiriamųjų galimybių sirgti AL santykis (GS) su 95 % pasikliautinoju intervalu (95 % PI). Pasirenkant geriausia

paveldėjimo modelį, vertintas Akaike informacinis kriterijus (AIC), kurio mažiausia vertė nurodo tinkamiausią modelį. Statistinėms hipotezėms patikrinti pasirinktas reikšmingumo lygmuo $p < 0,05$.

REZULTATAI

Iš viso į tyrimą įtraukti 225 asmenys, iš jų – 110 sergančiųjų AL ir 115 kontrolinės grupės asmenų. Alzheimerio ligos (AL) ir kontrolinės (K) grupių charakteristikos pateikiamos 1 lentelėje.

Sergančiųjų AL grupės pagal APOE 4 alelį (APOE4+ vs APOE4-) nesiskyrė pagal amžių ($p = 0,395$), lytį ($p = 1,00$) ir išsimokslinimą ($p = 0,268$). Nenustatėme skirtumų ir pagal klinikinius požymius (MMSE – $p = 0,165$, Blessedo sk. – $p = 0,49$). Žemesnis KMI stebėtas APOE+ grupės pacientams ($p = 0,013$). Kontrolinių APOE4+ / APOE4- grupės taip pat buvo panašios pagal išvardintus požymius ($p > 0,05$). Sergančiųjų AL grupėse pagal progresavimą, reikšmingų pažinimo funkcijų rodiklių, kasdienės veiklos sutrikimo, išsimokslinimo, KMI skirtumų pradiniame stebėjimo taške (įtraukimo į tyrimą metu) tarp grupių nenustatyta ($p > 0,05$). Tarp greitai progresuojančios AL sergančiųjų teigiamos šeiminės anamnezės atvejų ir APOE 4 alelio nešiotojų dažniai, lyginant su lėtai progresuojančios AL pacientais, taip pat reikšmingai nesiskyrė.

Nustatytas IL1A -889C>T genotipų pasiskirstymas atitiko Hardy-Weinberg pusiausvyros dėsnį (*Hardy-Weinberg equilibrium*, HWE) AL ir kontrolinėje grupėse (AL gr. – HWE $p = 0,97$; K gr. – HWE $p = 0,61$). Interleuki-

3 lentelė. Interleukinų IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų ir Alzheimerio ligos sąsajos, atsižvelgiant į APOE genotipą (logistinė regresinė analizė)

Polimorfizmas	APOE	Paveldėjimo modelis	Genotipas	GS (95 % PI)	P reikšmė	AIC
IL1A -889C>T (rs1800587)	APOE4+	Dominantinis	C/C C/T + T/T	1 0,853 (0,334 - 2,181)	0,740	97,6
		Overdominantinis	C/C + T/T C/T	1 0,870 (0,341 - 2,221)	0,771	95,2
		Recesyvinis	C/C + C/T T/T	1 0,922 (0,136 - 6,237)	0,934	84,5
	APOE4-	Dominantinis	C/C C/T + T/T	1 0,860 (0,428 - 1,730)	0,673	135,6
		Overdominantinis	C/C + T/T C/T	1 0,768 (0,376 - 1,568)	0,468	154,7
		Recesyvinis	C/C + C/T T/T	1 1,567 (0,371 - 6,612)	0,541	122,8
IL6 -174G>C (rs1800795)	APOE4+	Dominantinis	G/G G/C + C/C	1 1,185 (0,470 - 3,149)	0,687	83,5
		Overdominantinis	G/G + C/C G/C	1 0,888 (0,342 - 2,310)	0,808	89,1
		Recesyvinis	G/G + G/C C/C	1 1,302 (0,430 - 3,941)	0,640	88,9
	APOE4-	Dominantinis	G/G G/C + C/C	1 0,636 (0,221 - 1,828)	0,401	125,6
		Overdominantinis	G/G + C/C G/C	1 0,918 (0,442 - 1,907)	0,818	140,6
		Recesyvinis	G/G + G/C C/C	1 0,852 (0,376 - 1,929)	0,701	134,5

APOE4+ - bent vieno APOE 4 alelio nešiotojai, APOE4- - neturintys nei vieno APOE 4 alelio; GS - galimybių santykis, PI - pasiskliautinieji intervalai, P - reikšmingumo lygmuo, AIC - Akaike informacinis kriterijus.

no IL6 -174G>C genotipų dažniai neatitiko HWE dėsnio tiek AL, tiek K grupėje ($p < 0,05$). Tirtų rizikos alelių dažniai sergantiesiems AL ir sveikiems kontroliniams asmenims buvo panašūs (AL vs K, IL1A -889T: 55 (25,7 %) vs 59 (27,1 %), $p = 0,748$; AL vs K, IL6 -174G: 118 (55,1 %) vs 124 (56,9 %), $p = 0,716$). Analizuodami AL sergančiųjų ir K grupės tiriamųjų IL1A -889C>T bei IL6 -174G>C genotipų ir alelių pasiskirstymą tarp vyrų ir moterų, statistiškai reikšmingų skirtumų, atsižvelgiant į lytį, nenustatėme.

Uždegimo mediatorių IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C genotipų pasiskirstymas APOE 4 nešiotojams ir neturintiems nė vieno 4 alelio (APOE4+ vs APOE4-) nesiskyrė nei kontroliniams (p , 2 lentelė), nei sergantiesiems AL (p^1). Taip pat negauta reikšmingų IL1A -889C>T bei IL6 -174G>C polimorfizmų dažnių skirtumų ir lyginant sergančiuosius AL su kontroliniais APOE 4 nešiotojais (APOE4+: AL vs K, p^2), bei neturinčius APOE 4 alelio AL ir K grupės tiriamuosius (APOE4-: AL vs K, p^3 , 2 lentelė).

Polimorfizmų (IL1A -889C>T, IL6 -174G>C) ir Alzheimerio ligos sąsajoms, atsižvelgiant į APOE genotipą, įvertinti taikyta logistinė regresinė analizė, kontroliuojant pagal amžių ir lytį (3 lentelė). Nė vienam galimam polimorfizmų paveldėjimo modeliui (dominantinis, overdominantinis, recesyvinis), nei APOE 4 nešiotojams, nei neturintiems APOE rizikos alelio, reikšmingų sąsajų su galimybe sirgti AL nenustatėme ($p > 0,05$).

Grupėse pagal AL pažinimo funkcijų sutrikimo progresavimo pobūdį, IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C genotipų pasiskirstymas reikšmingai nesiskyrė (IL1A -889C>T: greitai progresuojanti AL, n (%) C/C - 20 (54,1), C/T - 14 (37,8), T/T - 3 (8,1) vs lėtai progresuojanti AL, n (%) C/C - 10 (45,5), C/T - 11 (50,0), T/T - 1 (4,5), $p = 0,638$; IL6 -174G>C: greitai progresuojanti AL, n (%) G/G - 7 (18,9), G/C - 26 (70,3), C/C - 4 (10,8) vs lėtai progresuojanti AL, n (%) G/G - 2 (9,1), G/C - 13 (59,1), C/C - 7 (31,8), $p = 0,118$). Taip pat nenustatyta IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C genotipų dažnių skirtumų atsižvelgiant į AL progresavimo pobūdį, lyginant su kontroline grupe (lėtai progresuojanti AL vs K: p (IL1A -889C>T) = 0,838, p (IL6 -174G>C) = 0,783; greitai progresuojanti AL vs K: p (IL1A -889C>T) = 0,769, p (IL6 -174G>C) = 0,134). Atsižvelgiant į AL progresavimo pobūdį, reikšmingų sąsajų tarp interleukinų IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų bei AL rizikos nenustatėme (logistinė regresija be papildomų nepriklausomų kintamųjų, 4 lentelė).

REZULTATŲ APTARIMAS

Alzheimerio ligos patogenezė ir rizikos veiksniai jau kelis dešimtmečius išlieka aktualiu mokslinių tyrimų objektu, tačiau neatsakytų klausimų nemažėja. Pagrindinis tikslas, skatinantis tęsti genų polimorfizmų nulemtą priežastinio

4 lentelė. Interleukinų IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų ir Alzheimerio ligos sąsajos, atsižvelgiant į Alzheimerio ligos progresavimo pobūdį (logistinė regresinė analizė)

Polimorfizmas	Alzheimerio liga	Paveldėjimo modelis	Genotipas	GS (95 % PI)	P reikšmė	AIC
IL1A -889C>T (rs1800587)	Lėtai progresuojanti	Dominantinis	C/C C/T + T/T	1 1,268 (0,510 – 3,180)	0,613	12,126
		Overdominantinis	C/C + T/T C/T	1 1,319 (0,527 – 3,300)	0,554	12,129
		Recesyvinis	C/C + C/T T/T	1 0,817 (0,093 – 7,150)	0,855	10,555
	Greitai progresuojanti	Dominantinis	C/C C/T + T/T	1 0,898 (0,425 – 1,897)	0,778	12,941
		Overdominantinis	C/C + T/T C/T	1 0,803 (0,374 – 1,730)	0,574	12,895
		Recesyvinis	C/C + C/T T/T	1 1,515 (0,359 – 6,390)	0,572	11,680
IL6 -174G>C (rs1800795)	Lėtai progresuojanti	Dominantinis	G/G G/C + C/C	1 1,237 (0,257 – 5,960)	0,791	11,116
		Overdominantinis	G/G + C/C G/C	1 0,805 (0,316 – 2,050)	0,649	12,092
		Recesyvinis	G/G + G/C C/C	1 1,417 (0,523 – 3,840)	0,493	11,968
	Greitai progresuojanti	Dominantinis	G/G G/C + C/C	1 0,530 (0,192 – 1,470)	0,222	12,329
		Overdominantinis	G/G + C/C G/C	1 1,317 (0,588 – 2,950)	0,503	12,791
		Recesyvinis	G/G + G/C C/C	1 0,368 (0,119 – 1,134)	0,082	12,130

GS – galimybių santykis, PI – pasikliautinieji intervalai, P – reikšmingumo lygmuo, AIC – Akaike informacinis kriterijus.

ryšio ar netiesioginių sąsajų su AL rizika paieškas – galimybė nuspėti ligos tikimybę ikiklinikinėje stadijoje, o tobulėjant genų technologijoms, galimai ir išvengti AL. Interleukino IL1 vaidmuo svarbiausias AL patogenezės pradžioje, jis palaiko A sankauptį atsidėjimą, veikia jungdamasis su IL1 receptoriais galvos smegenyse. Didžiausia IL1 receptoriaus koncentracija sergantiesiems AL nustatoma dantytojo vingio ir piramidinėse Amono rago ląstelėse, o šios struktūros ir yra svarbiausios ankstyvoje AL patogenezėje [31]. Interleukinas 6 pasižymi tiek uždegimą aktyvuojančiu, palaikančiu, tiek apsauginiu poveikiu, priklausomai nuo esamų sąlygų ir veikimo laiko. IL6 svarbus užtikrinant normalią nervinio audinio homeostazę, palaikant mikroglijos apsauginę funkciją, tačiau IL6 perteklius lemia lėtinį neurouždegimą ir degeneraciją [32]. IL6 taip pat siejamas su A kaupimusi ir tau baltymo fosforilinimu. Taip pat buvo nustatytos didesnės IL6 koncentracijos sergančiųjų AL smegenų skystyje ir kraujyje [2]. Daugėja įrodymų, kad uždegimo mediatorių genų polimorfizmas, raiška ir tarpusavio sąveika taip pat lemia citokinų funkcijas, yra susijusios su skirtinga rizika sirgti AL [12, 33, 34].

Ankstesniame tyrime buvome nustatę, kad interleukinų IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C genotipai buvo panašiai pasiskirstę tarp sergančiųjų AL ir kontrolinės grupės tiriamųjų [35]. Atlikto tyrimo duomenimis, tirtų rizikos alelių IL1A -889T ir IL6 -174C dažniai AL ir kontrolinėje grupėse reikšmingai nesiskyrė. Literatūroje nurodoma, kad IL1A -889 T alelio dažnis bendroje populiacijoje svyruoja

nuo 6 % (Rytų Azijoje) iki 40,4 % (tarp Amerikos juodaodžių), Europoje – apie 29 % [36]. Mūsų tirtoje imtyje IL1A -889 T alelio dažnis AL grupėje buvo panašus, kaip ir kitose Europos šalyse, tačiau reikšmingų sąsajų, analizuodami IL1A -889C>T, kaip nepriklausomą AL rizikos veiksnį, nenustatėme. 2016 m. atliktoje metaanalizėje [16] konstatuota, kad IL1A -889 dominantinis (C/T ir T/T, lyginant su C/C) ir recesyvinis (T/T, lyginant su C/T ir C/C) paveldėjimas yra susijęs su didesne rizika sirgti AL (europidų rasės asmenims). Grimaldi L. M. su kolegomis, ištyrę 318 sergančiųjų sporadine AL ir 335 kontrolinius asmenis (Šiaurės Italijos populiacija), nustatė, kad T/T genotipo paveldėjimas yra susijęs su didesne AL rizika, ypač ankstyvos pradžios AL, ir kad T/T homozigotams reikšmingai anksčiau (beveik dešimtmečiu) AL pasireiškia kliniškai [37]. Dar daugiau klausimų iškėlė Murphy G. M. su kolegomis tyrime, kuriame 114 sergančiųjų AL vidutiniškai stebėjo 3,8 metų ir nustatė, kad IL1A -889 C/C homozigotams pažinimo funkcijos blogėja sparčiau, nei bent vieno T alelio nešiotojams (C/T heterozigotams ir T/T homozigotams) [22]. Mūsų atliktame tyrime AL grupėse pagal pažinimo funkcijų sutrikimo progresavimo pobūdį (greitai ar lėtai progresuojanti AL) reikšmingų genotipų pasiskirstymo skirtumų ir sąsajų su skirtinga rizika sirgti AL nenustatyta. Nicoll J. tyrime, kur analizuoti 232 pacientai, kuriems patvirtinta AL diagnozė smegenų patologiniu tyrimu, ir 167 asmenys, iki mirties neturėję pažinimo funkcijų sutrikimo ir be AL būdingų pokyčių galvos smegenyse, DNR

(iš Didžiosios Britanijos ir JAV demencijos tyrimų centrų) [14], IL1A -889 alelių ir genotipų pasiskirstymo reikšmingų skirtumų ir poveikio AL rizikai nenustatyta. Panašių rezultatų, paneigiančių IL1A -889C>T polimorfizmo ir AL rizikos sąsajas, yra publikuota ir daugiau [17, 18, 38]. Tokią rezultatų priešpriešą galima paaiškinti atskirų populiacijų ir etninių grupių genetiniai savitumai.

Interleukino IL6 -174 nukleotido C alelio dažnis bendroje populiacijoje svyruoja nuo 0,1 % (Rytų Azijoje) iki 50,7 % (Estijoje), Europoje – 45,8 % [39]. Nustatėme, kad IL6 -174 C alelio dažnis AL grupėje buvo 55,1 %, o tarp kontrolinės grupės tiriamųjų – 56,9 %. Artimus mūsų rezultatams genotipų ir alelių dažnius nurodo Koivisto A. M. su kolegomis, Suomijoje tyrę 65 sergančiuosius vėlyvos pradžios AL ir 542 asmenis, kurių pažinimo funkcijos nesutrikusios [40]. Jų duomenimis, IL6 -174 C alelio dažnis AL grupėje buvo 48 %, kontrolinėje grupėje – 51 %. Peržvelgus publikacijas, susijusias su IL6 -174G>C, peršasi išvada, kad šis polimorfizmas itin skirtingai pasiskirstė atskiruose geografiniuose regionuose ir yra labiau būdingas Šiaurės Europos populiacijoms. Tendencija, kad geografiškai, nuo Šiaurės Europos Pietų Europos link, mažėja C alelio paplitimas, analizuota ir anksčiau [41]. Tuo būtų galima paaiškinti prieštarigus rezultatus. Licastro F. su kolegomis, atvirksčiai, IL6 -174 C/C genotipo nešiotojams nustatė padidėjusią IL6 koncentraciją ir didesnę riziką sirgti AL, ir aiškino tai daugialypiu šio uždegimo mediatoriaus veikimu [42]. Mūsų duomenimis, IL6 -174G>C polimorfizmas (dominantinis, overdominantinis ar recesyvinis paveldėjimo modelis) galimybių santykio sirgti AL reikšmingai nekeitė [35]. Šis rezultatas atitinka ir daugelio kitų Europoje atliktų tyrimų bei metaanalizių išvadas, kad nepakanka duomenų, jog IL6 -174G>C būtų susijęs su AL rizika kaip nepriklausomas rizikos veiksnys [26, 43, 44]. Kita vertus, kai kurie autoriai nurodo, kad IL6 -174G>C polimorfizmas lemia mažesnę AL riziką [12, 45]. Be to, Papassotiropoulos A. su kolegomis Vokietijoje atliktame tyrime, kuriame dalyvavo 102 AL grupės ir 191 kontrolinės grupės tiriamųjų, nustatė, kad IL6 -174 C alelis yra susijęs su vėlesne AL pradžia ir mažesne AL rizika. Autoriai daro prielaidą, kad IL6 polimorfizmas labiau lemia ligos progresavimo pobūdį, o ne ligos pradžią, ir tai galimai turi įtakos rezultatams, kai vertinamos IL6 -174G>C ir AL rizikos sąsajos, lyginant su sutapatintais pagal amžių asmenimis [45]. Analizuodami IL6 -174G>C genotipų ir alelių pasiskirstymą sergančiųjų AL grupėse, atsižvelgiant į ligos progresavimo pobūdį (lėtai progresuojančią lyginant su greitai progresuojančia), reikšmingų dažnių skirtumų taip pat nenustatėme, o galimybių santykiai, priklausomai nuo šio požymio, taip pat reikšmingai nekito.

Nors moteriška lytis laikoma sporadinės AL rizikos veiksniu, tirtų interleukinų polimorfizmų genotipai ir aleliai moterims ir vyrams buvo pasiskirstę panašiai, reikšmingų skirtumų nenustatyta. Greičiausiai lyties įtaka AL rizikai yra labiau susijusi su APOE polimorfizmu, lipidų apykaita ir lytinių hormonų poveikiu [46], o ne su uždegiminiais procesais centrinėje nervų sistemoje. APOE genotipas, savo ruožtu, siejamas su neurouždegimo patoge-

neziniais mechanizmais. Amiloidas beta suaktyvina apolioproteino E gamybą, o padidėjęs APOE kiekis, veikdamas grįžtamojo ryšio principu, apriboja ir stabdo A palai komą uždegiminį procesą. Glijos aktyvaciją ir to sąlygotą APOE suaktyvėjimą iš dalies reguliuoja NF κ B, kuris aktyvuoja ir uždegimo mediatorių (TNF α , IL1, IL6, IL8, IL12) genų transkripciją [6]. Siekdami patikrinti hipotezę, kad IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C ir APOE ϵ 4 alelio paveldėjimas yra susiję ir labiau būdingi sergantiesiems AL, palyginome šių uždegimo mediatorių nukleotidų genotipus grupėse pagal APOE (bent vieno ϵ 4 nešiojimą). Tačiau reikšmingų genotipų skirtumų, lyginant APOE ϵ 4 nešiotojus su neturinčiais rizikos alelio, nenustatėme. Be to, sergančiųjų AL APOE ϵ 4 nešiotojų ir kontrolinės grupės APOE ϵ 4 nešiotojų IL1A -889 ir IL6 -174 nukleotidų genotipų pasiskirstymas taip pat reikšmingai nesiskyrė. Binominės logistinės regresijos analizės modeliuose analizuodami įvairius atskirus polimorfizmų paveldėjimo modelius (dominantinis, overdominantinis, recesyvinis), reikšmingų sąsajų su AL rizika nenustatėme. Di Bona D. ir kt. nurodo APOE ir TNF α -850 nukleotido polimorfizmų tarpusavio sąsajas, lemiant AL galimybę. Šiaurės Europos ir Australijos baltaodžių populiacijose APOE ϵ 4 nešiotojams AL rizika yra apie 2 kartus didesnė turintiems bent vieną TNF α -850 T alelį (T/T homozigotams ir C/T heterozigotams), lyginant su TNF α -850 C/C homozigotais [47]. Tačiau, remiantis Pietų Europos šalyse atliktų tyrimų rezultatais, TNF α -850 polimorfizmai reikšmingai AL rizikos nelėmė nei APOE ϵ 4 nešiotojams, nei APOE neigiamiems asmenims [47]. Dar mažiau analizuotos interleukinų ir APOE genetinio polimorfizmo sąsajos, o gauti rezultatai – prieštaringi. Nicoll J. nurodo, kad kontroliuojant pagal APOE ϵ 4 alelio buvimą, IL1A -889 T/T genotipo nešiotojams galimybių santykis sirgti AL yra 3 kartus didesnis ($p = 0,011$) [14]. Kitų autorių duomenimis, IL1A -889 polimorfizmo įtaka AL rizikai reikšmingai nekinta, atsižvelgiant į APOE genotipą tiek Europos, tiek Azijos populiacijose [17, 18, 48]. Kita vertus, mokslininkų grupė iš Didžiosios Britanijos, ištyrusi 68 patologiškai patvirtintos AL sergančiųjų kaktinių skilčių smegenų žievės mėginius, įrodė, kad, lyginant su IL1A -889 C/C genotipo nešiotojais, bent vieną T alelį turintiems tiriamiesiems buvo 31 %, T/T genotipo – 62 %, o APOE ϵ 4 nešiotojams, turintiems IL1A -889 T/T genotipą, – 108 % didesnė mikroglijos ląstelių infiltracija smegenų žievėje [21]. Įdomu tai, kad IL1A -889 nukleotido alelių ir genotipų dažnių reikšmingų skirtumų grupėse pagal APOE ϵ 4 buvimą tiems tiriamiesiems negauta, galimai dėl nedidelės tyrimo imties. Skirtingas mikroglijos aktyvumas grupėse pagal APOE ir IL1A -889 polimorfizmą patvirtina hipotezę, kad APOE ir uždegimo mediatorių genetinis polimorfizmas yra svarbus neurouždegiminiams procesams, o skirtingi genotipų deriniai pasižymi nevienodu poveikiu.

Mūsų duomenys taip pat papildė kitų autorių rezultatus, kad IL6 -174 nukleotido alelių ir genotipų dažniai tiriamųjų grupėse, atsižvelgiant į APOE rizikos alelio buvimą, reikšmingai nesiskiria ir, kaip nepriklausomas rizikos veiksnys, skirtingai AL rizikos nelemia [26, 43, 44, 49].

Tačiau, atsižvelgiant į tai, kad IL6 -174 G>C polimorfizmas yra labai įvairiai pasiskirstęs pagal geografinę padėtį ir etniškumą, vienareikšmių išvadų daryti negalima, nes, pavyzdžiui, suomių kilmės sergantiesiems AL buvo nustatytos reikšmingos sąsajos tarp APOE ir IL6 -174 polimorfizmų [40].

Esminis šio mokslinio tyrimo trūkumas – sąlyginai nedidelė tyrimo imtis. Dėl mažo tyrimo imties tūrio negalime atmesti klaidingai neigiamų rezultatų galimybes, todėl reiktų didesnės apimties tyrimo gautoms išvadoms patvirtinti arba paneigti. Svarbu ir tai, kad mūsų tyrime IL6 -174 genotipų pasiskirstymas neatitiko Hardy-Weinberg pusiausvyros dėsnio (HWE $p < 0,05$) galimai dėl kilmės ir genofondo prasme itin homogeniškos tiriamųjų grupės, todėl rezultatus derėtų vertinti atsargiai. Papildomos naudingos informacijos suteiktų ir pačių uždegimo mediatorių (IL1, IL1, IL6, TNF ir kt.) koncentracijos sergančiųjų kraujyje bei smegenų skystyje tyrimas. Tai galėtų būti tolesnių mokslinių tyrimų, nagrinėjančių Alzheimerio ligos ir neuroūždegimo sąsajas, objektu.

IŠVADOS

Interleukinų IL1A -889 (rs1800587) ir IL6 -174 (rs1800795) nukleotidų genotipų pasiskirstymas, priklausomai nuo APOE 4 alelio buvimo, sergantiesiems AL ir sveikiems kontroliniams tiriamiesiems tirtoje populiacijoje reikšmingai nesiskyrė. IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C genotipų dažnių skirtumų lėtai ir greitai progresuojančios AL grupėse nenustatyta. Reikšmingų IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmų, sąsąjū su AL rizika, atsižvelgiant į APOE genotipą, nenustatyta. Remiantis mūsų tyrimo duomenimis, IL1A -889C>T ir IL6 -174G>C polimorfizmai nėra susiję su spartesniu Alzheimerio ligos progresavimu.

Literatūra

- Alzheimer's Association. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 2016; 12(4): 459–509. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.03.001>
- Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2018; 4: 575–90. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2018.06.014>
- Gomez-Nicola D, Boche D. Post-mortem analysis of neuroinflammatory changes in human Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2015; 7(1): 42. <https://doi.org/10.1186/s13195-015-0126-1>
- Lue LF, Rydel R, Brigham EF, et al. Inflammatory repertoire of Alzheimer's disease and nondemented elderly microglia in vitro. *Glia* 2001; 35: 72–9. <https://doi.org/10.1002/glia.1072>
- Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2015; 14(4): 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
- Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther* 2017; 2: 17023. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Winter CD, Iannotti F, Pringle AK, Trikkas C, Clough GF, Church MK. A microdialysis method for the recovery of IL-1, IL-6 and nerve growth factor from human brain in vivo. *J Neuroscience Methods* 2002; 119(1): 45–50. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(02\)00153-X](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(02)00153-X)
- Woodroffe MN, Sarna GS, Wadhwa M, et al. Detection of interleukin-1 and interleukin-6 in adult rat brain, following mechanical injury, by in vivo microdialysis: evidence of a role for microglia in cytokine production. *J Neuroimmunology* 1991; 33(3): 227–36. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(91\)90110-S](https://doi.org/10.1016/0165-5728(91)90110-S)
- Tarkowski E, Liljeroth AM, Minthon L, Tarkowski A, Wallin A, Blennow K. Cerebral pattern of pro- and anti-inflammatory cytokines in dementias. *Brain Res Bull* 2003; 61(3): 255–60. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(03\)00088-1](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(03)00088-1)
- Rubio-Perez JM, Morillas-Ruiz JM. A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines. *Scientific World Journal* 2012; 2012: 756357. <https://doi.org/10.1100/2012/756357>
- Mrak RE, Griffin WS. Interleukin-1, neuroinflammation, and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001; 22(6): 903–8. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(01\)00287-1](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(01)00287-1)
- Su F, Bai F, Zhang Z. Inflammatory cytokines and Alzheimer's disease: a review from the perspective of genetic polymorphisms. *Neurosci Bull* 2016; 32(5): 469–80. <https://doi.org/10.1007/s12264-016-0055-4>
- Galimberti D, Fenoglio C, Scarpini E. Inflammation in neurodegenerative disorders: friend or foe? *Curr Aging Sci* 2008; 1(1): 30–41. <https://doi.org/10.2174/1874609810801010030>
- Nicoll JA, Mrak RE, Graham DI, Stewart J, Wilcock G, MacGowan S, et al. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2000; 47(3): 365–8. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(200003\)47:3<365::AID-ANA13>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1531-8249(200003)47:3<365::AID-ANA13>3.0.CO;2-G)
- Combarros O, Sánchez-Guerra M, Infante J, Llorca J, Berciano J. Gene dose-dependent association of interleukin-1A [-889] allele 2 polymorphism with Alzheimer's disease. *J Neurol* 2002; 249(9): 1242–5. <https://doi.org/10.1007/s00415-002-0819-9>
- Mun MJ, Kim JH, Choi JY, Jang WC. Genetic polymorphisms of interleukin genes and the risk of Alzheimer's disease: an update meta-analysis. *Meta Gene* 2016; 8: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2016.01.001>
- Yildiz SH, Erdogan MO, Artan S, Solak M, Yaman M, Ozbabalik BD, et al. Association of Alzheimer's disease with APOE and IL-1 gene polymorphisms. *Am J Alzheimers Dis Other Dement* 2015; 30(8): 756–61. <https://doi.org/10.1177/1533317512461557>
- Serretti A, Olgiati P, Politis A, Malitas P, Albani D, Dusi S, et al. Lack of association between interleukin-1 alpha rs1800587 polymorphism and Alzheimer's disease in two independent European samples. *J Alzheimers Dis* 2009; 16(1): 181–7. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-0946>
- Qin X, Peng Q, Zeng Z, Chen Z, Lin L, Deng Y, et al. Interleukin-1A -889C/T polymorphism and risk of Alzheimer's disease: a meta-analysis based on 32 case-control studies. *J Neurol* 2012; 259: 1519–29. <https://doi.org/10.1007/s00415-011-6381-6>

20. Hua Y, Zhao H, Kong Y, Lu X. Meta-analysis of the association between the interleukin-1A -889C/T polymorphism and Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 2012; 90: 1681-92. <https://doi.org/10.1002/jnr.23062>
21. Hayes A, Green EK, Pritchard A, Harris JM, Zhang Y, Lambert JC, et al. A polymorphic variation in the interleukin 1A gene increases brain microglial cell activity in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 1475-7. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.030866>
22. Murphy GM Jr, Claassen JD, DeVoss JJ, Pascoe N, Taylor J, Tinklenberg JR, et al. Rate of cognitive decline in AD is accelerated by the interleukin-1 alpha -889 *1 allele. *Neurology* 2001; 56(11): 1595-7. <https://doi.org/10.1212/WNL.56.11.1595>
23. Castell JV, Andus T, Kunz D, Heinrich PC. Interleukin-6. The major regulator of acute-phase protein synthesis in man and rat. *Ann NY Acad Sci* 1989; 557: 87-99. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1989.tb24001.x>
24. Satoh T, Nakamura S, Taga T, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T, et al. Induction of neuronal differentiation in PC12 cells by B-cell stimulatory factor 2/interleukin 6. *Mol Cell Biol* 1988; 8(8): 3546-9. <https://doi.org/10.1128/MCB.8.8.3546>
25. Quintanilla RA, Orellana DI, González-Billault C, Maccioni RB. Interleukin-6 induces Alzheimer-type phosphorylation of tau protein by deregulating the cdk5/p35 pathway. *Exp Cell Res* 2004; 295(1): 245-57. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2004.01.002>
26. Han XM, Wang CH, Sima X, Liu SY. Interleukin-6-174G/C polymorphism and the risk of Alzheimer's disease in Caucasians: a meta-analysis. *Neurosci Lett* 2011; 504(1): 4-8. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.06.055>
27. Flex A, Giovannini S, Biscetti F, Liperoti R, Spalletta G, Straface G, et al. Effect of proinflammatory gene polymorphisms on the risk of Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis* 2014; 13(4): 230-6. <https://doi.org/10.1159/000353395>
28. Capurso C, Solfrizzi V, Colacicco AM, D'Introno A, Frisardi V, Imbimbo BP, et al. Interleukin 6-174 G/C promoter and variable number of tandem repeats (VNTR) gene polymorphisms in sporadic Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010; 34: 177-82. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.10.022>
29. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34: 939-44. <https://doi.org/10.1212/WNL.34.7.939>
30. Demencijų diagnostiniai kriterijai ir vertinimo skalės. *Neurologijos seminarai* 2000; 2(10): 10-38.
31. Farrar WL, Kilian PL, Ruff MR, Hill JM, Pert CB. Visualization and characterization of interleukin 1 receptors in brain. *J Immunol* 1987; 139: 459-63.
32. Rothaug M, Becker-Pauly C, Rose-John S. The role of interleukin-6 signaling in nervous tissue. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1863: 1218-27. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.03.018>
33. Pimenova AA, Raj T, Goate AM. Untangling genetic risk for Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2018; 83(4): 300-10. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.05.014>
34. Newcombe EA, Camats-Perna J, Silva ML, Valmas N, Huat TJ, Medeiros R. Inflammation: the link between comorbidities, genetics, and Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2018; 15: 276. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1313-3>
35. Pšemeneckienė G, Petrikonis K, Rastenytė D. Polymorphisms of proinflammatory cytokines in relation to APOE epsilon 4 and risk of Alzheimer's disease in the Lithuanian population. *Medicina* 2019; 55(10): 689. <https://doi.org/10.3390/medicina55100689>
36. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1800587/2019-07-09>.
37. Grimaldi LM, Casadei VM, Ferri C, Veglia F, Licastro F, Annoni G, et al. Association of early-onset Alzheimer's disease with an interleukin-1alpha gene polymorphism. *Ann Neurol* 2000; 47(3): 361-5. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(200003\)47:3<361::AID-ANA12>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/1531-8249(200003)47:3<361::AID-ANA12>3.0.CO;2-N)
38. Prince JA, Feuk L, Sawyer SL, Gottfries J, Ricksten A, Nägga K, et al. Lack of replication of association findings in complex disease: an analysis of 15 polymorphisms in prior candidate genes for sporadic Alzheimer's disease. *Eur J Hum Genet* 2001; 9(6): 437-44. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200651>
39. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1800795/2019-07-09>.
40. Koivisto AM, Helisalmi S, Pihlajamäki J, Moilanen L, Kuusisto J, Laakso M, et al. Interleukin-6 promoter polymorphism and late-onset Alzheimer's disease in the Finnish population. *J Neurogenet* 2005; 19(3-4): 155-61. <https://doi.org/10.1080/01677060600569721>
41. Capurso C, Solfrizzi V, D'Introno A, Colacicco AM, Capurso SA, Capurso A, et al. Interleukin 6-174 G/C promoter gene polymorphism and sporadic Alzheimer's disease: geographic allele and genotype variations in Europe. *Exp Gerontol* 2004; 39(10): 1567-73. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2004.07.006>
42. Licastro F, Grimaldi LM, Bonafe M, Martina C, Olivieri F, Cavallone L, et al. Interleukin-6 gene alleles affect the risk of Alzheimer's disease and levels of the cytokine in blood and brain. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 921-6. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(03\)00013-7](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(03)00013-7)
43. Klimkowicz-Mrowiec A, Wolkow P, Spisak K, Maruszak A, Styczynska M, Barcikowska M, et al. Interleukin-6 gene (-174 C/G) and apolipoprotein E gene polymorphisms and the risk of Alzheimer disease in a Polish population. *Neurol Neurochir Pol* 2010; 44: 537-41. [https://doi.org/10.1016/S0028-3843\(14\)60149-3](https://doi.org/10.1016/S0028-3843(14)60149-3)
44. Depboylu C, Lohmuller F, Gocke P, Du Y, Zimmer R, Gasser T, et al. An interleukin-6 promoter variant is not associated with an increased risk for Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2004; 17: 170-3. <https://doi.org/10.1159/000076352>
45. Papassotiropoulos A, Bagli M, Jessen F, Bayer TA, Maier W, Rao ML, et al. A genetic variation of the inflammatory cytokine interleukin-6 delays the initial onset and reduces the risk for sporadic Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999; 45(5): 666-8. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(199905\)45:5<666::AID-ANA18>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1531-8249(199905)45:5<666::AID-ANA18>3.0.CO;2-3)
46. Pike CJ. Sex and the development of Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 2017; 95(1-2): 671-80. <https://doi.org/10.1002/jnr.23827>
47. Di Bona D, Candore G, Franceschi C, Licastro F, Colonna-Romano G, Camma C, et al. Systematic review by meta-analyses on the possible role of TNF-alpha polymorphisms in association with Alzheimer's disease. *Brain*

Res Rev 2009; 61(2): 60–8. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.05.001>

48. Hu JL, Li G, Zhou DX, Zou YX, Zhu ZS, Xu RX, et al. Genetic analysis of interleukin-1A C (-889)T polymorphism with Alzheimer disease. *Cell Mol Neurobiol* 2009; 29(1): 81–5. <https://doi.org/10.1007/s10571-008-9299-5>
49. Shawkatova I, Javor J, Parnicka Z, Vrazda L, Novak M, Buc M. No association between cytokine gene polymorphism and risk of Alzheimer's disease in Slovaks. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2010; 70(3): 303–7.

G. Pšemeneckienė, K. Petrikonis, D. Rastenytė

**INTERLEUKIN IL1A AND IL6 GENE
POLYMORPHISM: SEARCH FOR ASSOCIATION
WITH APOE GENOTYPE AND CLINICAL COURSE
OF SPORADIC ALZHEIMER'S DISEASE**

Summary

Background. There is evidence that genetic polymorphisms of important proinflammatory cytokines IL1 and IL6 are associated with the risk of Alzheimer's disease (AD). In this study, we aimed to evaluate the association of IL1A -889C>T and IL6 -174G>C polymorphisms with the risk of sporadic AD in APOE 4 carriers and in persons without APOE risk allele. We also investigated the association of IL1A -889C>T and IL6 -174G>C polymorphisms with the rate of AD progression.

Materials and methods. The study included 110 patients with sporadic AD and 115 age-and-gender-matched healthy controls (HC) without cognitive decline (Lithuanian population). Genotyping of IL1A -889C>T (rs1800587) and IL6 -174G>C

(rs1800795, Intron type) was performed using real-time PCR (RT-PCR).

Results. The distribution of IL1A -889C>T genotypes did not differ between APOE 4 carriers (APOE4+: C/C – 52.9%, C/T – 41.2%, T/T – 5.9%) and APOE negative AD patients (APOE4-: C/C – 55.6%, C/T – 37.0%, T/T – 7.4%; $p=0.887$). IL6 -174G>C genotype frequencies in APOE4+ (G/G – 11.8%, G/C – 62.7%, C/C – 25.5%) and APOE4- (G/G – 14.8%, G/C – 61.1%, C/C – 24.1%) were also similar ($p=0.898$) in AD group. No significant differences of genotype frequencies in rapidly progressing AD compared to slowly progressing AD were revealed (p (IL1A -889C>T)=0.638; p (IL6 -174G>C)=0.118). Controlling by APOE4 status, the inheritance of IL1A -889C>T or IL6 -174G>C polymorphisms (dominant, overdominant, and recessive models) did not significantly alter the odds ratio for sporadic AD ($p<0.05$). In slowly and rapidly progressing AD groups, the inheritance of IL1A -889C>T and IL6 -174G>C polymorphisms had no significant impact on AD risk ($p<0.05$).

Conclusions. No significant differences of IL1A -889C>T and IL6 -174G>C genotype frequencies were found either between groups according to the APOE 4 allele possession or in patients with rapidly progressing AD compared to slowly progressing AD patients. No significant associations of IL1A -889C>T and IL6 -174G>C polymorphisms and AD risk were revealed in either APOE4 positive or APOE4 negative persons. According to our data, inheritance of IL1A -889C>T and IL6 -174G>C polymorphisms is not associated with faster progression of AD.

Keywords: Alzheimer's disease, IL1A, IL6, polymorphism, APOE.

Gauta:
2019 09 23

Priimta spaudai:
2019 10 30