

© Коллектив авторов, 2022

УДК 616.36-002.2-022-002:612.6.05:577.21

Булатова И.А.¹, Шевлюкова Т.П.², Щёктова А.П.¹, Кривцов А.В.³

Генетический профиль больных хроническим гепатитом С

¹ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России», 614990, Пермь, Россия, ул. Петропавловская, д. 26;

²ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, 625023, Тюмень, Россия, ул. Одесская, д. 54;

³ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, Пермь, Россия, ул. Монастырская, д. 82

Введение. Хронический гепатит С (ХГС) является мультифакториальным заболеванием, в формировании которого имеют значение генетические факторы возбудителя (вирус), хозяина и условия внешней среды. В настоящее время приоритетной областью здравоохранения является оценка роли генетических маркеров при многофакторных заболеваниях. **Цель** – оценка роли генетических маркеров при хроническом гепатите С.

Методика. Обследовано 95 больных ХГС и 50 здоровых доноров. Оценивали концентрацию васкулоэндотелиального фактора роста (vascular endothelial growth factor – VEGF), фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor alpha – TNF-α), активность ферментов каталазы (catalase – CAT), глутатионпероксидазы (glutathione peroxidase – GPX) в сыворотке крови. Также изучали полиморфизм генов *VEGFA* в регионе -634G/C, *TNF-α* в регионе -308G/A, *CAT* в регионе -262G/A, *GPX4* в регионе -718C/T и *IL28B* в регионе C/T и оценивали генетический профиль в баллах от 0 до 10 путем суммации аллелей риска.

Результаты. Развитие ХГС сопровождается активацией процессов воспаления и неоангиогенеза с повышением концентрации и TNF-α ($p < 0,001$), и VEGF ($p < 0,001$) при истощении ферментов антиоксидантной защиты со снижением активности CAT ($p < 0,001$) и GPX ($p < 0,001$). Носительство аллели С гена *VEGFA* в регионе -634G/C в виде генотипа CC может являться фактором риска развития ХГС ($\chi^2 = 7,52$; $p = 0,01$). Выявлена ассоциация полиморфизма гена *CAT* (G262A) и *GPX4* (C718T) со снижением активности антиоксидантных ферментов. При оценке генетического профиля в группе здоровых 86% имели низкий риск развития ХГС (0-3 балла по шкале), а среди пациентов с ХГС – 68%. При этом 32% лиц с ХГС имели умеренный риск (4-7 баллов), а у доноров эта цифра была ниже и составила 14%. Оценка генетического профиля здоровых доноров и пациентов с ХГС, показала, что среди больных ХГС чаще встречались лица, имеющие одновременно большее количество аллелей риска.

Заключение. Определение генетического профиля с использованием, *TNF-α* в регионе -308G/A, *CAT* в регионе -262G/A, *GPX4* в регионе -718C/T, *VEGFA* в регионе -634G/C и *IL28B* в регионе C/T позволяет оценить риск развития и прогрессирования ХГС.

Ключевые слова: хронический гепатит С; цитокины; антиоксидантные ферменты; дисфункция эндотелия; полиморфизм генов

Для цитирования: Булатова И.А., Шевлюкова Т.П., Щёктова А.П., Кривцов А.В. Генетический профиль больных хроническим гепатитом С. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(1): 35–43.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.01.35-43

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Булатова И.А., Щёктова А.П., Шевлюкова Т.П.; сбор и обработка материала – Булатова И.А., Кривцов А.В.; выполнение лабораторных тестов – Кривцов А.В., Булатова И.А.; статистическая обработка материала и подготовка иллюстративного материала – Шевлюкова Т.П.; написание текста – Булатова И.А., Щёктова А.П.; редактирование – Шевлюкова Т.П., Булатова И.А.

Для корреспонденции: Булатова Ирина Анатольевна, e-mail: bula.1977@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 01.11.2021

Принята к печати 20.01.2022

Опубликована 15.03.2022

Bulatova I.A.¹, Shevlyukova T.P.², F.P., Shchekotova A.P.¹, Krivtsov A.V.³**Genetic profile of patients with chronic hepatitis C**

¹Academician E.A. Wagner Perm State Medical University,
Petropavlovskaya St. 26, Perm 614990, Russian Federation;

²Tyumen State Medical University,
Odesskaya St. 54, Tyumen 625023, Russian Federation;

³Federal Research Center for Medical and Preventive Technologies of Public Health Risk Management,
Monastyrskaya St. 82, Perm 614045, Russian Federation

Introduction. Chronic hepatitis C (CHC) is a multifactorial disease. In its formation, the genetic factors of the pathogen (virus) and of the host, as well as the environmental conditions are important. Currently, a public health priority is the assessment of the role of genetic markers in multifactorial diseases. **Aim** – assessment of the role of genetic markers in chronic hepatitis C.

Methods. We examined 95 patients with CHC and 50 healthy subjects. The concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) were measured in blood serum. The enzymatic activities of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), and vascular endothelial growth factor (VEGF) were also evaluated. We also studied polymorphism of the *VEGFA* genes in the -634G/C region, *TNF- α* in the -308G/A region, *CAT* in the -262G/A region, *GPX4* in the -718C/T region and *IL28B* in the C/T region, and we assessed the genetic profile in points from 0 to 10 by summing risk alleles.

Results. The development of CHC was accompanied by activation of inflammation and neoangiogenesis with an increase in the concentration of both TNF- α ($p < 0.001$) and VEGF ($p < 0.001$) along with depletion of antioxidant defense enzymes, and with a decrease in the activity of CAT ($p < 0.001$) and GPX ($p < 0.001$). Carriage of the C allele of the *VEGFA* gene in the -634G/C region in the form of the CC genotype may be a risk factor for the development of CHC ($\chi^2 = 7.52$; $p = 0.01$). An association of *CAT* (G262A) and *GPX4* (C718T) gene polymorphism with a decrease in the activity of antioxidant enzymes was found. According to their genetic profile, 86% of the healthy subjects had a low risk of developing CHC (0-3 points on the scale), whereas 68% patients with CHC had a low risk. Furthermore, 32% of patients with CHC had a moderate risk (4-7 points), whereas in healthy subjects, this percentage was almost 50% less (14%). Evaluation of the genetic profiles of healthy subjects and of patients with CHC showed that patients with CHC were more likely to have a greater number of risk alleles.

Conclusion. Evaluation of the genetic profile using *TNF- α* in the -308G/A region, *CAT* in the -262G/A region, *GPX4* in the -718C/T region, *VEGFA* in the -634G/C region and *IL28B* in the C/T region allows assessment of the risk of the development and the progression of CHC.

Keywords: chronic hepatitis C; cytokines; antioxidant enzymes; endothelial dysfunction; gene polymorphism

For citation: Bulatova I.A., Shevlyukova T.P., Shchekotova A.P., Krivtsov A.V. Genetic profile of patients with chronic hepatitis C. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological physiology and experimental therapy. Russian Journal)*. 2022; 66(1): 35-43. (in Russian).
DOI: 10.25557/0031-2991.2022.01.35-43

Autor's contribution: research concept and design – Bulatova I.A., Shchekotova A.P., Shevlyukova T.P.; collection and processing of material – Bulatova I.A., Krivtsov A.V.; performing laboratory tests – Krivtsov A.V., Bulatova I.A.; stistical processing of material and preparation of illustrative material – Shevlyukova T.P.; writing text – Bulatova I.A., Shchekotova A.P.; editing – Shevlyukova T.P., Bulatova I.A.

For correspondence: *Irina A. Bulatova*, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Normal Physiology, Professor of the Department of Faculty Therapy No. 2, Occupational Pathology and Clinical Laboratory Diagnostics, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner of the Ministry of Health of Russia»; 26 Petropavlovsk str., Perm 614990, Russian Federation, e-mail: bula.1977@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study had no sponsorship.

Information about the authors:

Bulatova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-7802-4796>

Shevlyukova T.P., <https://orcid.org/0000-0002-7019-6630>

Shchekotova A.P., <https://orcid.org/0000-0003-0298-2928>

Krivtsov A.V., <https://orcid.org/0000-0001-7986-0326>

Received 01.11.2021

Accepted 20.01.2022

Publised 15.03.2022

Введение

Хронический гепатит С (ХГС) остается глобальной медико-социальной проблемой в связи с высокой заболеваемостью, поражением наиболее трудоспособной

части населения, часто латентным течением острых форм, что приводит к высокому проценту хронизации, прогрессирующему течению и формированию небла-

гоприятных исходов. По данным ВОЗ заболеваемость ХГС в мире составляет более 70 млн человек [1]. Распространенность ХГС в РФ достигает 4,9 млн с наиболее высокими показателями заболеваемости в возрастных группах 30–39 и 40–49 лет [2, 3]. В этиологической структуре цирроза печени на долю гепатита С приходится 58,2% [4]. Вирус гепатита С признан международным агентством ВОЗ по изучению рака канцерогенным для человека [5].

Проведенные за последние 10 лет исследования показали, что развитие и прогрессирование ХГС, индуцирование фиброза и формирование цирроза печени обусловлены универсальными патогенетическими механизмами: хроническим воспалением, цитокиновым каскадом, окислительным стрессом, дисфункцией эндотелия и активацией механизмов неоангиогенеза [6–14].

ХГС является мультифакториальным заболеванием, в формировании которого имеют значение генетические факторы возбудителя (вирус), хозяина и условия внешней среды. В настоящее время перспективной областью здравоохранения является оценка роли генетических факторов при мультифакториальных заболеваниях. Одним из подходов для идентификации генов предрасположенности к таким заболеваниям является метод геномного сканирования (полногеномного скрининга аллельных ассоциаций), при котором производится анализ полиморфизмов из разных участков генома. Примером такого анализа является исследование, проведенное в США, результатом которого было определение 7 полиморфизмов кандидатных генов — предикторов риска развития цирроза печени на фоне хронического гепатита [6].

Другим подходом можно считать поиск однонуклеотидных полиморфизмов, которые могут кодировать значимые молекулы, реализующие основные звенья патогенеза данного заболевания. К таким патогенетически значимым молекулам относятся: фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor alpha - TNF- α), макроирующий активность воспаления, ферменты антиоксидантной защиты — каталаза (catalase - CAT) и глутатионпероксидаза (glutathione peroxidase — GPX), васкулоэндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor — VEGF), реализующий неоангиогенез и активацию фиброза [7–15]. С этой точки зрения интерес представляет комплексное изучение полиморфизмов генов патогенетически значимых молекул, а также интерлейкина 28В (IL28) как фактора прогноза плохого ответа на противовирусную терапию [16]. Известно также влияние аллельных вариантов генов интерлейкина-1 β и TNF- α на эффектив-

ность терапии и скорость развития фиброза печени при хроническом гепатите [14, 17]. Есть данные, что полиморфизм генов дисфункции эндотелия определяет характер течения ХГС [12, 18]. Было доказано влияние генов, кодирующих продукцию активных форм кислорода, на прогрессирование процесса воспаления и развитие фиброза [10].

Между тем, результаты исследований, касающихся анализа ассоциации ХГС с полиморфными маркерами достаточно противоречивы, что может быть обусловлено изучением изолированного влияния полиморфизмов на фоне популяционных, расовых и региональных особенностей распределения генотипов, а также разным методическим подходом [14, 17, 18]. Поэтому на сегодняшний день актуальным остается поиск диагностических генетических маркеров, обладающих прогностической ценностью в отношении развития и прогрессирования ХГС.

Цель исследования — поиск диагностических генетических маркеров, обладающих прогностической ценностью в отношении развития и прогрессирования ХГС.

Методика

В исследовании приняли участие 95 пациентов с ХГС (43 мужчины и 52 женщины, средний возраст $39,9 \pm 10,1$ лет) и длительностью заболевания $5,8 \pm 3,55$ лет, не получающие на момент исследования и за год до него противовирусную терапию. Контрольная группа состояла из 50 здоровых доноров без патологии печени. Группы были сопоставимы по полу и возрасту. Учитывая количество пациентов с ХГС и в контрольной группе, дизайн исследования был разработан по типу «случай — контроль».

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменного добровольного информированного согласия всех пациентов. Работа одобрена этическим комитетом Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения.

Для уточнения диагноза ХГС и исключения цирроза печени в качестве референсного метода оценки выраженности фиброза была использована ультразвуковая эластография печени с оценкой плотности печени по шкале «METAVIR». Данное исследование проводилось в Пермской краевой клинической инфекционной больнице. Диагностику проводили с помощью аппарата Fibroscan 502 (Echosens, Франция). Оцениваемый объем печени при использовании этого метода в 200–300 раз больше, чем объем образца биоптата.

Пациентам проводилось лабораторное обследование, включавшее стандартные общеклинические тесты, определение биохимических показателей функционального состояния печени и маркеров вирусных гепатитов методом иммуноферментного анализа (ИФА). Кровь для исследования брали из периферической вены утром натощак в период с 8.00 до 10.00 ч. При взятии венозной крови учитывался ряд факторов, способных оказывать влияние на результаты исследования: взятие венозной крови осуществлялось после отдыха обследуемого (15 мин; пациент во время забора крови находился в положении сидя; прием алкоголя (за 2 сут), пищи (за 12 ч) и курение (за 2 ч) до исследования исключались. Забор венозной крови производился из локтевой вены при помощи одноразовых шприцев в вакуумные системы. Образцы крови доставлялись в лабораторию в течение не более 60 мин. Венозная кровь отстаивалась при комнатной температуре (+15 °С...+20 °С) до образования сгустка 30 мин, после чего образцы крови центрифугировались.

Концентрацию TNF- α и VEGF в сыворотке крови здоровых доноров и лиц с ХГС оценивали методом иммуноферментного анализа на фотометре «Stat-Fax 2100» (США) с применением наборов фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Проводили построение калибровочной кривой по стандартам концентрации определяемых цитокинов от точки к точке в автоматическом режиме; по сравнению оптических плотностей рассчитывали их концентрацию в пробах. Параллельно определяли содержание изучаемых факторов в контрольных образцах, которые прилагались к набору и при определении концентрации её значение укладывалось в требуемый по паспорту диапазон. Диапазон измеряемых концентраций TNF- α составлял 0 – 250 пг/мл, диапазон референсных значений ФНО- α , указанных производителем реагента равнялся 0 – 6 пг/мл (средняя концентрация – 0,5 пг/мл). Диапазон измеряемых концентраций VEGF составлял 0–2000 пг/мл, диапазон референсных значений ВЭФР, указанных производителем реагента равнялся 10 – 46 пг/мл (средняя концентрация – 127 пг/мл).

Определение сывороточной активности антиоксидантных ферментов проводилось фотометрическим методом: САТ по методике М.А. Королюк (1988), GPX с применением методики J.R. Prohaska (1986). Определение проводилось ручным методом с регистрацией оптических плотностей и расчетом активности на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Clima MC-15».

Однонуклеотидные полиморфные варианты генов изучали с использованием аллель-специфической полимеразной цепной реакции в режиме реального време-

ни на детектирующем амплификаторе «CFX-96» («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) с применением праймеров «SNP-Скрин» (ЗАО «Синтол», г. Москва). Для выявления генотипов определенного гена у всех пациентов с ХГС проводилось выделение ДНК из цельной венозной крови, предварительно стабилизированной динатриевой-3–солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА).

Геномную ДНК выделяли из периферической крови методом высаливания по стандартной процедуре. Полученные образцы ДНК сразу использовали для генотипирования, либо сохраняли при –70 °С. Концентрация ДНК, определенная на спектрофотометре (BioRad, США) составляла от 50 до 100 мкг/мл. Общее время процедуры выделения ДНК 30–40 мин. Праймеры были подобраны к регуляторным некодирующим областям изучаемых генов. Методика тестирования генетического полиморфизма методом ПЦР включала 2 этапа, которые позволяют оценить мутации в режиме реального времени. Этапы: 1 – отбор и подготовка проб (выделение очищенной ДНК методом фенол-хлороформовой экстракции, подготовка реактивов для лизиса клеток и очистки ДНК-матриц, лизис клеток и выделение очищенной ДНК, выделение ДНК методом нуклеосорбции); 2 – проведение ПЦР.

Амплификацию проводили на детектирующем термоциклере «CFX96» (BioRad, США). Каждый цикл амплификации включал в себя 3 температурных режима: денатурацию ДНК (920–94 °С – 1 мин.), отжиг праймеров (450–68 °С в течении 0,5–2 мин.), синтез комплементарной цепи (700–72 °С в течении 1–3 мин.). Регистрация сигнала флуоресценции, возникающего при накоплении продуктов амплификации участков ДНК проводилась в режиме «реального времени» после стадии отжига праймеров для выбранных генов по каналу VIC – для детекции одного из аллельных вариантов генов, и по каналу FAM – для альтернативного варианта. Результаты интерпретировались с использованием метода аллельной дискриминации в зависимости от характера кривых амплификации, отображаемых в программном обеспечении для амплификатора «CFX96». Анализ генетического полиморфизма проводили в автоматическом режиме методом аллельной дискриминации с разделением генотипов по квадратам на программном обеспечении Bio-Rad CFX Maestrj 1.0 v. 4.0.2325.0418.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы «STATISTICA 7.0». Количественные параметры были представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1 – Q3). Значимость различий независимых групп оценивалась с помощью U-критерия Манна-Уитни

(U). Для оценки взаимосвязей применяли коэффициент корреляции Спирмена (r) с определением уровней зависимости: при $0,00 \leq r < 0,30$ – зависимость нет; $0,30 \leq r < 0,70$ – зависимость умеренная; $0,70 \leq r < 1,00$ – зависимость выраженная. Корреляция считалась статистически значимой при $p < 0,05$. Для описания соотношения частот генотипов и аллелей исследуемых полиморфизмов генов использовали метод χ^2 . Различия в двух популяциях рассчитывались по отношению шансов (OR) с использованием подхода «случай-контроль» для различных моделей наследования и считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки зависимости между количественным и качественным признаками количественные признаки преобразовывались в качественные. Определение зависимости проводилось по таблице сопряженности (кросстабуляции). Зависимость считалась статистически значимой при $p < 0,05$ [19].

Результаты исследования

У пациентов с ХГС было установлено повышение концентрации в сыворотке крови почти в 2 раза уровня провоспалительного цитокина TNF- α и показателя повреждения эндотелия VEGF в 4 раза в сравнении с группой практически здоровых лиц ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно) (табл. 1).

При анализе активности антиоксидантных ферментов у больных ХГС выявлено снижение уровня САТ и GPX в сыворотке крови в сравнении с группой контроля ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно). Полученные результаты характеризуют развитие воспаления на фоне повреждения эндотелия и оксидантного стресса.

При корреляционном анализе выявлена обратная взаимосвязь показателей TNF- α с каталазой ($r = -0,37$; $p = 0,03$) и прямая взаимосвязь антиоксидантных ферментов между собой ($r = 0,41$; $p = 0,04$).

Анализ генотипов гена *TNF- α* в регионе -308G/A не выявил значимых различий в исследуемых группах. В обоих когортах преобладал генотип GG ($\chi^2 = 1,19$; $p = 0,55$) (табл. 2).

Исследование полиморфизма гена *САТ* в регионе -262G/A показало, что в группе контроля и пациентов с ХГС практически с одинаковой частотой выявлялся гомозиготный вариант GG в 60% и 63,16% случаев соответственно ($\chi^2 = 0,86$; $p = 0,71$) и аллель G в 74% и 77,89% ($\chi^2 = 0,55$; $p = 0,47$). Изучение аллельных вариантов гена *GPX4* в регионе -718C/T определило преобладание гетерозиготы СТ в 40% у доноров и 48,42% у лиц с ХГС ($\chi^2 = 0,11$; $p = 0,96$) и С-аллель в 64% и 62,11% случаев соответственно ($\chi^2 = 0,10$; $p = 0,75$). Статистически значимых различий не было выявлено.

В группе контроля чаще встречалась гетерозигота GC гена *VEGFA* в регионе -634G/C в 58% ($\chi^2 = 10,09$; $p = 0,02$), при этом гомозигота CC была найдена с высокой вероятностью только в группе пациентов с ХГС в 13,68%, а у здоровых не обнаруживалась ($\chi^2 = 7,52$; $p = 0,01$). Можно предположить, что аллель C гена *VEGFA* в регионе -634G/C является фактором риска развития ХГС.

Анализ полиморфизма гена *IL28B* в регионе C/T показал почти одинаковое распределение генотипов и аллелей в обеих исследуемых группах. Соотношение генотипов CC, CT и TT в группе больных ХГС данного генетического маркера составило 45,26; 47,37 и 7,37.

Таким образом, проведенный анализ отдельных полиморфизмов генов в группах контроля и пациентов

Таблица 1/ Table 1

Концентрации, фактора некроза опухоли-альфа, каталазы, глутатионпероксидазы и васкулоэндотелиального фактора роста у доноров и у пациентов с хроническим гепатитом С; Ме (Q1 – Q3)

Concentrations of tumor necrosis factor-alpha, catalase, glutathione peroxidase and vascular endothelial growth factor in donors and in patients with chronic hepatitis C; Me (Q1 – Q3)

Показатели indicators	Контрольная группа Control (n=50)	Больные ХГС patients ChHC (n=95)	p
TNF- α , пг/мл (pg/ml)	0 (0 – 0,8)	1,8 (1,0 – 4,15)	<0,001
САТ, мкат/л (mkat/l)	24,9 (22,5 – 28,4)	10,2 (5,3 – 14,4)	<0,001
GPX, мкмоль/л $\mu\text{mol/l}$	23,3 (20,5 – 27,2)	8,1 (4,5 – 12,5)	<0,001
VEGF, пг/мл (pg/ml)	86,7 (10,7 – 175)	345 (206 – 559)	<0,001

Примечание. p – значимость различий показателей контрольной и основной группы.

Note. p is the significance of the differences between the indicators of the control and the main group.

с ХГС показал значимые различия по распределению генотипов только для маркера *VEGFA* в регионе -634G/C.

Однако, оценка зависимости качественных признаков, проведенная на втором этапе исследования по таблице сопряженности, выявила ассоциацию полиморфизма гена *CAT* (*G262A*) и *GPX4* (*C718T*) со снижением выработки ферментов *CAT* и *GPX* ($K_i=0,523$; $p=0,049$ и $K_i=0,561$; $p=0,047$ соответственно), что может приводить к истощению механизмов антиоксидантной защиты и прогрессированию поражения печени в группе носителей.

Обсуждение

Повышение уровня *TNF-α* отражает активность воспалительного процесса в печени и взаимосвязано с активацией фиброза [7, 10]. При анализе активности антиоксидантных ферментов у больных ХГС выявлено снижение уровня *CAT* и *GPX* в сыворотке крови в сравнении с группой контроля. Дефицит *CAT* и *GPX* может оказывать влияние на прогрессирование заболевания, в том числе на развитие фиброза, что подтверждает взаимосвязь окислительного стресса с па-

Таблица 2/Table 2

Оценка аллельных вариантов генов в группах контроля и пациентов с хроническим гепатитом С, %±SEM

Evaluation of allelic gene variants in the control group and patients with chronic hepatitis C, %± SEM

Генотип/аллели генов		Контроль Control n=50	ХГС CHC n=95	OR	p
<i>TNF-α</i> -308G/A	GG,%	82±5,43	77,89±4,26	0,77	0,55
	GA,%	18±5,43	20±4,1	1,14	0,77
	AA,%	0±0	2,11±1,47	1,29	0,16
	G-аллель,%	91±2,86	87,89±2,37	0,72	0,41
	A-аллель,%	9±2,86	12,11±2,37	1,39	0,41
<i>CAT</i> -262G/A	GG,%	60±6,93	63,16±4,95	1,14	0,71
	GA,%	28±6,35	29,47±4,68	1,07	0,85
	AA,%	12±4,6	7,37±2,68	0,58	0,39
	G-аллель,%	74±4,39	77,89±3,01	1,24	0,47
	A-аллель,%	26±4,39	22,11±3,01	0,87	0,47
<i>GPX4</i> -718C/T	CC,%	40±6,93	37,89±4,98	0,92	0,81
	CT,%	48±7,07	48,42±5,13	1,02	0,96
	TT,%	12±4,6	13,68±3,53	1,16	0,77
	C-аллель,%	64±4,8	62,11±3,52	0,92	0,75
	T-аллель,%	36±4,8	37,89±3,52	1,08	0,75
<i>VEGFA</i> -634G/C	GG,%	42±6,98	48,42±5,13	1,30	0,46
	GC,%	58±6,98	37,89±4,98	0,44	0,02
	CC,%	0±0	13,68±3,53	0,41	0,01
	G-аллель,%	71±4,54	67,37±3,4	0,84	0,52
	C-аллель,%	29±4,54	32,63±3,4	1,19	0,52
<i>IL28B</i> C/T	CC,%	42±6,98	45,26±5,11	1,04	0,71
	CT,%	52±7,07	47,347±5,12	0,96	0,6
	TT,%	6±3,36	7,37±2,68	1,14	0,75
	C-аллель,%	68±4,66	68,95±3,36	0,83	0,87
	T-аллель,%	32±4,66	31,05±3,36	1,25	0,87

Примечание. OR — отношение шансов, p — значимость различий между группами.

Note. OR – odds ratio, p – significance of differences between groups.

тогенезом вирусного гепатита, независимое от генотипа вируса [10, 15]. Значимое увеличение выработки VEGF отражает выраженность повреждения эндотелия и характеризует активацию неоангиогенеза и стимуляцию фиброза, в том и числе и в экспериментальных моделях [13].

Таким образом, развитие ХГС сопровождается активацией воспаления с повышением выработки TNF- α при снижении антиоксидантной защиты с уменьшением активности ферментов CAT и GPX, а также стимуляцией процессов неоангиогенеза, ведущим к перестройке сосудистой архитектоники в печени, что способствует прогрессированию заболевания вплоть до развития цирроза печени. При корреляционном анализе выявлена статистически значимая обратная взаимосвязь средней степени TNF- α с активностью каталазы и прямая значимая взаимосвязь средней степени антиоксидантных ферментов между собой. То есть, чем более выражена активность воспаления, тем более угнетена антиоксидантная защита, что также способствует прогрессированию повреждения гепатоцитов. Полученные нами результаты подтверждают данные и других исследований [6-8, 10].

Проведенный анализ отдельных полиморфизмов генов в группах доноров и пациентов с ХГС показал значимые различия по распределению генотипов только для маркера *VEGFA* в регионе -634G/C. Тем не менее, отмечена ассоциация полиморфизма гена *CAT* (G262A) и *GPX4* (C718T) со снижением выработки ферментов CAT и GPX ($K_i=0,523$; $=0,049$ и $K_i=0,561$; $p=0,047$ соответственно), что может приводить к истощению механизмов антиоксидантной защиты и прогрессированию поражения печени в группе носителей. Соотношение генотипов *CC*, *CT* и *TT* в группе больных ХГС данного генетического маркера сопоставимо с данными, полученными при обследовании пациентов с ХГС в Нижегородской области, у которых частота встречаемости генотипов была 40, 44,3 и 15,7% соответственно [17].

Быстрые успехи в технологиях секвенирования ДНК также сделали возможным проведение исследований всего генома сложных заболеваний. В этом контексте исследования общегеномной ассоциации (GWAS) широко использовались для выявления причинных геномных вариантов, подразумеваемых в выражении различных заболеваний человека. Стандартный подход основан на одномерной регрессии (логистическая регрессия в исследованиях случай-контроль), когда пациенты тестируются против здоровых людей в одном или нескольких локусах. Этот подход фокусируется на выявлении общих маркеров с частотой мар-

керных аллелей выше 5%, хотя вполне вероятно, что анализ низкочастотных (<5 %) и редких (<0,5 %) вариантов сможет объяснить дополнительные риски заболеваний или изменчивость признаков. Вместо тестирования каждого варианта по отдельности маркерам предлагается использовать оценку кумулятивных эффектов нескольких генетических вариантов в гене или области для повышения эффективности, когда несколько вариантов в группе связаны с данным заболеванием или признаком [20].

Заключение

Развитие ХГС сопровождается активацией процессов воспаления, оксидантного стресса и неоангиогенеза, что сопровождается повышением выработки TNF- α на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты CAT и GPX, а также активацией неоангиогенеза за счет повышения уровня VEGF.

Проведенный анализ отдельных полиморфизмов генов патогенетически значимых молекул: *TNF- α* в регионе -308G/A (rs1800629), *CAT* в регионе -262G/A (rs1001179), *GPX4* в регионе -718C/T (rs713041), *VEGFA* в регионе -634G/C (rs2010963) и *IL28B* в регионе C/T (rs12979860) в группах контроля и пациентов с ХГС показал значимые различия по распределению генотипов только для маркера *VEGFA*. В регионе -634G/C: гомозиготы *CC* были с высокой вероятностью только в группе пациентов с ХГС, а в популяции здоровых не обнаруживались. Можно предположить, что аллель *C* гена *VEGFA* (G634C) является фактором риска развития ХГС при инфицировании вирусом. При этом была выявлена ассоциацию полиморфизма гена *CAT* (G262A) и *GPX4* (C718T) со снижением активности ферментов CAT и GPX, что может приводить к истощению механизмов антиоксидантной защиты и прогрессированию поражения печени в группе носителей.

Литература

1. *Global hepatitis report, 2017* [Geneva, Switzerland]: World Health Organization. 2017; URL:<http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>
2. Пименов Н.Н., Комарова С.В., Карандашова И.В., Цапкова Н.Н., Волчкова Е.В., Чуланов В.П. Гепатит С и его исходы в России: анализ заболеваемости, распространенности и смертности до начала программы. *Инфекционные болезни*. 2018; 16(3): 37-45.
3. Blach S., Zeuzem S., Manns M., Altraif I., Duberg A., Muljono D.H., et al. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017; 2(3): 161-76.
4. Хазанов А.И., Плюснин С.В., Васильев А.П., Павлов А.И., Пехташев С.Г., Скворцов С.В. Алкогольные и вирусные циррозы

- печени у стационарных больных (1996–2005 гг.): распространенность и исходы. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2007; 17(2): 19–27.
5. WHO International Agency for Research on Cancer, editor. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Volume 100: A review of human carcinogens. Part B: Biological agents. Lyon: 2012.
 6. Brenner D.A. Molecular pathogenesis of liver fibrosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2009; 120: 361–8.
 7. Bataller R., Brenner D.A. Liver fibrosis. *J. Clin. Invest*. 2005; 115 (2): 209–18. doi: 10.1172/JCI24282
 8. Li K. Activation of chemokine and inflammatory cytokine response in hepatitis C virus-infected hepatocytes depends on Toll-like receptor 3 sensing of hepatitis C virus double-stranded RNA intermediates. *Hepatology*. 2012; 55(3): 666–75. doi: 10.1002/hep.24763. Epub 2012 Jan 30
 9. Кичерова О.А., Рейхерт Л.И., Кичерова К.П. Вред и польза окислительного стресса. *Медицинская наука и образование Урала*. 2019; 20(4): 193–6.
 10. Đorđević V., Đorđević D.S., Kocić B., Dinić M.I, Sokolović D., Stanković J.P. The Impact of Hepatitis C Virus Genotypes on Oxidative Stress Markers and Catalase Activity Research Article | Open Access Volume 2021 | Article ID 6676057 | <https://doi.org/10.1155/2021/6676057>
 11. Battaglia S., Angus P., Chin-Dusting J.P. Role of the endothelium on vasoactive agents in patients with liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006; 21(7): 1189–93.
 12. Шёкотов В.В., Шёкотова А.П., Булатова И.А. Взаимосвязь маркеров эндотелиальной дисфункции и фиброза при хроническом гепатите и циррозе печени. *Клиницист*. 2011; 3: 68–73.
 13. Yang, Liu., Junghee Kwon., PopovY., Gabriella B. Gajdos., Tamas Ordog., et al. Vascular Endothelial Growth Factor Promotes Fibrosis Resolution and Repair in Mice [Electronic resonance]. *Gastroenterology*. 2014; 146(5): 1339. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.061>
 14. Huang Hongjin. Mitchell L. Shiffman, Ramsey C. Cheung, et al. Identification of Two Gene Variants Associated With Risk of Advanced Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology*. 2006; 130: 1679–87.
 15. Sarikaya E., Doğan S. Glutathione Peroxidase in Health and Diseases, Glutathione System and Oxidative Stress in Health and Disease, Margarete Dulce Bagatini, IntechOpen, Submitted: May 30th 2019 Reviewed: January 2nd 2020 Published: January 31st 2020 DOI: 10.5772/intechopen.91009. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/70955>
 16. Рюмин А.М., Корочкина О.В., Собчак Д.М. Новые возможности прогнозирования эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20(2): 25–9.
 17. Николаева Л.И., Колотвин А.В., Самоходская Л.М., Сапронов Г.В. Анализ влияния генетических факторов вируса гепатита С и полиморфизма генов инфицированных людей на развитие фиброза печени. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; 5: 7–13.
 18. Таратина О.В., Краснова Т.Н., Самоходская Л.М., Лопаткина Т.Н., Ткачук В.А., Мухин Н.А. Полиморфизм генов дисфункции эндотелия и скорость прогрессирования фиброза печени при хроническом гепатите С. *Терапевтический архив*. 2014; 86(4): 45–51.
 19. Шелудько В.С., Подлужная М.Я. *Теоретические основы медицинской статистики: метод. рекомендации*. Пермь, 2001.
 20. Guinot F., Szafranski M., Ambroise C., et al. Learning the optimal scale for GWAS through hierarchical SNP aggregation. *BMC Bioinformatics*. 2018; 19, 459. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2475-9>

References

1. *Global hepatitis report, 2017* [Geneva, Switzerland]: World Health Organization. 2017; URL:<http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>
2. Pimenov N.N., Komarova S.V., Karandashova I.V., Tsapkova N.N., Volchkova E.V., Chulanov V.P. Hepatitis C and its outcomes in Russia: analysis of morbidity, prevalence and mortality before the start of the program. *Infektsionnye bolezni*. 2018; 16(3): 37–45. (in Russian)
3. Blach S., Zeuzem S., Manns M., Altraif I., Duberg A., Muljono D.H., et al. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2017; 2(3): 161–76.
4. Khazanov A.I., Plyusnin S.V., Vasil'ev A.P., Pavlov A.I., Pekhtashev S.G., Skvortsov S.V. Alcohol and viral liver cirrhosis in inpatient patients (1996–2005): prevalence and outcomes. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2007; 17(2): 19–27. (in Russian)
5. WHO International Agency for Research on Cancer, editor. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Volume 100: A review of human carcinogens. Part B: Biological agents. Lyon: 2012.
6. Brenner D.A. Molecular pathogenesis of liver fibrosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2009; 120: 361–8.
7. Bataller R., Brenner D.A. Liver fibrosis. *J. Clin. Invest*. 2005; 115 (2): 209–18. doi: 10.1172/JCI24282
8. Li K. Activation of chemokine and inflammatory cytokine response in hepatitis C virus-infected hepatocytes depends on Toll-like receptor 3 sensing of hepatitis C virus double-stranded RNA intermediates. *Hepatology*. 2012; 55(3): 666–75. doi: 10.1002/hep.24763. Epub 2012 Jan 30
9. Kicherova O.A., Reykhert L.I., Kicherova K.P. The harm and benefits of oxidative stress. *Meditsinskaya nauka i obrazovanie Urala*. 2019; 20 (4): 193–6. (in Russian)
10. Đorđević V., Đorđević D.S., Kocić B., Dinić M.I, Sokolović D., Stanković J.P. The Impact of Hepatitis C Virus Genotypes on Oxidative Stress Markers and Catalase Activity Research Article | Open Access Volume 2021 | Article ID 6676057 | <https://doi.org/10.1155/2021/6676057>
11. Battaglia S., Angus P., Chin-Dusting J.P. Role of the endothelium on vasoactive agents in patients with liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006; 21(7): 1189–93.
12. Shchekotov V.V., Shchekotova A.P., Bulatova I.A. The relationship of markers of endothelial dysfunction and fibrosis in chronic hepatitis and cirrhosis of the liver. *Klinitsist*. 2011; 3: 68–73. (in Russian)
13. Yang, Liu., Junghee Kwon., PopovY., Gabriella B. Gajdos., Tamas Ordog., Rolf A. Brekken., et al. Vascular Endothelial Growth Factor Promotes Fibrosis Resolution and Repair in Mice [Electronic resonance]. *Gastroenterology*. 2014; 146(5): 1339. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.061>
14. Huang Hongjin. Mitchell L. Shiffman, Ramsey C. Cheung, et al. Identification of Two Gene Variants Associated With Risk of Advanced Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology*. 2006; 130: 1679–87.

15. Sarıkaya E., Doğan S. Glutathione Peroxidase in Health and Diseases, Glutathione System and Oxidative Stress in Health and Disease, Margarete Dulce Bagatini, IntechOpen, Submitted: May 30th 2019 Reviewed: January 2nd 2020 Published: January 31st 2020 DOI: 10.5772/intechopen.91009. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/70955>
16. Ryumin A.M., Korochkina O.V., Sobchak D.M. New possibilities for predicting the effectiveness of antiviral therapy for chronic hepatitis C. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2015; 20(2): 25-9. (in Russian)
17. Nikolaeva L.I., Kolotvin A.V., Samokhodskaya L.M., Sapronov G.V. Analysis of the influence of genetic factors of the hepatitis C virus and gene polymorphism of infected people on the development of liver fibrosis. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2012; 5: 7-13. (in Russian)
18. Taratina O.V., Krasnova T.N., Samokhodskaya L.M., Lopatkina T.N., Tkachuk V.A., Mukhin N.A. Polymorphism of endothelial dysfunction genes and the rate of progression of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2014; 86(4): 45-51. (in Russian)
19. Shelud'ko V.S., Podluzhnaya M.Ya. *Theoretical foundations of medical statistics*. [Theoretical foundations of medical statistics: metod. Rekomendatsii]. Perm; 2001. (in Russian)
20. Guinot F., Szafranski M., Ambroise C., et al. Learning the optimal scale for GWAS through hierarchical SNP aggregation. *BMC Bioinformatics*. 2018; 19, 459. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2475-9>

Сведения об авторах:

Булатова Ирина Анатольевна, доктор мед. наук, зав. каф. нормальной физиологии, проф. каф. факультетской терапии № 2, профессиональной патологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, e-mail: bula.1977@mail.ru;

Шевлюкова Татьяна Петровна, доктор мед. наук, проф. каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, e-mail: tata21.01@mail.ru;

Щёктова Алевтина Павловна, доктор мед. наук, проф. каф. факультетской терапии № 2, профессиональной патологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, e-mail: al_shchekotova@mail.ru;

Кривцов Александр Владимирович, канд. мед. наук, зав. лаб. иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», e-mail: krivtsov@fcrisk.ru