

УДК 616.36–002.2–092:612.6.05:577.21]–06:616.36–002.17
<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-189-5-39-43>



Наличие генетических маркеров САТ свидетельствует об ускоренных темпах прогрессирования фиброза печени у больных хроническим гепатитом

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

¹ Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера Минздрава России, 614990, г. Пермь, Россия, ул. Петропавловская, 26

² Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, 625023, г. Тюмень, Россия, ул. Одесская, 54

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

Для цитирования: Булатова И. А., Шевлюкова Т. П., Щёктова А. П., Кривцов А. В. Наличие генетических маркеров САТ свидетельствует об ускоренных темпах прогрессирования фиброза печени у больных хроническим гепатитом. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;189(5): 39–43. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-189-5-39-43

Булатова Ирина Анатольевна, д.м.н., заведующая кафедрой нормальной физиологии, профессор кафедры факультетской терапии № 2, профессиональной патологии и клинической лабораторной диагностики

Шевлюкова Татьяна Петровна, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии

Щёктова Алевтина Павловна, д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии № 2, профессиональной патологии и клинической лабораторной диагностики

Кривцов Александр Владимирович, к.м.н., заведующий лабораторией иммуногенетики

✉ Для переписки:

Булатова Ирина Анатольевна
 bula.1977@mail.ru

Резюме

Цель. Оценить генетический профиль больных хроническим гепатитом С (ХГС) по полиморфизму генов САТ в регионе –262G/A (rs1001179), GPX4 в регионе –718C/T (rs713041), IL28B в регионе C/T (rs12979860) и VEGFA в регионе –634G/C (rs2010963) для анализа ассоциации темпа прогрессирования фиброза печени (ФП) с полиморфными генетическими маркерами.

Материалы и методы. Обследовали 36 больных ХГС с быстро прогрессирующим темпом фиброза (до 10 лет) и 56 пациентов с медленно прогрессирующим течением заболевания (более 10 лет). Исследование однонуклеотидных полиморфизмов генов осуществляли методом полимеразной цепной реакции.

Результаты. В группе с быстрым прогрессированием ФП чаще встречались лица, имеющие одновременно несколько аллелей риска по исследуемым полиморфизмам, что подтверждает ассоциацию риска прогрессирования ФП с генетическими маркерами САТ в регионе –262G/A (rs1001179) и GPX4 в регионе –718C/T (rs713041) при их сочетанном носительстве. Среди пациентов с быстрым прогрессированием фиброза большее количество лиц имело одновременно 4–6 аллелей риска в 27,5%, тогда как больные с медленной прогрессией процесса только в 11% случаев.

Заключение. Данный комплекс генетических маркеров можно использовать в качестве генетического тестирования пациентов с ФП для определения прогноза заболевания.

Ключевые слова: фиброз печени, хронический гепатит, полиморфизм генов, генетический профиль

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-189-5-39-43>

Presence of CAT genetic markers as an indicator of accelerated rate of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis

I. A. Bulatova¹, T. P. Shevlyukova², A. P. Shchekotova¹, A. V. Krivtsov³

¹ University E. A. Wagner Perm State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 26 Petropavlovsk str., Perm, 614990, Russia

² Tyumen State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 54 Odesskaya str., Tyumen, 625023, Russia

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

For citation: Bulatova I. A., Shevlyukova T. P., Shchekotova A. P., Krivtsov A. V. Presence of CAT genetic markers as an indicator of accelerated rate of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;189(5): 39–43. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-189-5-39-43

✉ Corresponding author:

Irina A. Bulatova
bula.1977@mail.ru

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; ORCID: 0000-0002-7802-4796

Tatyana P. Shevlyukova, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology; ORCID: 0000-0002-7019-6630

Alevtina P. Shchekotova, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Faculty Therapy No. 2, Occupational Pathology and Clinical Laboratory Diagnostics; ORCID: 0000-0003-0298-2928

Alexander V. Krivtsov, Candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Immunogenetics; ORCID: 0000-0001-7986-0326

Summary

Goal. To evaluate the genetic profile of patients with chronic hepatitis C (CHC) by the CAT gene polymorphism in the region-262G/A (rs1001179), GPX4 in the region-718C/T (rs713041), IL28B in the region C/T (rs12979860) and VEGFA in the region-634G/C (rs2010963) to analyze the association of the rate of progression of liver fibrosis with polymorphic genetic markers.

Materials and methods. We examined 36 patients with CHC with a rapidly progressive rate of fibrosis (up to 10 years) and 56 patients with a slowly progressive course of the disease (more than 10 years). The study of single-nucleotide polymorphisms of genes was carried out by the method of polymerase chain reaction.

Results. In the group with rapid progression of liver fibrosis, individuals with multiple risk alleles for the studied polymorphisms were more common, which confirms the association of the risk of liver fibrosis progression with the genetic markers CAT in the region-262G/A (rs1001179) and GPX4 in the region-718C/T (rs713041) with their combined carrier. Among patients with rapid progression of fibrosis, a greater number of individuals had simultaneously 4–6 risk alleles in 27.5%, while patients with slow progression of the process only in 11% of cases.

Conclusion. This set of genetic markers can be used as genetic testing of patients with liver fibrosis to determine the prognosis of the disease.

Keywords: liver fibrosis, chronic hepatitis, gene polymorphism, genetic profile

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Фиброгенез можно рассматривать, как эволюционный процесс прогрессирования хронического гепатита в цирроз печени, определяющий исход заболевания [1–4]. В последние годы утвердилось мнение об обратимости фиброза печени (ФП) при эффективной этиотропной и антифибротической терапии, которая может обеспечить благоприятный прогноз даже при уже развившемся циррозе [1, 5]. Существуют экспериментальные доказательства обратимости процессов фиброза и цирроза [6, 7].

Анализ течения фиброза складывается из клинической картины и данных инструментального, лабораторного и морфологического обследования [8]. Однако, исход заболевания во многом определяется индивидуальным темпом прогрессирования ФП, который зависит от целого ряда факторов, ассоциированных как с этиологическими особенностями возбудителя (вируса), так и с состоянием организма пациента и остается не до конца изученным. К доказанным факторам риска

прогрессирования ФП со стороны вируса можно отнести его генотип, активность репликации, ко-инфекция, воздействие 2-х и более этиологических факторов (алкоголь+вирус, вирус+стеатоз печени). Неблагоприятными факторами, ассоциированными с организмом «хозяина» являются мужской пол, сопутствующая патология (сахарный диабет, ожирение), инсулинорезистентность, нарушение метаболизма железа [2, 5, 9, 10, 11].

Однако у пациентов, не имеющих вышеперечисленных факторов риска, прогнозирование развития заболевания не всегда возможно. Поэтому, поиск новых надежных прогностических, в том числе и генетических маркеров течения фиброза актуален.

На сегодняшний день очень перспективной областью здравоохранения является оценка роли генетических факторов при мультифакториальных заболеваниях, к которым относится и хронический

гепатит вне зависимости от этиологии. И если значение генетических факторов со стороны возбудителя (вирус) в эволюции от гепатита до цирроза достаточно хорошо изучено, то поиск генетических предикторов риска прогрессирования ФП со стороны «хозяина» находится только в процессе реализации и результаты порой достаточно противоречивы. В основном работы посвящены оценке влияния полиморфизма генов цитокинов и гемохроматоза на течение хронических заболеваний печени.

Цель работы: оценить генетический профиль больных хроническим гепатитом С (ХГС) по полиморфизму генов *CAT* в регионе -262G/A (rs1001179), *GPX4* в регионе -718C/T (rs713041), *IL28B* в регионе C/T (rs12979860) и *VEGFA* в регионе -634G/C (rs2010963) для анализа ассоциации темпа прогрессирования фиброза с полиморфными генетическими маркерами.

Материалы и методы

Всего в исследование было включено 92 пациента с ХГС (43 мужчины и 49 женщины) средним возрастом $38,8 \pm 11,2$ лет с установленной длительностью заболевания, которая варьировала от 2 до 18 лет и в среднем составляла $5,86 \pm 3,59$ лет. Для анализа влияния полиморфизмов изучаемых генов на темпы прогрессирования ФП больные были разделены на две группы. В первую группу включили 36 больных ХГС с быстро прогрессирующим темпом фиброза (до 10 лет) в среднем $5,2 \pm 3,5$ лет. Вторая группа состояла из 56 пациентов с медленно прогрессирующим течением заболевания (более 10 лет) в среднем $7,5 \pm 3,3$ лет.

Генетический скрининг осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе Real-time «CFX-96» («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) с применением

аллель-специфической ПЦР «SNP-Скрин» (ЗАО «Синтол», г. Москва).

Оценка индивидуального генетического профиля проводилась с использованием бальной шкалы от 0 до 8, при которой присваивался по 1 баллу за наличие каждого аллеля риска с последующим суммированием баллов у обследуемого.

Статистическая обработка данных проводилась на программе «STATISTICA 7.0». Относительные показатели описывались в виде средней арифметической и средней ошибки ($M \pm m$), для качественных признаков различия устанавливались методом χ^2 . Для описания соотношения частот генотипов и аллелей изучаемых генов использовали равновесие Харди-Вайнберга. Различия в двух популяциях рассчитывались по отношению шансов (OR) и считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Анализ аллельных вариаций гена *CAT* в регионе -262G/A показал статистически значимые различия в группах с разной скоростью развития фиброза: гетерозигота GA и аллель риска A чаще выявлялись у пациентов с быстрым темпом прогрессии ФП в 43,24% ($\chi^2=4,93$; $p=0,04$; OR=2,29) и в 29,73% ($\chi^2=4,92$; $p=0,04$; OR=2,21), чем при медленном темпе прогрессирования заболевания (25 и 16,07% соответственно) (табл. 1).

Изучение частоты встречаемости вариантов гена *GPX4* в регионе -718C/T выявило преобладание гетерозиготы СТ у 56,76% больных с быстрым темпом прогрессирования ФП ($\chi^2=3,56$; $p=0,04$; OR=1,97). У пациентов с медленным прогрессированием заболевания этот вариант полиморфизма регистрировался только у 40%.

Статистически значимых различий при исследовании полиморфных локусов генов *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) у больных с разной скоростью развития ФП не было получено.

Таким образом, у пациентов с ХГС выявлены ассоциации аллеля A гена *CAT* (G262A) и аллеля T гена *GPX4* (C718T) с ростом темпа прогрессирования ФП, что дает основание предположить данные аллели «профиброгенными».

Далее в исследуемых группах была проведена оценка индивидуального генетического профиля каждого пациента с использованием бальной шкалы от 0 до 8, при которой присваивался по 1 баллу за наличие каждого аллеля риска с последующим суммированием баллов у обследуемого (табл. 2).

В группе с медленным темпом развития фиброза лица, имеющие от 0 до 3 аллелей риска исследуемых полиморфизмов генов встречались в 89%, среди пациентов с быстрым прогрессированием заболевания реже – в 72,5% случаев. При этом в последней группе большее количество лиц имело 4–6 аллелей риска в 27,5%, тогда как у пациентов с медленной прогрессией процесса только в 11% случаев.

Таблица 1
Частота встречаемости аллельных вариантов исследуемых генов в группах больных ХГ в зависимости от темпа прогрессирования фиброза

Примечание:
OR – отношение шансов,
р – значимость различий,
* – различия статистически значимые

Генотип/аллели генов		Медленный темп (n=56)%±m	Быстрый темп (n=36)%±m	OR	p
CAT (G262A)	GG,%	71,42±6,03	48,65±8,22	0,39	0,03
	GA,%	25±5,77	43,24±8,14	2,28	0,04
	AA,%	3,56±2,46	8,21±4,59	2,38	0,38
Аллели	G-аллель,%	83,91±3,46	70,27±5,31	0,46	0,04
	A-аллель,%	16,07±3,48	29,73±5,31	2,31	0,04
GPX4 (C718T)	CC,%	45,45±6,72	32,53±7,7	0,57	0,21
	CT,%	40±6,62	56,76±8,14	1,97	0,04
	TT,%	14,5±4,76	10,71±5,1	0,72	0,59
Аллели	C-аллель,%	65,45±4,55	60,83±5,67	0,82	0,53
	T-аллель,%	34,65±4,63	39,29±5,66	1,22	0,53
IL28B (C/T)	CC,%	32,72±6,31	40,55±8,1	1,42	0,45
	CT,%	60±6,61	48,55±8,32	0,64	0,29
	TT,%	7,27±3,52	10,72±5,3	1,55	0,57
Аллели	C-аллель,%	62,73±4,63	64,76±5,65	1,12	0,77
	T-аллель,%	37,25±4,63	35,24±5,53	0,91	0,77
VEGFA (G-634C)	GG,%	54,56±6,76	47,32±8,22	0,77	0,55
	GC,%	33,91±6,53	41,77±8,22	1,38	0,46
	CC,%	12,4±4,52	11,21±5,25	0,87	0,84
Аллели	G-аллель,%	70,64±4,41	68,16±5,39	0,88	0,72
	C-аллель,%	29,56±4,33	31,84±5,51	1,12	0,72

Таблица 2
Генетический профиль пациентов с медленным и быстрым темпом прогрессирования фиброза печени

Темп развития ФП/ баллы	0	1	2	3	4	5	6
Медленный,%	11	30	41	7	11	-	-
Быстрый,%	2	18	20,5	32	20,5	4	3

Обсуждение

Комплексное изучение полиморфизмов генов патогенетически значимых молекул с определением аллелей риска и индивидуализация генетического профиля пациентов с ФП представляет интерес с точки зрения оценки прогноза заболевания.

При фиброгенезе наблюдается каскад реакций: активация звездчатых клеток печени, развитие воспаления и «цитокинового шторма», активация механизмов свободнорадикального окисления и процессов неоангиогенеза, макрофагов печени и эндотелия синусоидов с развитием дисфункции эндотелия, что обуславливает прогрессирование ФП [1].

Негативными последствиями активации механизмов свободнорадикального окисления и снижения уровня антиоксидантной защиты может быть стимуляция фиброгенеза за счет воздействия на звездчатые клетки печени и быстрое прогрессирование патологического процесса [12, 13]. Влияние генов, кодирующих продукцию активных форм кислорода на прогрессирование воспаления и фиброза было доказано также в эксперименте [14]. Мы

в нашем исследовании нашли ассоциации аллеля А гена CAT (G262A) и аллеля Т гена GPX4 (C718T) с ростом темпа прогрессирования ФП.

В исследованиях А. Rauch et al. (2010) аллель G полиморфизма гена IL-28B (rs8099917) ассоциировалась с более быстрым развитием фиброза у больных гепатитом С [15]. В другом регионе регионе C/T (rs12979860) полиморфных локусов генов IL28B нам не удалось выявить ассоциаций с темпами прогрессии ФП.

Дисфункция эндотелия играет важную роль в патогенезе расстройств портальной гемодинамики и прогрессировании ФП [16]. Есть данные, что полиморфизм генов дисфункции эндотелия определяет характер течения заболеваний печени [17].

В более ранних исследованиях мы определили взаимосвязь дисфункции эндотелия и носительства аллели С в локусе гена VEGFA (G-634C) с хронизацией гепатита С [18]. Однако ассоциаций полиморфизма этого гена с темпами прогрессии ФП в данном исследовании не установлено.

Заключение

Таким образом в группе с быстрым прогрессированием ФП чаще встречались лица, имеющие одновременно несколько аллелей риска по исследуемым полиморфизмам, что подтверждают ассоциацию риска прогрессирования ФП с генетическими маркерами CAT в регионе –262G/A (rs1001179) и GPX4 в регионе –718C/T (rs713041) при их сочетанном носительстве.

Данный комплекс генетических маркеров можно использовать в качестве генетического тестирования пациентов с ФП для определения прогноза заболевания.

Литература | References

1. Tsimmerman Ya.S. Liver fibrosis: pathogenesis, diagnostic methods, treatment prospects. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2017;26 (1):54–58. (in Russian)
Циммерман Я.С. Фиброз печени: патогенез, методы диагностики, перспективы лечения. Клиническая фармакология и терапия. – 2017. – 26 (1). – С. 54–58
2. Ivashkin, V. T. Liver fibrosis. Moscow. GEOTAR-Media, 2011, 168 P. (in Russian)
Ивашкин, В. Т. Фиброз печени / В. Т. Ивашкин, Ч. С. Павлов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 168 с.
3. Pinzani M, Romanelli R, Magli S. Progression of fibrosis in chronic liver diseases: time to tall the score. *J Hepatol.* 2001;34:764–7.
4. Kurysheva M. A. Liver fibrosis: past, present, and future. *RMZ.* 2010; 18(28):1713–16. (in Russian)
Курышева М. А. Фиброз печени: прошлое, настоящее и будущее. Русский медицинский журнал. – 2010. – 18(28). – С. 1713–16.
5. Mekhtiev S. N., Stepanenko V. V., Zinov'eva E. N., Mekhtieva O. A. Modern ideas about liver fibrosis and methods of its correction. *Farmateka.* 2014, No. 6, pp. 80–87. (in Russian)
Мехтиев С. Н., Степаненко В. В., Зиновьева Е. Н., Мехтиева О. А. Современные представления о фиброзе печени и методах его коррекции. Фарматека. – 2014. – № 6. – С. 80–87.
6. Pavlov Ch. S., Zolotarevskiy V. B., Tomkevich M. S., et al. The possibility of reversibility of cirrhosis of the liver (clinical and pathogenetic prerequisites). *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii.* 2006; 16(1):20–29. (in Russian)
Павлов Ч. С., Золотаревский В. Б., Томкевич М. С. и др. Возможность обратимости цирроза печени (клинические и патогенетические предпосылки). Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – Т. 16. – № 1. – С. 20–29.
7. Ellis E. L., Mann D. A. Clinical evidence for the regression of liver fibrosis. *J. Hepatol.* 2012;56(5):1171–1180.
8. Ivashkin V. T., Yushchuk N. D., Maevskaya M. V. Recommendations for the diagnosis and treatment of adult patients with hepatitis C. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii.* 2013;23(2): 41–70. (in Russian)
Ивашкин В. Т., Ющук Н. Д., Маевская М. В. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2013. – Т. 23. – № 2. – С. 41–70.
9. Krasnova L. I., Nikol'skaya M. V. The incidence and severity of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis, depending on the age and duration of the disease. *Collection of abstracts of the 19th Russian Congress "Hepatology Today".* 2014. 26 P. (in Russian)
Краснова Л. И., Никольская М. В. Встречаемость и выраженность фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом в зависимости от возраста и длительности заболевания. Сборник тезисов XIX Российского конгресса «Гепатология сегодня». – 2014. – с. 26.
10. Bartenschlager R., Lohmann, V., Penin F. The molecular and structural basis of advanced antiviral therapy for hepatitis C virus infection. *Nat. Rev. Microbiol.* 2013, No. 11, pp. 482–496.
11. Wynn A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.* 2008, No. 214, pp. 199–210.
12. Geyvandova N. I., Yagoda A. V., Gudzovskaya D. A., Kostornaya I. V. Serum phospholipids, indicators of lipid peroxidation and antioxidant protection as additional non-invasive markers of the activity of chronic viral hepatitis C. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii.* 2008;(18):38–42. (in Russian)
Гейвандова Н. И., Ягода А. В., Гудзовская Д. А., Косторная И. В. Сывороточные фосфолипиды, показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как дополнительные неинвазивные маркеры активности хронического вирусного гепатита С. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2008. – № 6 (18). – С. 38–42.
13. Parola M., Robino G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *J. Hepatol.* 2001. Vol. 35, pp. 297–306.
14. Bataller R., Brenner D. A. Liver fibrosis. *J. Clin. Invest.* 2005;2 (115):209–218.
15. Rauch A., Kutalik Z., Descombes P. et al. Genetic variation in IL28 B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology.* 2010;138(4):1338–1345.
16. Ermolova T. V., Ermolov S. Yu., Sologub T. V., Karev V. E., Dobkes A. L. Some mechanisms of intrahepatic hemodynamic disorders and its correction in chronic liver diseases with an initial stage of fibrosis. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2018;(2):183–191. (In Russ.)
Ермолова Т. В., Ермолов С. Ю., Сологуб Т. В., Карев В. Е., Добкес А. Л. Некоторые механизмы нарушений внутрипеченочной микроциркуляции при хронических заболеваниях печени на начальных стадиях фиброза и их коррекция. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;150(2):183–191.
17. Taratina O. V., Krasnova T. N., Samokhodskaya L. M., et al. 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)
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). – С. 45–51.
18. Shchekotova A. P., Bulatova I. A. The role of vasculoendothelial growth factor and its gene in the pathogenesis of hepatobiliary pathology. *Permskiy meditsinskiy zhurnal.* 2020;37(4):36–45. DOI: 10.17816/pmj37436–45 (in Russian)
Щёкотова А. П., Булатова И. А. Роль васкулоэндотелиального фактора роста и его гена в патогенезе гепатобилиарной патологии. Пермский медицинский журнал. – 2020 – Т. 37 (№ 4). – С. 36–45. DOI: 10.17816/pmj37436–45