

Роль полиморфных маркеров генов гемостаза и тромбоцитарных рецепторов в прогрессировании фиброза печени у больных хроническим гепатитом С

Е.Е. СТАРОСТИНА¹, Л.М. САМОХОДСКАЯ¹, Т.П. РОЗИНА^{1,2}, Т.Н. КРАСНОВА^{1,2}, Е.Б. ЯРОВАЯ¹, Н.А. МУХИН^{1,2}

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; ²ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Оценка клинической и прогностической значимости носительства различных аллельных вариантов генов системы свертывания и тромбоцитарных рецепторов в прогрессировании фиброза печени у больных хроническим гепатитом С (ХГС).

Материалы и методы. В исследование включили 177 больных ХГС и циррозом печени в его исходе, по темпу нарастания фиброза печени разделенных на 2 группы: с быстро («быстрый фиброз») и медленно («медленный фиброз») прогрессирующим течением заболевания (89 и 88 пациентов соответственно). Полиморфизм исследуемых генов изучали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с анализом кривых плавления.

Результаты. У больных ХГС в группе «быстрого фиброза» генотип GA гена *FV 1691G/A* встречался достоверно чаще, чем у пациентов из группы «медленного фиброза» (10,11% против 1,14%; $p=0,011$). Аллель A гена *FV 1691G/A* чаще выявлялась в группе «быстрого фиброза» (1,7% против 5,56%, отношение шансов 9,787; $p=0,139$). Полиморфный маркер GA гена *FII 20210 G/A*, а также генотипы с 4G аллелью (5G4G+4G4G) и аллель 4G *PAI-I -675 5G/4G* чаще встречались в группе с «быстрым фиброзом» по сравнению с группой с «медленным фиброзом», частота выявления различалась лишь на уровне тенденции ($p=0,118$ и $p=0,112$ и $p=0,117$ соответственно). Достоверных различий между группами по распространению вариантных генотипов и аллелей других изучаемых генов не выявлено. При построении интегральной модели с кодированием генотипов с «профиброгенной» направленностью (*FV 1691 G/A*, *FII 20210 G/A*, *PAI-I -675 5G/4G*) отмечено, что с повышением суммарной оценки скорость фиброза, выраженная в единицах фиброза в год, также возрастала ($p=0,039$), свидетельствуя о сочетании влияния данных генов.

Заключение. Носительство мутантных генотипов гена *FV 1691 G/A*, *FII 20210 G/A*, *PAI-I -675 5G/4G* является прогностическим фактором быстрого течения ХГС.

Ключевые слова: хронический гепатит С, скорость фиброза печени, полиморфизм генов, тромбофилия, гемостаз, тромбоцитарные рецепторы.

Role of polymorphic markers for the genes of hemostasis and platelet receptors in liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C

Е.Е. STAROSTINA¹, L.M. SAMOKHODSKAYA¹, T.P. ROZINA^{1,2}, T.N. KRASNOVA^{1,2}, E.B. YAROVAYA¹, N.A. MUKHIN^{1,2}

¹M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; ²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Aim. To estimate the clinical and prognostic value of the carriage of different allele variants of the gene polymorphisms of the coagulation system and platelet receptors in the progression of liver fibrosis (LF) in patient with chronic hepatitis C (CHC).

Subjects and methods. The investigation enrolled 177 patients with CHC and liver cirrhosis at its outcome who were divided into 2 groups according to the rate of LF progression: 1) 89 patients with rapid (rapid fibrosis) and 2) 88 patients with slow (slow fibrosis) progression. The polymorphism of the study genes was studied using a real-time polymerase chain reaction and a melting curve analysis.

Results. In CHC patients, the *FV 1691G/A* genotype was more often in the rapid progressors than that in the slow progressors (10.11% vs 1.14%; $p=0.011$). The A allele of the 1691 G/A *FV* gene was more common in the rapid fibrosis group than that in the slow fibrosis group (1.7% vs 5.56%, odd ratio 9.787; $p=0.139$). In our investigation, the polymorphic marker GA in the *FII 20210 G/A* gene, as well as the 4G allele (5G4G + 4G4G genotypes) and the 4G allele of *PAI-I -675 5G/4G* were more often seen in the rapid fibrosis group than that in the slow fibrosis group; the detection rate was only at the trend level ($p=0.118$, $p=0.112$, and $p=0.117$ respectively). There were no significant differences between the groups in the spread of variant genotypes and alleles of other study genes. Integral model construction by coding «profibrogenic» genotypes (*FV 1691 G/A*, *FII 20210 G/A*, *PAI-I -675 5G/4G*) showed that the fibrosis progression rate expressed as fibrosis units annually also increased with higher total scores ($p=0.039$), indicating the combined effect of these genes.

Conclusion. The carriage of mutant genotypes of *FV 1691 G/A*, *FII 20210 G/A*, and *PAI-I -675 5G/4G* genes is a prognostic factor for rapid CHC progression.

Keywords: chronic hepatitis C, liver fibrosis progression rate, gene polymorphism, thrombophilia, hemostasis, platelet receptors.

Среди факторов хозяина, определяющих естественное течение хронической инфекции, вызванной вирусом гепатита С (HCV), и ее исход, наряду с классическими (клинико-демографическими) в последнее время широко

изучаются генетические факторы, определяющие индивидуальную особенность течения заболевания и ответ на лечение. Выявлены различия по скорости развития фиброза при наличии однонуклеотидных замен в последовательности генов, приводящих к изменению активности или концентрации продукта генов цитокинов, гемохроматоза, локальной тканевой ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, дисфункции эндотелия [1, 2].

Предполагается, что гиперкоагуляция также играет важную роль в процессах фиброза в печени. Возникая при воспалении, она приводит к отложению фибрина и развитию внутрипеченочных микротромбов в микрососудистом русле печени с последующей активацией звездчатых клеток тромбином, что может послужить дополнительным фактором, ускоряющим процессы фиброза [3]. Повышенное отложение фибрина продемонстрировано на модели фиброза печени [4]. В ходе другого исследования показано, что у линии мышей, несущих мутацию гена фактора V, после хронического воздействия четыреххлористого углерода фиброз печени более выражен, чем у мышей дикого типа [5]. Развившаяся ишемия вследствие образования микротромбов вызывает активацию эндотелиального фактора роста, индуцирующего неопластический процесс [6].

Совокупность этих факторов приводит к нарушению синусоидального потока, что в свою очередь усугубляет ишемию, ускоряет апоптоз и приводит к коллапсу в области между центральной венной и портальной системой [7].

Цель исследования: оценить клиническую и прогностическую значимость носительства различных аллельных вариантов генов системы свертывания и тромбоцитарных рецепторов (*FII 20210 G/A*, *FV 1691G/A*, *FVII 10976 G/A*, *FXIII 103 G/T*, *FBG -455 G/APAI-1 675 5G/4G*, *MTHFR 677 C/T*, *ITGB3 1565 T/C*, *ITGA2 807 C/T*) в прогрессировании фиброза печени у больных хроническим гепатитом С (ХГС).

Материалы и методы

В исследование включили 188 больных ХГС и циррозом печени (ЦП) в его исходе, наблюдавшихся в клинике нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева в период с ноября 2009 г. до июня 2014 г.

Критериями исключения из исследования были употребление алкоголя (>20 мл/сут для женщин и >40 мл/сут для мужчин), наличие дополнительных этиологических факторов поражения печени (коинфекция HBV, ВИЧ, болезнь Вильсона—Коновалова, аутоиммунный гепатит, наследственный гемохроматоз), сахарный диабет 1-го и 2-го типа.

Сведения об авторах:

Самоходская Лариса Михайловна — к.м.н., доц. факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова

Розина Тэя Павловна — к.м.н., доц. факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»

Яровая Елена Борисовна — д.ф.-м.н., доц. механико-математического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Краснова Татьяна Николаевна — к.м.н., доц. факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»

Мухин Николай Алексеевич — д.м.н., проф. факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», акад. РАН

Диагноз ХГС и ЦП устанавливали на основании данных анамнеза, клинического обследования, лабораторных и инструментальных результатов, включая вирусологическое исследование (положительные тесты на антитела к HCV и его РНК). При оценке данных анамнеза жизни и заболевания обращали внимание на наличие перенесенного острого вирусного гепатита, желтушной формы последнего и наиболее вероятного фактора риска инфицирования.

Пункционная биопсия печени с последующим морфологическим исследованием выполнена 98 больным, эластометрия печени — 52, еще 4 пациентам выполнен ФиброАктиТест («BioPredictive», Франция). По данным обследования, у 9 больных определена стадия фиброза F0 по METAVIR, у 53 — F1, у 21 — F2, еще у 21 и 50 — F3 и F4 соответственно. У 33 пациентов по клинико-диагностическим признакам диагностирован ЦП (F4). Скорость прогрессирования фиброза оценивали по формуле, предложенной Т. Роупард и соавт. [8]: скорость прогрессирования фиброза печени (ед. фиброза/год) = F/T, где F — стадия фиброза по METAVIR, T — длительность инфицирования в годах.

Выделение геномной ДНК проводили из ЭДТА-стабилизированной периферической венозной крови согласно протоколу с помощью коммерческого набора QIAmp DNA Blood Mini Kit и автоматической станции QIAcube (QIAGEN).

Полиморфизм генов *MTHFR 677 C/T*, *FII 20210 G/A*, *FV 1691G/A*, *FVII 10976 G/A*, *FXIII 103 G/T*, *ITGA2 807 C/T*, *ITGB3 1565 T/C*, *FBG -455 G/A*, *PAI -675 5G/4G* определяли с помощью коммерческих наборов ДНК-технология, термоциклера DTPprime и программного обеспечения для приборов ДТ (ДНК-технология).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакетов статистических программ Statistica 10. Гипотезу о нормальности распределения исследуемых показателей проверяли с использованием критерия Шапиро—Уилка. Для каждой из непрерывных величин в зависимости от их типа распределения определяли либо среднее (M) и стандартное отклонение (σ), либо медиану и квартили распределения. При сравнении двух групп больных с «быстрым» и «медленным» прогрессированием фиброза по основным показателям (в зависимости от типа распределений анализируемых показателей) использовали непарный критерий *t* Стьюдента (для равных или неравных дисперсий) или его непараметрический аналог — критерий *U* Манна—Уитни. Для сравнения средних значений показателей в 3 и более независимых группах применяли дисперсионный анализ (ANOVA). В случаях, если распределение параметра существенно отклонялось от нормального или для малочисленных выборок использовали непараметрический аналог ANOVA — метод Крускала—Уоллиса. Для анализа таблиц сопряженности признаков 2×2 применяли двусторонний точный критерий Фишера, для остальных таблиц сопряженности — критерий Пирсона χ^2 . Для построения точечной оценки отношения шансов (ОШ) и 95% доверительных интервалов (ДИ) применяли модель бинарной логистической регрессии. Уровень значимости для проверяемых гипотез принят равным 0,05.

Результаты

Клинико-морфологическая характеристика обследованных больных. Из 188 больных с оцененной стадией фиброза данные о длительности инфицирования известны у 177. Для них рассчитана скорость прогрессирования фиброза: у 88 пациентов расчетный темп фиброза меньше 0,13 ед. фиброза/год и составил по медиане 0,074 ед. фиброза/год с интерквартильным размахом 0,047; 0,100, что позволило их отнести к группе с «медленным фиброзом».

Контактная информация:

Старостина Екатерина Евгеньевна — аспирант факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова; e-mail: starostinaee@gmail.com

Таблица 1. Распространенность «неблагоприятных» и «протективных» генотипов у больных ХГС с различной скоростью прогрессирования фиброза печени

FII	FV	Фиброз «медленный»	Фиброз «быстрый»	<i>p</i>
GG	GG	85 (96,59)	74 (83,15)	0,008
GA	GG	1 (1,14)	6 (6,74)	
GG	GA	1 (1,14)	91 (0,11)	
GG	AA	1 (1,14)	0	

Примечание. *p* для критерия χ^2 Пирсона. Данные представлены в виде абс. числа больных (%).

Группа «быстрого фиброза» (89 пациентов) имела скорость прогрессирования фиброза 0,13 и выше ед. фиброза/год, по медиане 0,200 (0,160; 0,286).

Больные с медленно прогрессирующим ХГС инфицированы в более раннем возрасте, имели более длительный срок инфицирования, чем пациенты с медленно прогрессирующим течением ХГС, причем выявленные различия статистически значимы ($p < 0,05$). Средняя концентрация аланинаминотрансферазы и аспартатминотрансферазы у больных с «быстрым фиброзом» выше, однако различия лишь на уровне тенденции. Частота выявления 3 генотипов вируса выше в группе с «быстрым» фиброзом ($p = 0,022$). В то же время нами не получено различий между группами при сравнении возраста, выявления гепатоцеллюлярной карциномы и обнаружения криоглобулинов. У 60,67% больных группы с «быстрым» фиброзом определена стадия ЦП.

Анализ связи между прогрессированием фиброза печени и носительством вариантных аллелей исследованных генов у больных ХГС. У больных с быстрым фиброзом достоверно чаще встречался гетерозиготный генотип GA гена *FV* по сравнению с пациентами с медленно прогрессирующим течением (ОШ 9,787 при 95% ДИ от 1,195 до 80,153; $p = 0,011$; рис. 1). Так, из 89 человек группы «быстрого фиброза» 9 пациентов (10,11%) имели мутацию GA гена *FV 1691G/A* (лейденская мутация), в группе с «медленным фиброзом» данный генетический полиморфный маркер обнаружен только у 1 (1,14%) из 88 человек. Дикий генотип GG в данном случае являлся протективным (ОШ 0,207 при 95% ДИ от 0,043 до 0,997). В нашем исследовании только 1 человек из группы с низким темпом прогрессирования фиброза имел гомозиготный мутантный генотип AA гена *FV 1691G/A*. Аллель A гена *FV 1691 G/A* на уровне тенденции чаще встречался в группе с прогрессирующим течением, чем в группе с медленно прогрессирующим течением ХГС (1,7% против 5,56%; $p = 0,139$).

Полиморфный маркер GA гена *FII 20210 G/A* также чаще встречался в нашем исследовании в группе с «быстрым фиброзом» по сравнению с группой с «медленным фиброзом» (6,74% против 1,14%), частоты выявления этого генотипа имели лишь тенденцию ($p = 0,118$). Мутантная гомозигота AA гена *FII 20210 G/A* не встречалась в исследуемой группе.

При сравнении распространенности генотипов и аллелей гена *PAI -675 5G/4G* в изучаемых группах установлено, что генотипы с аллелем 4G (5G4G+4G4G) и аллель 4G на уровне тенденции чаще встречались у больных с быстрым течением болезни, чем в группе сравнения ($p = 0,112$ и $p = 0,117$ соответственно).

Различий по распределению аллелей и генотипов генов *MTHFR 677 C/T*, *FVII 10976 G/A*, *FXIII 103 G/T*, *ITGA2*

807 C/T, *ITGB3 1565 T/C*, *FBG -455 G/A* между группами больных ХГС с разной скоростью процессов фиброза не выявлено.

Анализ комбинаций полиморфных маркеров исследованных генов. Известно, что на течение того или иного процесса в организме человека (включая прогрессирование фиброза в печени) влияют не только носительство мутантных аллелей тех или иных генов по отдельности, но и их сочетания, поэтому мы провели анализ комбинаций исследуемых генов.

На основании полученных данных о «негативной» роли генотипов GA гена *FII 20210 G/A*, GA гена *FV 1691G/A* и 5G4G+4G4G гена *PAI-I -675 5G/4G* на прогрессирование фиброза печени нами выделены благоприятные (или протективные) и неблагоприятные комбинации этих генотипов и проведен анализ влияния их носительства на течение болезни (табл. 1).

Для оценки прогностического характера развития фиброза в зависимости от различных генотипов пациентов по генам *FII 20210 G/A* и *FV 1691 G/A* сформирована система оценки в балах. С появлением у пациента хотя бы одной мутантной аллели по этим генам возрастает вероятность быстрого прогресса фиброза печени:

0 — пациент имеет две гомозиготные доминантные аллели по обоим генам *FII 20210 G/A* (GG) и *FV 1691 G/A* (GG);

1 — пациент гомозиготен по гену *FV 1691 G/A* (GG), но гетерозиготен по гену *FII 20210 G/A* (GA);

2 — пациент гомозиготен по гену *FII 20210 G/A* (GG), гетерозиготен по гену *FV 1691 G/A* (GA);

3 — пациент гомозиготен по гену *FII 20210 G/A* (GG), имеет 2 мутантные аллели по гену *FV 1691 G/A* (AA).

Пациенты с другими комбинациями среди нашей выборки не встречались.

В группе с «быстрым» фиброзом чаще встречались комбинации FII(GA)-FV(GG) и FII(GG)-FV(GA) по сравнению с группой с «медленным» фиброзом (16,85% против 3,41%; $p = 0,008$; см. табл. 1).

Если дополнительно учитывать влияние полиморфизма *PAI -675 5G/4G*, то неблагоприятный генетический профиль с наличием одного и более мутантных генотипов 3 генов (GA генотип *FII 20210 G/A*, GA и AA генотипы *FV 1691 G/A*, 5G4G и 4G4G генотипы *PAI -675 5G/4G*) в группе с прогрессирующим течением ХГС выявлялся чаще, чем в группе с медленно прогрессирующим течением заболевания (85,27% против 71,59%; $p = 0,047$).

В дальнейшем мы выполнили кодирование с присвоением генотипам с профиброгенными аллелями «+1» бала (GA генотип *FII 20210 G/A*, GA и AA генотипы *FV 1691 G/A*, 5G4G и 4G4G генотипы *PAI -675 5G/4G*). При суммировании всех профиброгенных генотипов (табл. 2) мак-

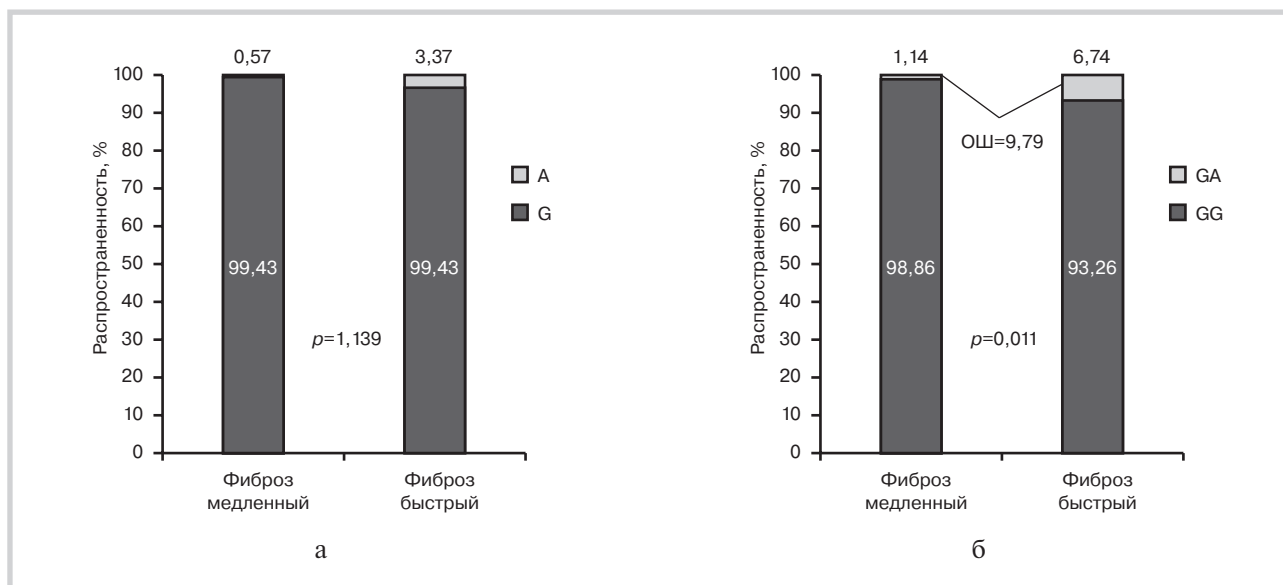


Рис. 1. Частота выявления аллелей (а) и генотипов (б) полиморфизма гена *FV 1691 G/A* в группах больных ХГС с разной скоростью прогрессирования фиброза в печени.

Таблица 2. Бальная оценка генетического профиля у больных с разной скоростью прогрессирования фиброза

Параметр	Оценка, баллы		
	0	1	2
Число больных, абс. (%)	39 (22,03)	124 (70,06)	14 (7,91)
Скорость фиброза, ед. фиброза/год*	0,11 (0,06; 0,17)	0,13 (0,07; 0,22)	0,17 (0,13; 0,21)
<i>p</i>	0,039		

Примечание. *p* для критерия Крускала—Уоллиса для 1, 2 и 3-й групп. * — данные представлены в виде медианы (интерквартильный размах).

симальное их количество (2) выявлялось у 7,91% больных. У 70% пациентов имелся 1 неблагоприятный генотип, а у остальных мутации отсутствовали. Затем по количеству баллов сформировали 3 группы больных (см. табл. 2). В каждой группе определена медиана скорости фиброза в печени. Из табл. 2 видно, что сформированные группы статистически значимо различаются по скорости фиброза ($p=0,039$). Методом множественных ранговых сравнений выявлен более высокий темп процессов фиброза в 3-й группе по сравнению с 1-й группой ($p=0,042$). Статистически значимых различий между 1-й и 2-й группами не выявлено (рис. 2).

Обсуждение

В нашем исследовании полиморфизм гена *FV 1691G/A* ассоциирован с более высоким темпом прогрессирования фиброза печени у больных ХГС. Воспаление в ткани печени при ХГС связано с активацией системы свертывания, которая более выражена у пациентов с лейденской мутацией и приводит к повышенной активности тромбина и отложению фибрина. Тромбин является митогеном для звездчатых клеток печени, и активируя каскад свертывания, может стимулировать фиброз.

В своем исследовании M. Wright и соавт. [9] показали, что темпы прогрессирования фиброза значительно выше

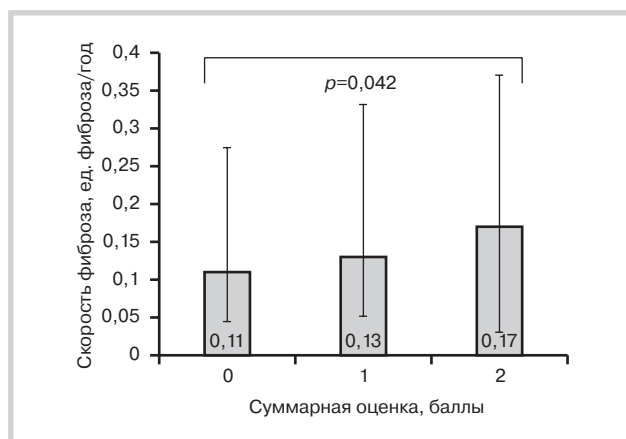


Рис. 2. Скорость фиброза у больных с баллом 0, 1 и 2.

у пациентов с лейденской мутацией, что согласуется с нашими данными. При дальнейшем анализе авторами показано, что пациенты, у которых ЦП развивается в течение 15 лет, в 12,3 раза чаще имели лейденскую мутацию, чем те, у которых заболевание прогрессировало до ЦП в течение более 35 лет ($p=0,0005$). При использовании ковариационного анализа (ANCOVA) эффект полиморфизма гена *FV 1691G/A* оставался статистически значимым

($p=0,007$) даже с учетом возраста инфицирования ($p<0,001$), ИГА ($p<0,001$) и пола ($p<0,001$). Сходный результат получен в исследовании A. Roujol-Robert и соавт. [3], показавших, что у пациентов с лейденской мутацией практически в 4 раза выше риск развития ЦП. По структуре эти данные сопоставимы с нашим исследованием, и этим могут объясняться одинаковые результаты. Однако в исследовании С. Goulding и соавт. [10], включавшем 111 ирландок с анти-D иммуноглобулином HCV генотипа 1b, связь между полиморфизмом гена *FV 1691G/A* и скоростью прогрессирования фиброза печени не выявлена. Расхождения в результатах первых двух и нашего исследований с данными С. Goulding и соавт. [3, 9] могут быть обусловлены начальными стадиями фиброза у женщин, в то время как эффект носительства полиморфизма гена фактора V 1691G/A в предыдущих исследованиях более выражен у мужчин.

Еще одним важным полиморфизмом является мутация в гене протромбина (*FII 20210 G/A*), способствующая избыточному синтезу без изменения структуры протромбина. В описанных исследованиях не выявлена связь между скоростью прогрессирования фиброза печени и генотипами гена *FII 20210 G/A*, но, как и в нашей работе, наблюдалась тенденция к более частому выявлению гетерозиготных генотипов данного гена у пациентов с быстро прогрессирующим течением заболевания [9, 10]. Однако в исследовании N. Maharshak и соавт. [11] по данным однофакторного анализа выявлена взаимосвязь полиморфизма гена *FII 20210 G/A* и скорости прогрессирования фиброза ($p=0,002$), что затем подтверждено в модели множественной логистической регрессии (ОШ 4,76 при 95% ДИ от 1,13 до 19,99; $p=0,033$).

В Роттердамском исследовании (Rotterdam Study, 2015) 1055 европейцам выполняли фиброэластометрию печени и определяли полиморфизм генов протромбина 20210 G/A и *FV 1691G/A* [12]. Жесткость печени (liver stiffness — LS) более 8,0 кПа, свидетельствующая о клинически значимом фиброзе, обнаружена у 101 (9,6%) пациента. По результатам многофакторного регрессионного анализа носительство гетерозиготной мутации гена *FV 1691G/A* или протромбина 20210 G/A независимо ассоциировано с повышенным риском выявления LS $\geq 8,0$ кПа (ОШ 2,09 при 95% от 1,07 до 4,07; $p=0,03$). В нашей работе у больных ХГС в группе с прогрессирующим течением заболевания один из двух полиморфных маркеров (*FII 20210 G/A* и *FV 1691G/A*) выявлялся в 5 раз чаще, чем в группе с медленно прогрессирующим темпом болезни ($p=0,005$).

Мутация гена *FXIII 103 G/T* ассоциирована с быстрой активацией тромбином фактора XIII. Наличие полиморфизма 103 G/T влияет на структуру и формирование тромба, в результате чего он становится прочнее, менее пористым и состоит из более коротких и тонких волокон [13]. Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена II типа (PAI-I) 675 4G/5G приводит к повышению активности PAI-I и склонности к венозным тромбозам [14]. При данном полиморфизме уменьшается фибринолиз в связи с ингибированием тканевого активатора плазминогена, а в дальнейшем блокируется превращение плазминогена в плазмин.

К. Dik и соавт. [15] показали, что при мутации гена фактора XIII 103 G/T скорость развития фиброза печени увеличивается ($p=0,01$). Кроме того, показано, что при со-

четании гетерозиготного состояния гена фактора XIII 103 G/T и аллеля 4G PAI-I 675 5G/4G данный показатель увеличивался еще больше ($p=0,02$). При распределении больных на группы с «быстрым» и «медленным» темпом прогрессирования фиброза пациенты с аллелями T гена *FXIII 103 G/T* и 4G гена *PAI-I 675 5G/4G* имели в 5 раз более высокий риск прогрессирующего течения заболевания, чем пациенты с дикими генотипами обоих генов (ОШ 5,00 при 95% ДИ от 1,25 до 20,08). В нашем исследовании статистически значимой связи между полиморфизмом генов *FXIII 103 G/T* и *PAI-I 675 5G/4G* и темпом прогрессирования фиброза в печени у пациентов не выявлено, однако отмечалась тенденция к более частому распространению аллелей T и 4G этих генов и генотипов 5G4G и 4G4G гена *PAI-I* в группе с «быстрым» фиброзом по сравнению с группой с «медленным» фиброзом.

Полиморфизм гена *FVII 10976 G/A* приводит к снижению активности фактора VII и способствует уменьшению тромбообразования. Известно, что фибриноген является важным компонентом каскада свертывания и определяет вязкость крови и агрегацию тромбоцитов, он также влияет на функцию эндотелия и способствует пролиферации и миграции гладких мышечных клеток. В доступной литературе мы не обнаружили исследований по оценке влияния полиморфизма гена *FVII 10976 G/A* и *FGB 455G/A* на течение хронических заболеваний печени. В нашей работе не выявлено связи между аллелями и генотипами данных генов и скоростью фиброза в печени у больных ХГС.

Еще одним исследованным нами генетическим маркером является полиморфизм гена *MTHFR 677 C/T*, в результате которого происходят повышение уровня гомоцистеина и повышение риска венозных и артериальных тромбозов. L. Adinolfi и соавт. [16] предполагают, что повышенный уровень гомоцистеина в результате формирования полиморфизма гена *MTHFR 677 C/T* приводит к HCV-ассоциированному стеатозу, и по данным этих авторов гипергомоцистеинемия связана с TT генотипом гена *MTHFR* ($r=0,367$; $p=0,001$). При многофакторном анализе стеатоз независимо ассоциирован с гипергомоцистеинемией (ОШ 7,1), ИГА (ОШ 3,8), фиброзом в печени (ОШ 4,0), и 3-м генотипом вируса (ОШ 4,6), а фиброз в печени в свою очередь — с возрастом ($p=0,03$), индексом гистологической активности ($p=0,0001$) и стеатозом ($p=0,007$). Таким образом, генетические особенности влияют на скорость фиброза в печени опосредованно через развитие жировой инфильтрации. В другом исследовании не выявлено влияния полиморфизма гена *MTHFR 677C/T* реципиента на развитие стеатоза в трансплантате печени, но показано влияние данного полиморфизма на скорость фиброза [17]. В нашем исследовании распределение аллелей и генотипов полиморфизма 677 C/T гена *MTHFR* в группах больных ХГС с быстрым и медленным прогрессированием фиброза печени не различались между собой.

Влияние полиморфизма генов тромбоцитарных рецепторов (интегринов, *ITGB3 1565 T/C*, *ITGA2 807 C/T*) на течение заболеваний печени исследовано недостаточно. T. Asselah и соавт. [18] при изучении экспрессии 240 генов в ткани печени больных с гепатитом С выявили повышение количества мРНК *ITGA2* в биопсийном материале у пациентов с развернутой стадией фиброза ($p=0,000$). Однако полиморфизмы генов тромбоцитарных рецепторов в данной работе не исследованы. M. Nejari и соавт. [19] предполага-

ют, что активация системы интегринов играет в профибротических процессах более важную роль, чем воспаление. Мы не выявили влияния аллельных вариантов генов тромбоцитарных рецепторов *ITGA2 807 C/T* и *ITGB3 1565 T/C* на скорость прогрессирования фиброза в печени.

Заключение

Генетический полиморфизм генов системы гемостаза является фактором, определяющим индивидуальные особенности прогрессирования фиброза у больных ХГС. В данной работе установлены генотипы, ассоциированные с прогрессирующим вариантом течения ХГС — «про-

фибротические» (GA генотип FII 20210 G/A, GA и AA генотипы FV 1691 G/A, 5G4G и 4G4G генотипы PAI -675 5G/4G). Кроме того, выявлено, что при увеличении количества мутантных профибротических генотипов данных 3 генов возрастает риск быстрого прогрессирования фиброза в печени при ХГС. Определение полиморфизма генов тромбофилии поможет прогнозировать течение заболевания у больных ХГС, определять сроки медицинского вмешательства и начала терапии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-50-00029)

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Таратина О.В., Краснова Т.Н., Самоходская Л.М., Лопаткина Т.Н., Ткачук В.А., Мухин Н.А. Полиморфизм генов эндотелиальной дисфункции и скорость прогрессирования фиброза печени при хроническом гепатите С. *Терапевтический архив*. 2014;86(4):45-51.
2. Самоходская Л.М., Игнатова Т.М., Абдуллаев С.М., Краснова Т.Н., Некрасова Т.П., Мухин Н.А., Ткачук В.А. Прогностическое значение комбинации аллельных вариантов генов цитокинов и гемохроматоза у больных хроническим гепатитом С. *РЖГГК*. 2007;17(2):50-56.
3. Poujol-Robert A, Boelle PY, Poupon R, Robert A. Factor V Leiden as a risk factor for cirrhosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2004;39(4):1174-1175.
doi:10.1002/hep.20166
4. Levi M, Dik K. Fibrophilia: a new disease entity? *J Thromb Haemost*. 2008;6(8):1334-1335.
doi:10.1111/j.1538-7836.2008.03058.x
5. Anstee QM, Goldin RD, Wright M, Martinelli A, Cox R, Thursz MR. Coagulation status modulates murine hepatic fibrogenesis: implications for the development of novel therapies. *J Thromb Haemost*. 2008;6(8):1336-1343.
doi:10.1111/j.1538-7836.2008.03015.x
6. Mannucci PM. Laboratory detection of inherited thrombophilia: a historical perspective. *Semin Thromb Hemost*. 2005;31(1):5-10.
doi:10.1055/s-2005-863799
7. Gabriel A, Kukla M, Wilk M., Liszka L, Petelenz M., Musialik J. Angiogenesis in chronic hepatitis C is associated with inflammatory activity grade and fibrosis stage. *Pathol Res Pract*. 2009;205(11):758-764.
doi:10.1016/j.prp.2009.06.007
8. Poynard T, Ratziu V, Benmanov Y, Di Martino V, Bedossa P, Opolon P. Fibrosis in patients with chronic hepatitis C: detection and significance. *Semin Liver Dis*. 2000;20(1):47-55.
9. Wright M, Goldin R, Hellier S, Knapp S, Frodsham A, Hennig B, Hill A, Apple R, Cheng S, Thomas H, Thursz M. Factor V Leiden polymorphism and the rate of fibrosis development in chronic hepatitis C virus infection. *Gut*. 2003;52(8):1206-1210.
10. Goulding C, O'Brien C, Egan H, Hegarty JE, McDonald G, O'Farrelly C, White B, Kelleher D, Norris S. The impact of inherited prothrombotic risk factors on individuals chronically infected with hepatitis C virus from a single source. *J Viral Hepat*. 2007;14(4):255-259.
doi:10.1111/j.1365-2893.2006.00790.x
11. Maharshak N, Halfon P, Deutsch V, Peretz H, Berliner S, Fishman S, Zelber-Sagi S, Rozovski U, Leshno M, Oren R. Increased fibrosis progression rates in hepatitis C patients carrying the prothrombin G20210A mutation. *World J Gastroenterol*. 2011;17(45):5007-5013.
doi:10.3748/wjg.v17.i45.5007
12. Plompen EP, Murad SD, Hansen BE, Loth DW, Schouten JN, Taimr P, Hofman A, Uitterlinden AG, Stricker BH, Janssen HL, Leebeek FW. Prothrombotic Genetic Risk Factors are associated with an Increased Risk of Liver Fibrosis in the General Population: The Rotterdam Study. *J Hepatol*. 2015.
doi:10.1016/j.jhep.2015.07.026
13. Lim BC, Ariens RA, Carter AM, Weisel JW, Grant PJ. Genetic regulation of fibrin structure and function: complex gene-environment interactions may modulate vascular risk. *Lancet*. 2003;361(9367):1424-1431.
doi:10.1016/s0140-6736(03)13135-2
14. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Bonovas S, Kopterides P, Vaiopoulos G. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb Res*. 2008;122(6):736-742.
doi:10.1016/j.thromres.2007.09.005
15. Dik K, De Bruijne J, Takkenberg RB, Roelofs JJ, Tempelmann MJ, Dijkgraaf MG, Gelderblom HC, Reesink HW, Meijers JC, Jansen PL, Levi M. Factor XIII Val34Leu mutation accelerates the development of fibrosis in patients with chronic hepatitis B and C. *Hepatol Res*. 2012;42(7):668-676.
doi:10.1111/j.1872-034X.2011.00963.x
16. Adinolfi LE, Ingrosso D, Cesaro G, Cimmino A, D'anto M, Capasso R, Zappia V, Ruggiero G. Hyperhomocysteinemia and the MTHFR C677T polymorphism promote steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology*. 2005;41(5):995-1003.
doi:10.1002/hep.20664
17. Toniutto P, Fabris C, Falletti E, Cussigh A, Fontanini E, Bitetto D, Fornasiere E, Minisini R, De Feo T, Marangoni F, Pirisi M. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and liver fibrosis progression in patients with recurrent hepatitis C. *Liver Int*. 2008;28(2):257-263.
doi:10.1111/j.1478-3231.2007.01591.x
18. Asselah T, Bieche I, Laurendeau I, Paradis V, Vidaud D, Degott C, Martinot M, Bedossa P, Valla D, Vidaud M, Marcellin P. Liver gene expression signature of mild fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005;129(6):2064-2075.
doi:10.1053/j.gastro.2005.09.010
19. Nejari M, Couvelard A, Mosnier JF, Moreau A, Feldmann G, Degott C, Marcellin P, Scoazec JY. Integrin up-regulation in chronic liver disease: relationship with inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C. *J Pathol*. 2001;195(4):473-481.
doi:10.1002/path.964

Поступила 23.12.2015