

На правах рукописи

СТАРОСТИНА

ЕКАТЕРИНА ЕВГЕНЬЕВНА

Клиническое значение полиморфизма

генов гемостаза и тромбоцитарных рецепторов у больных хроническим гепатитом С

14.01.04 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2016

Работа выполнена на кафедре внутренних болезней Факультета фундаментальной медицины
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Николай Алексеевич Мухин

кандидат медицинских наук, доцент

Лариса Михайловна Самоходская

Официальные оппоненты:

Заведующий кафедрой госпитальной терапии
№3 ГБОУ ВПО «Российский национальный
исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова» Министерства
здравоохранения РФ, профессор, д.м.н.

Игорь Геннадьевич Никитин

Заведующий научно-консультативным
клинико-диагностическим центром ФБУН
ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора,
д.м.н.

Владимир Петрович Чуланов

Ведущая организация: ГБОУ ВПО Ставропольский государственный медицинский университет
Минздрава РФ

Защита состоится «16» июня 2016 года в 13.00 часов на заседании диссертационного совета
Д212.203.18 при ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» (117292, г. Москва,
ул. Вавилова, д. 61; Городская клиническая больница № 64).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского университета дружбы
народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6).

Автореферат разослан «__» апреля 2016 года.

Ученый секретарь диссертационного совета, доктор
медицинских наук, профессор

Киякбаев Гайрат Калыевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Индивидуальный прогноз течения гепатита С значительно варьирует у каждого пациента и зависит как от факторов вируса, так и от факторов хозяина (Bochud P.Y. и соавт., 2009, Alberti A. и соавт., 2005, Probst A. и соавт., 2011). Несмотря на достигнутые успехи в лечении хронического гепатита С (ХГС), сохраняется необходимость продолжать поиски предикторов неблагоприятного прогноза с целью совершенствования персонализированной терапии. Ранее было показано, что наличие мутаций генов эндотелиальной дисфункции, ренин-ангиотензиновой системы и воспаления утяжеляет течение ХГС (Rueger S. и соавт., 2014, Таратина О.В. и соавт., 2014, Taratina O.V. и соавт., 2014, Самоходская Л.М. и соавт., 2007). Среди универсальных механизмов развития воспаления и фиброза весомое место занимает система гемостаза. Основным патогенетическим звеном при сочетании тромбофилий (наличие мутаций генов гемостаза и тромбоцитарных рецепторов) и гепатитов является образование внутриспеченочных микротромбов с развитием ишемии (Mannucci P.M. и соавт., 2005, Wanless I.R. и соавт., 1995). Реактивное воспаление, развивающееся вследствие ишемии и микроинфарктов, изменяет кровоток в мелких ветвях печеночной и портальной вен, вызывает активацию эндотелиального ростового фактора, индуцирующего неоангиогенез (Gabriel A. и соавт., 2009). Совокупность этих факторов приводит к нарушению синусоидального потока, что в последующем усугубляет ишемию, ускоряет апоптоз и приводит к коллапсу в регионе между центральной веной и портальным трактом и замещению зоны повреждения фиброзной тканью. Так, в отдельных исследованиях предполагается вклад аллельных вариантов (полиморфизма) генов свертывания крови и тромбоцитарных рецепторов (гены, ответственные за наследственную форму тромбофилии) в данный процесс, однако имеющиеся данные литературы весьма противоречивы (Wright M. и соавт., 2003, Dik K. и соавт., 2012, Goulding C. и соавт., 2007, Armendariz-Borunda J. и соавт., 2008).

Среди внепеченочных проявлений хронической инфекции HCV важная роль отводится смешанной криоглобулинемии (КГ), которая может привести к развитию криоглобулинемического васкулита (КГВ). Известно, что появление криоглобулинемических комплексов 2 и 3 типа генетически детерминировано, однако у части пациентов их наличие не сопровождается развитием васкулита или протекает с минимальными клиническими проявлениями (Retamozo S. и соавт., 2013). Поиск предикторов, в том числе генетических, ассоциированных с развитием именно криоглобулинемического васкулита (КГВ), актуален в связи с тяжелым и подчас фатальным течением этого варианта болезни. Ранее показан значимый вклад полиморфизма генов, ответственных за наследственную форму тромбофилии,

в развитие и клинические проявления при других васкулитах и иммуновоспалительных заболеваниях. (Борисов Е.Н. и соавт., 2014, Refai T. M. и соавт., 2002, Von Feldt J.M. и соавт., 2006). Однако, роль аллельных вариантов генов гемостаза и тромбоцитарных рецепторов в формировании КГВ, ассоциированного с ХГС, изучена недостаточно.

Цель исследования

Выявить влияние полиморфизма генов гемостаза и тромбоцитарных рецепторов на темпы прогрессирования фиброза печени и развитие криоглобулинемического васкулита у больных хроническим гепатитом С.

Задачи

1. Исследовать распространенность генотипов и аллелей генов свертывания крови (MTHFR 677 C/T, FII 20210 G/A, FV 1691 G/A, FVII 10976 G/A, FXIII 103 G/T, FBG -455 G/A, PAI-I -675 5G/4G) и тромбоцитарных рецепторов (ITGA2 807 C/T, ITGB3 1565 T/C) у больных ХГС с разной скоростью прогрессирования фиброза;
2. Оценить влияние комбинаций аллельных вариантов исследуемых генов на темп прогрессирования фиброза печени;
3. Выявить полиморфные аллели и генотипы изучаемых генов, ассоциированные с криоглобулинемическим васкулитом;
4. Оценить сочетанное влияние полиморфизма исследуемых генов и клинических показателей на развитие криоглобулинемического васкулита.

Научная новизна

1. Впервые проведена оценка особенностей клинико-морфологической картины заболевания в зависимости от носительства полиморфных маркеров 9 генов свертывающей системы крови и определены генотипы, ассоциированные с быстрым и медленным темпами прогрессирования фиброза печени;

2. Показано, что с увеличением у одного пациента количества мутантных генотипов генов FII 20210 G/A, FV 1691 G/A и PAI-I -675 5G/4G возрастает скорость прогрессирования фиброза печени;

3. Выявлена ассоциация полиморфизма генов PAI-I -675 5G/4G и ITGB1 1565 T/C с развитием криоглобулинемического васкулита;

4. Установлена взаимосвязь носительства аллельных вариантов гена ITGB1 1565 T/C с клиническими особенностями заболевания.

Практическая значимость

Определены аллели и генотипы генов системы свертывания, ассоциированные с быстрым и медленным прогрессированием фиброза.

Разработана математическая модель для прогнозирования скорости развития фиброза печени у больных ХГС с учетом сочетанного влияния аллельных вариантов данных генов.

Показана ассоциация между полиморфными маркерами генов PAI-I -675 5G/4G и ITGB3 1565 T/C и развитием криоглобулинемического васкулита. Установлено, что наличие полиморфизма гена ITGB1 1565 T/C может определять клинические особенности течения КГВ.

С использованием модели логистической регрессии разработана формула, позволяющая прогнозировать вероятность развития криоглобулинемического васкулита, учитывая возраст и пол пациента, длительность заболевания, а также количество мутантных аллелей генов PAI-I -675 5G/4G и ITGB3 1565 T/C.

Полученные результаты могут служить основой для дальнейшего изучения вклада генетических факторов в течение хронического гепатита С и персонификации подходов к ведению таких пациентов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Генотипы GA гена FV 1691 G/A и FII 20210 G/A, а также 4G аллель и генотипы 5G4G+4G4G гена PAI-I -675 5G/4G ассоциированы с быстрой скоростью прогрессирования фиброза, дикий генотип GG гена FV 691 G/A ассоциирован с медленным темпом прогрессирования фиброза печени у больных ХГС;

2. В интегральной модели показано, что с увеличением количества мутантных генотипов генов FII 20210 G/A, FV 1691 G/A и PAI-I -675 5G/4G в генетическом профиле пациента скорость процессов фиброобразования возрастает;

3. Выявлено влияние аллелей и генотипов генов PAI-I -675 5G/4G и ITGB3 1565 T/C на развитие криоглобулинемического васкулита и бессимптомной криоглобулинемии у больных ХГС;

4. Независимыми факторами развития криоглобулинемического васкулита являются количество мутантных аллелей генов PAI-I -675 5G/4G и ITGB3 1565 T/C, а также длительность инфицирования;

5. Клинические особенности криоглобулинемического васкулита ассоциированы с аллельными вариантами гена ITGB3 1565 T/C.

Апробация работы. Основные положения работы доложены и обсуждены на совместном заседании сотрудников кафедры внутренних болезней Факультета фундаментальной медицины

ГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова и кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии медико-профилактического факультета, кафедры нефрологии и гемодиализа института профессионального образования ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (22 декабря 2015 г.).

Личный вклад автора

Вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования от постановки задач, их теоретической и практической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и их внедрения в практику.

Внедрение в практику

Результаты используются в работе терапевтического и гепатологического отделения УКБ№3 Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, в учебном процессе на кафедре внутренних болезней Факультета Фундаментальной Медицины МГУ имени М.В. Ломоносова.

Автор выражает искреннюю благодарность научным руководителям акад. РАН проф. Н.А. Мухину и к.м.н., доц. Л.М. Самоходской; доц. Т.Н. Красновой, к.м.н. Т.П. Розиной, коллективу врачей клиники нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева, а также д.ф.-м.н. доц. механико-математический факультета МГУ имени М.В. Ломоносова Е.Б. Яровой за помощь в проведении статистической обработки данных.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 2 в журналах, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, 3 приложений и списка литературы. Библиография включает 230 источников литературы (12 – отечественные и 218 – зарубежные). Работа иллюстрирована 32 таблицами и 18 рисунками.

База проведения

Работа выполнена на базах Клиники нефрологии, внутренних и профессиональных болезней ПМГМУ имени М.И. Сеченова и Научно-исследовательской лаборатории генных и клеточных технологий Факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова (зав. лабораторией академик РАН, проф. В.А. Ткачук).

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материал и методы исследования

Обследовано 244 больных ХГС и ЦП в его исходе (84 мужчин и 160 женщин), наблюдавшихся в Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней ПМГМУ имени М.И. Сеченова в период с января 2004 года по январь 2013 года. Критериями включения были наличие хронического гепатита С или ЦП в его исходе, а также подписанное информированное согласие на участие в исследовании. Критериями исключения больных из исследования были: 1) употребление алкоголя (>20 мл/сут для женщин и >40 мл/сут для мужчин), 2) наличие дополнительных этиологических факторов поражения печени (коинфекция вирусом гепатита В, ВИЧ, болезнь Вильсона-Коновалова, аутоиммунный гепатит, наследственный гемохроматоз), 3) сахарный диабет 1 и 2 типа.

Диагноз ХГС устанавливался на основании наличия антител к HCV и положительных тестов на HCV RNA более 6 мес, диагноз криоглобулинемического васкулита - согласно общепринятым критериям.

Обследование больных включало сбор жалоб, данных анамнеза, объективного обследования и стандартных лабораторных и инструментальных методов анализа. Всем больным проводился забор венозной крови для молекулярно-генетического исследования методом ПЦР в «реальном» времени с анализом кривых плавления.

Пункционная биопсия печени с последующим морфологическим исследованием была выполнена 98 больным, эластометрия печени – 52, еще 4 пациентам выполнен ФиброАктиТест (Biopredictive, Франция).

Оценка скорости прогрессирования фиброза печени

Оценка скорости прогрессирования фиброза проводилась по формуле, предложенной Roynard и соавт. (Roynard T. и соавт., 1997):

$$\text{индекс фиброза или скорость прогрессирования фиброза [ед. фиброза/год]} = F/T \quad (1),$$

где F- стадия фиброза по METAVIR, T - длительность инфицирования (года) на момент определения стадии фиброза.

Пациентов, у которых индекс фиброза был менее 0,13 ед. фиброза/год, относили к группе с медленным прогрессированием фиброза («медленный» фиброз), а с расчетной скоростью фиброза 0,13 и более ед. фиброза/год – к группе с быстрым прогрессированием фиброза («быстрый» фиброз).

Исследование проводилось в два этапа.

На первом этапе изучалась взаимосвязь между носительством полиморфных маркеров генов гемостаза и тромбоцитарных рецепторов и скоростью прогрессирования фиброза. Из 244

обследованных больных у 177 человек была установлена длительность заболевания и рассчитана скорость прогрессирования фиброза по формуле Roynard и соавт. (Roynard T. и соавт., 1997). Группу «быстрого» фиброза составили 89 человек (50,3%, индекс фиброза по медиане 0,78 ед. фиброза/год с интерквартильным размахом 0,047-0,100), а группу «медленного» фиброза - 88 больных (49,7%, индекс фиброза по медиане 0,200 ед. фиброза/год с интерквартильным размахом 0,160-0,286).

На втором этапе исследовались ассоциации между носительством аллельных вариантов генов, ответственных за наследственную форму тромбофилии, и развитием КГВ. Для решения этой задачи были сформированы 3 группы: без криоглобулинемии (без КГ, N=123), с бессимптомной криоглобулинемией (БСКГ, N=40) и с криоглобулинемическим васкулитом (КГВ, N=37).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов «Microsoft Office Excel 2007» и «Statistica 10.0» с использованием двустороннего точного критерия Фишера и критерия χ^2 Пирсона (для качественных признаков), критерия Манни-Уитни и Краскела-Уолиса (для количественных признаков с распределением, отличающимся от нормального). Также использовался критерий отношения шансов (ОШ). Достоверными считались различия при $p < 0,05$ и 95% доверительном интервале (ДИ) для ОШ, не включающем «1». Для построения прогноза развития «быстрого фиброза» использовался Байесовский вероятностный вывод. Прогностическое значение сочетанного влияния полиморфных генотипов и клинико-демографических факторов на развитие КГВ оценивалось с помощью многофакторного анализа методом логистической регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-лабораторная характеристика больных.

При сравнении групп с медленным и быстрым темпом фиброза («медленный» и «быстрый» фиброз) печени оказалось, что пациенты из группы с «медленным» фиброзом были инфицированы в более раннем возрасте и имели более длительный срок инфицирования, чем пациенты с «быстрым» фиброзом. Выявленные различия были статистически значимы ($p < 0,05$). В группе с «быстрым» фиброзом по сравнению с группой с «медленным» фиброзом чаще выявлялся 3 генотип вируса ($p = 0,022$, ОШ=2,697, 95%ДИ 1,071-6,792). У больных с «быстрым» фиброзом также были отмечены более высокие значения ИМТ ($p = 0,019$) и ферментов цитолиза АЛТ и АСТ ($p = 0,140$ и $0,054$ соответственно). В то же время нами не было получено отличий между группами при сравнении возраста, частоты выявления гепатоцеллюлярной карциномы и криоглобулинемии. У большей части пациентов группы с «быстрым» фиброзом (60,67%) диагностирован цирроз печени.

Из 244 обследованных пациентов у 77 (31,56 %) выявлялись криоглобулины. У 40 из них наличие криоглобулинов не сопровождалось какими-либо клиническими проявлениями (бессимптомная криоглобулинемия, БСКГ), а у 37 (15,16%) был диагностирован криоглобулинемический васкулит (группа КГВ). Средний возраст больных в группе с КГВ составил 57 лет по медиане (интерквартильный размах 50-63 лет) и отличался от возраста больных с БСКГ (44 года с интерквартильным размахом 34-55, $p=0,000$) и без КГ (43 года с интерквартильным размахом 32-54, $p=0,000$). В группе КГВ преобладали женщины по сравнению с группой с БСКГ (86,49% против 60,00%, $p=0,011$, ОШ=4,267, 95%ДИ 1,346-13,526) и без КГ (86,49% против 63,41%, $p=0,008$, ОШ=3,692, 95%ДИ 1,332-10,231). В группе с КГВ по сравнению с группой без КГ достоверно чаще выявлялся цирроз печени ($p=0,000$). Для пациентов КГВ характерно повышение активности РФ по сравнению с группой с БСКГ и без КГ ($p=0,000$). У 23 пациентов с криоглобулинемическим васкулитом отмечалось поражение кожи в виде характерной пурпуры или язвенных дефектов, у 19 – суставные проявления в рамках триады Мельтцера (арталгии), у 12 - поражение почек соответственно, у 8 больных выявлено поражение периферической нервной системы в виде сенсорной полинейропатии и мышц в виде мышечной слабости (триада Мельтцера), в 2 случаях диагностирован легочный васкулит.

Анализ распределения генов, ответственных за наследственную форму тромбофилии, у больных с разным темпом прогрессирования фиброза печени

Для оценки влияния мутаций на темпы прогрессирования фиброза, как конечного этапа заболевания, у пациентов с различным течением ХГС исследовалась взаимосвязь между носительством определенных аллельных вариантов изучаемых генов и скоростью прогрессирования фиброза.

Полиморфизм гена FII 20210 G/A

Особенность мутации в гене протромбина (FII) 20210 G/A заключается в отсутствии изменений структуры протромбина, однако при этом существенно увеличивается его концентрация (Poort S.R. и соавт., 1996). Клиника тромбофилии проявляется уже при гетерозиготном носительстве, особенно при сочетании с Лейденовской мутацией. При наличии у больного ХГС мутации гена протромбина высокая скорость фиброза может быть объяснена как образованием микротромбов в ткани печени, так и непосредственными эффектами тромбина, являющегося митогеном и активатором звездчатых клеток печени, и уровень которого значительно увеличен вследствие полиморфизма гена.

В группе пациентов с «быстрым» фиброзом минорная аллель А гена FII 20210 G/A встречалась в 3,37% случаев, а в группе с «медленным» фиброзом – в 0,57%, однако данные

различия имели лишь тенденцию к статистической значимости ($p=0,112$). Полиморфный маркер GA гена FII 20210 G/A также на уровне тенденции чаще обнаруживался в группе с «быстрым» фиброзом по сравнению с группой с «медленным» фиброзом (6,74% против 1,14%, $p=0,118$, табл. 1). Мутантная гомозигота AA гена FII 20210 G/A среди обследованных пациентов не встречалась.

Таблица 1.

Распределение аллелей и генотипов полиморфизма гена FII 20210 G/A в группах больных ХГС с разной скоростью прогрессирования фиброза печени

Ген	Аллель/генотип	Фиброз медленный,%(n)	Фиброз быстрый,%(n)	p	ОШ	95%ДИ
FII 20210 G/A	G	99,43% (175)	96,63% (172)	0,121*	0,164	0,020-1,375
	A	0,57% (1)	3,37% (6)		6,105	0,727-51,240
	GG	98,86% (87)	93,26% (83)	0,118#	0,159	0,018-1,369
	GA	1,14% (1)	6,74% (6)		6,289	0,730-54,164
	AA	0% (0)	0% (0)		-	-
	GG+GA	100% (88)	100% (89)	-	-	-
	GA+AA	1,14% (1)	6,74% (6)	0,118*	6,289	0,730-54,164

Примечание: p-значение вычислялось для * – двустороннего критерия Фишера, # – критерия χ^2 Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал

Полиморфизм гена FV 1691 G/A

Функциональная значимость генетического маркера FV 1691 G/A хорошо описана ранее (Voetsch В. и соавт, 2004). Полиморфизм 1691 G/A гена FV (Лейденская мутация) приводит к аминокислотной замене аргинина на глутамин в позиции 506, что делает активную форму фактора Лейдена устойчивой к расщепляющему действию активированного протеина С и приводит к гиперкоагуляции и высокому риску тромбозов и тромбоэмболий (Хи G и соавт, 2003). Воспаление в ткани печени при хроническом гепатите С ассоциировано с активацией системы свертывания, которая более выражена у пациентов с мутацией Лейдена и приводит к повышенной активности тромбина и отложению фибрина. Тромбин является митогеном для звездчатых клеток печени, в связи с чем запуск каскада свертывания может стимулировать последние к активации и фиброзу.

У пациентов с быстрым темпом фиброзирования достоверно чаще встречался гетерозиготный генотип GA гена FV по сравнению с пациентами с медленным темпом фиброзирования ($p=0,011$, табл. 2). Так из 89 человек из группы «быстрого» фиброза у 9 (10,11%) выявлялась мутация GA гена FV 1691 G/A (мутация Лейдена), а в группе с «медленным» фиброзом данный генетический полиморфный маркер обнаружен только у одного (1,14%) из 88 человек. Показатель ОШ для генотипа GA гена FV 1691 G/A равен 9,88 (95%ДИ 1,195-80,153), что указывает на его профибротический эффект. Аллель А гена FV 1691 G/A чаще, хотя и на уровне тенденции, обнаруживалась в группе с «быстрым» фиброзом, чем в группе с «медленным» фиброзом (1,7% против 5,56%, $p=0,139$). В нашем

исследовании только у одного пациента с «медленным» фиброзом обнаружен гомозиготный мутантный генотип AA гена FV 1691G/A.

Таблица 2.

Распределение аллелей и генотипов полиморфизма гена FV 1691 G/A в группах больных ХГС с разной скоростью прогрессирования фиброза печени

Ген	Аллель/генотип	Фиброз медленный,%(n)	Фиброз быстрый,%(n)	p	ОШ	95%ДИ
FV 1691G/A	G	98,30% (173)	94,94% (169)	0,139*	0,326	0,087-1,224
	A	1,70% (3)	5,56% (9)		3,071	0,817-11,539
	GG	97,73% (86)	89,89% (80)	0,011 [#]	0,207	0,043-0,997
	GA	1,14% (1)	10,11% (9)		9,787	1,195-80,153
	AA	1,14% (1)	0,00% (0)		-	-
	GG+GA	98,86% (87)	100,00% (89)	0,497*	-	-
	GA+AA	2,27% (2)	10,11% (9)	0,057*	4,838	1,003-23,324

Примечание: р-значение вычислялось для * – двустороннего критерия Фишера, # – критерия χ^2 Пирсона, ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал

Полиморфизм гена PAI-I -675 5G/4G

Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-I) -675 4G/5G приводит к повышению активности PAI-I и склонности к венозным тромбозам (Kohler H.P. и соавт., 2000, Tsantes A.E и соавт., 2008). При данном полиморфизме уменьшается фибринолиз в связи с ингибированием тканевого активатора плазминогена, а в дальнейшем превращение плазминогена в плазмин блокируется.

Мутантная аллель 4G гена PAI-I -675 5G/4G чаще выявлялась у больных ХГС с «быстрым», чем у пациентов с «медленным» фиброзом (55,62% против 47,16%), выявленные различия имели характер тенденции ($p=0,112$, табл. 3). Отличий во встречаемости генотипов данного гена в двух группах получено не было, но генотипы с 4G аллелью (5G4G+4G4G) чаще обнаруживались у пациентов с «быстрым» фиброзом по сравнению с пациентами с «медленным» фиброзом (80,90% против 70,45%, $p=0,117$).

Таблица 3.

Распределение аллелей и генотипов полиморфизма гена PAI-I-I -675 5G/4G в группах больных ХГС с разной скоростью прогрессирования фиброза печени

Ген	Аллель/генотип	Фиброз медленный,%(n)	Фиброз быстрый,%(n)	p	ОШ	95%ДИ
PAI-I -675 5G/4G	5G	52,84% (93)	44,38% (79)	0,112*	0,705	0,464-1,071
	4G	47,16% (83)	55,62% (100)		1,418	0,934-2,154
	5G5G	29,55% (26)	19,10% (17)	0,243 [#]	0,563	0,278-1,139
	5G4G	46,59% (41)	50,56% (45)		1,172	0,647-2,124
	4G4G	23,86% (21)	30,34% (27)		1,389	0,710-2,719
	5G5G+5G4G	76,14% (67)	69,66% (62)	0,399*	0,720	0,368-1,408
	5G4G+4G4G	70,45% (62)	80,90% (72)	0,117*	1,776	0,878-3,592

Примечание: р-значение вычислялось для * – двустороннего критерия Фишера, # – критерия χ^2 Пирсона, ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал

Взаимосвязи между скоростью прогрессирования фиброза печени у больных ХГС и полиморфными маркерами остальных изученных генов (MTHFR 677 C/T, FVII 10976 G/A, FXIII 103 G/T, ITGA2 807 C/T, ITGB3 1565 T/C) не выявлено.

Анализ влияния комбинаций аллельных вариантов исследуемых генов на темпы прогрессирования фиброза печени

В связи с тем, что на большинство многофакторных заболеваний, к которым относится хронический гепатит С, влияет не только носительство определенных полиморфных генетических маркеров, но и их сочетания, нами был проведен анализ комбинаций аллелей и генотипов исследуемых генов и их воздействия на скорость прогрессирования фиброза печени.

Исходя из полученных данных о негативной роли генотипов GA гена FII 20210 G/A и FV 1691 G/A, 5G4G+4G4G гена PAI-I -675 5G/4G в прогрессировании фиброза печени нами были выделены благоприятные и неблагоприятные комбинации генотипов этих генов.

Для оценки прогрессирования фиброза печени в зависимости от различных генотипов двух генов (FII 20210 G/A и FV 1691 G/A) была сформирована система баллов, где 0 – пациент имеет две мажорные аллели по обоим генам FII 20210 G/A (GG) и FV 1691 G/A (GG), 1 – пациент имеет две мажорные аллели гена FV 1691 G/A (GG) и одну минорную аллель гена FII 20210 G/A (GA), 2 – пациент имеет две мажорные аллели гена FII 20210 G/A (GG) и одну минорную аллель гена FV 1691 G/A (GA), 3 – пациент имеет две мажорные аллели гена FII 20210 G/A (GG) и две минорные аллели гена FV 1691 G/A (AA) (табл. 4). Другие комбинации полиморфных маркеров генов FII 20210 G/A и FV 1691 G/A у наших пациентов не встречались.

В группе с «быстрым» фиброзом по сравнению с группой с «медленным» фиброзом чаще выявлялись комбинации FII(GA)-FV(GG) и FII(GG)-FV(GA) (16,85% против 2,28%, $p=0,008$, табл. 4).

Таблица 4.

Частота «неблагоприятных» и «протективных» генотипов у больных ХГС с различной скоростью прогрессирования фиброза печени

FII	FV	Фиброз медленный, %(n)	Фиброз быстрый, %(n)	p	ОШ	ДИ
GG	GG	96,59% (85)	83,15% (74)	0,008	0,174	0,048-0,631
GA	GG	1,14% (1)	6,74% (6)		6,289	0,730-54,150
GG	GA	1,14% (1)	10,11% (9)		9,787	1,213-8,990
GG	AA	1,14% (1)	0,00% (0)		-	-

Примечание. p-значение вычислялось для критерия χ^2 Пирсона, ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал

При изучении влияния на скорость фиброза печени комбинации полиморфизма 3 генов (FII 20210 G/A, FV 1691 G/A, PAI-I -675 5G/4G) показано, что неблагоприятный генетический

профиль с наличием одного и более мутантных генотипов (GA генотип FII 20210 G/A, GA и AA генотипы FV 1691 G/A, 5G4G и 4G4G генотипы PAI-I -675 5G/4G) чаще выявлялся в группе с «быстрым», чем в группе с «медленным» фиброзом (85,27% против 71,59%, $p=0,047$).

В дальнейшем для прогнозирования скорости прогрессирования фиброза нами было произведено кодирование с присвоением генотипам с профиброгенными аллелями «+1» балла (GA генотип FII 20210 G/A, GA и AA генотипы FV 1691 G/A, 5G4G и 4G4G генотипы PAI-I -675 5G/4G). Далее по количеству баллов больные были разделены на 3 группы: 1) сумма баллов равна 0 – отсутствие генотипов с мутантными аллелями; 2) сумма баллов равна 1 – один генотип с мутантными аллелями; 3) сумма баллов равна 2 – два генотипа с мутантными аллелями (табл. 5). В каждой группе определена медиана скорости фиброза в печени. Из таблицы 5 видно, что сформированные группы статистически значимо различаются по скорости фиброза ($p=0,039$). Методом множественных ранговых сравнений выявлен более высокий темп процессов фиброзирования в группе 3 по сравнению с группой 1 ($p=0,042$). Статистически значимых различий между группами 1 и 2 не выявлено.

Таблица 5.

Балльная оценка генетического профиля у больных с разной скоростью прогрессирования фиброза

Сумма баллов	0	1	2
%, n	22,03% (39)	70,06% (124)	7,91% (14)
Скорость фиброза, медиана (квартили)	0,11 (0,06;0,17)	0,13 (0,07;0,22)	0,17 (0,13;0,21)
p	0,039		

Примечание: p-значение вычислялось для критерия Краскела-Уолисса для групп 1, 2, 3

Для построения модели с учетом всех факторов, влияющих на прогрессирование фиброза печени, использована теорема Байеса с включением в анализ как генетических, так и клинично-демографических характеристик, а именно наличие продвинутой стадии фиброза (3-4 по METAVIR), генотипа GA гена FV, ИМТ более 25,00 кг/м², генотипа вируса 3, возраста инфицирования более 25 лет и длительности инфицирования более 20 лет (медиана для всех пациентов). Прогностическое значение данных факторов и их сочетаний имело значение только для больных с «быстрым» фиброзом (прогностическая сила 88%), в то время как для больных с «медленным» фиброзом данный метод оказался не применим в связи с низкой прогностической силой.

Анализ взаимосвязи между развитием криоглобулинемического васкулита и носительством вариантных аллелей исследованных генов у больных ХГС

НСV-ассоциированный криоглобулинемический васкулит с обширным спектром органических поражений часто определяет прогноз ХГС. На втором этапе исследования мы

изучили влияние полиморфизма генов гемостаза и тромбоцитарных рецепторов на развитие и клинические проявления криоглобулинемического васкулита (КГВ) у больных ХГС.

Полиморфизм гена ITGB3 1565 T/C

В группе с криоглобулинемическим васкулитом (КГВ) чаще встречались генотипы гена ITGB3 1565 T/C с минорной аллелью С, чем в группе без криоглобулинемии (КГ) ($p=0,137$). При объединении генотипов с мажорной аллелью Т в одну группу различия стали более выраженными. Так, в группе с КГВ по сравнению с группой без КГ чаще выявлялся мутантный генотип СС (8,11% против 1,63%, $p=0,047$, рис. 1). Для развития КГВ объединенный генотип ТТ+ТС оказался протективным и чаще встречался в группе без КГ, чем с КГВ (98,37% против 91,89%, $p=0,047$).

В группах с криоглобулинемическим васкулитом (КГВ) и бессимптомной криоглобулинемией (БСКГ) при сравнении встречаемости аллелей и генотипов гена ITGB3 1565 T/C статистически значимых различий не выявлено. Однако у больных с КГВ по сравнению с группой БСКГ чаще встречался мутантный генотип СС (8,11% против 0,00%, $p=0,066$).

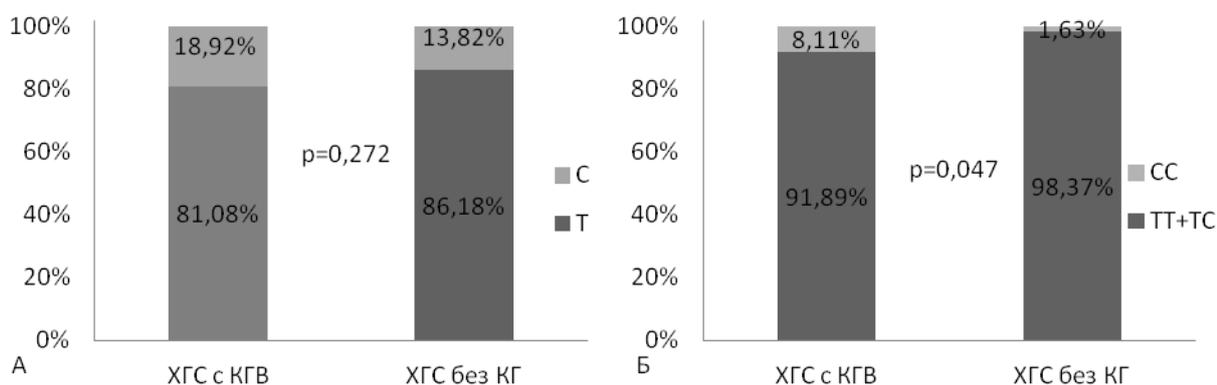


Рисунок 1. Частота аллелей (А) и генотипов (Б) гена ITGB3 1565 T/C в группах больных ХГС с КГВ и без КГ

Продукт гена ITGB3 1565 T/C - $\beta 3$ – интегрин - играет важную роль в миграции и пролиферации гладкомышечных клеток, что ведет к прогрессированию васкулопатий. Наличие мутации в гене ITGB3 приводит к усилению функциональной активности тромбоцитов. Возможно, что последние активируют В-клетки и лимфоциты, способствуя синтезу IgM и образованию криоглобулинов.

В дальнейшем мы определяли взаимосвязь полиморфизма ITGB3 1565 T/C с клиническими проявлениями КГВ (табл. 6). У пациентов с гломерулонефритом (ГН) мутантный генотип СС гена ITGB3 1565 T/C встречался в 25% случаев, в то время как в группе без поражения почек данный маркер не обнаруживался ($p=0,040$). В группе без вовлечения почек

мажорная аллель Т гена ITGB3 1565 Т/С выявлялась чаще, чем в группе с ГН ($p=0,010$, ОШ 0,175, 95%ДИ 0,047-0,657). Относительный риск развития заболевания почек для минорной аллели С равен 5,700 (95%ДИ 1,521-21,354), что указывает на неблагоприятное влияние этой аллели на развитие данного органного проявления КГВ.

В группе больных с полиневритами по сравнению с группой больных без поражения периферической нервной системы чаще встречались минорная аллель С гена ITGB3 1565 Т/С и генотипы с ней (43,75% против 13,04%, $p=0,028$ и 62,50% против 21,74%, $p=0,074$), однако различия в частотах генотипах имели лишь тенденцию к статистической значимости. Относительный риск развития поражения нервной системы в рамках КГВ у больных с минорной С аллелью равен 5,185 (95%ДИ 1,401-19,187), а для больных с мажорной Т аллелью – 0,193 (95%ДИ 0,052-0,714), что свидетельствует о протективной роли этой аллели в развитии данного проявления КГВ.

В рамках триады Мельтцера у носителей минорной С аллели, чем у носителей мажорной Т аллели, чаще регистрируется мышечная слабость (ОШ=4,556, 95%ДИ 1,277-16,255). Генотип ТТ гена ITGB3 1565 Т/С являлся протективным для развития мышечных проявлений, т.к. встречался реже у пациентов с мышечной слабостью, чем без нее (25,00% против 79,19%, $p=0,012$, ОШ 0,086, 95%ДИ 0,012-0,604). Напротив, генотипы с мутантной С аллелью чаще обнаруживались в группе с мышечными проявлениями ($p=0,010$, ОШ 11,667, 95%ДИ 1,655-82,237).

Фатальным для больных является развитие поражения легких (пульмонит), которое в нашем исследовании было выявлено у двух человек. При генотипировании оба имели генотипы с минорной С аллелью гена ITGB3 1565 Т/С ($p=0,030$). На модели логистической регрессии нами показано, что мажорная Т аллель является протективной для развития данной патологии с ОШ равным 0,075 (95% ДИ 0,007-0,789), а С аллель, наоборот, ассоциирована с пульмонитом с ОШ равным 13,364 (95%ДИ 1,267-140,940). При анализе частот выявления различных аллельных вариантов гена ITGB3 1565 Т/С в группе пациентов с поражением легких по сравнению с группой без него наблюдалась тенденция к более частому обнаружению генотипов с мутантной аллелью С ($p=0,058$).

Взаимосвязи между другими проявлениями КГВ (системная сосудистая пурпура, артриты) и различными аллельными вариантами гена ITGB3 1565 Т/С не выявлено.

Обнаруженная при наличии КГВ взаимосвязь между развитием поражения почек, мышц, нервной системы и полиморфизма в гене ITGB3 1565 Т/С, позволяет предположить, что повышенная агрегация тромбоцитов, обусловленная мутантным состоянием гена, способствует усугублению воздействия криоглобулинов в иммунокомпromетированных органах-мишенях с образованием зон ишемии. Подобных ассоциаций при носительстве мутаций в гене PAI-I не

обнаружено. В доступной нам литературе данных о влиянии аллельных вариантов изучаемых генов на особенности клинической картины КГВ не найдено.

Таблица 6.

Клинические проявления КГВ у пациентов с различными аллельными вариантами гена
ITGB3 1565 T/C

Ген	ITGB3 1565 T/C						
	Т	С	ТТ	ТС	СС	ТТ+ТС	ТС+СС
Поражение почек - нет, %(n)	90,48% (38)	9,52% (4)	80,95% (17)	19,05% (4)	0,00% (0)	100,00% (21)	19,05% (4)
Поражение почек - есть, %(n)	62,50% (15)	37,5% (9)	50,00% (6)	25,00% (3)	25,00% (3)	75,00% (6)	50,00% (6)
р	0,010*		0,040#			0,040*	0,114*
Поражение легких - нет, %(n)	81,67% (49)	18,33% (11)	70,00% (21)	23,33% (7)	6,67% (2)	93,33% (28)	30,00% (9)
Поражение легких - есть, %(n)	25,00% (1)	75,00% (3)	0,00% (0)	50,00% (1)	50,00% (1)	50,00% (1)	100,00% (2)
р	0,030*		0,058#			0,181*	0,111*
Поражение нервной системы - нет, %(n)	86,96% (40)	13,04% (6)	78,26% (18)	17,39% (4)	4,35% (1)	95,65% (22)	21,74% (5)
Поражение нервной системы - есть, %(n)	56,25% (9)	43,75% (7)	37,50% (3)	37,50% (3)	25,00% (2)	75,00% (6)	62,50% (5)
р	0,028*		0,077#			0,156*	0,074*
Поражение мышц - нет, %(n)	83,67% (41)	16,33% (7)	79,17% (19)	12,50% (3)	8,33% (2)	91,67% (22)	20,83% (5)
Поражение мышц - есть, %(n)	56,25% (9)	43,75% (7)	25,00% (2)	62,50% (5)	12,50% (1)	87,50% (7)	75,00% (6)
р	0,031*		0,012#			1,000*	0,010*

Примечание: р-значение вычислялось для * – двустороннего критерия Фишера, # – критерия χ^2 Пирсона

Полиморфизм гена PAI-I -675 5G/4G

В группе больных с криоглобулинемическим васкулитом (КГВ) минорная аллель 4G гена PAI-I -675 5G/4G встречалась с частотой 62,16%, а в группе больных с бессимптомной криоглобулинемией (БСКГ) с частотой 45,00% (рис. 2). Выявленные различия были статистически значимыми ($p=0,037$, ОШ=2,008, 95%ДИ 1,055-3,823). При анализе распространенности генотипов в этих группах выявлено, что в группе БСКГ по сравнению с группой КГВ 5G5G дикий генотип выявляется чаще ($p=0,007$, ОШ=0,202, 95%ДИ 0,059-0,698). Шанс развития КГВ у носителей объединенного генотипа 4G5G+5G5G равен 4,950 по сравнению с больными с БСКГ (95%ДИ 1,434-17,093, рис. 2).

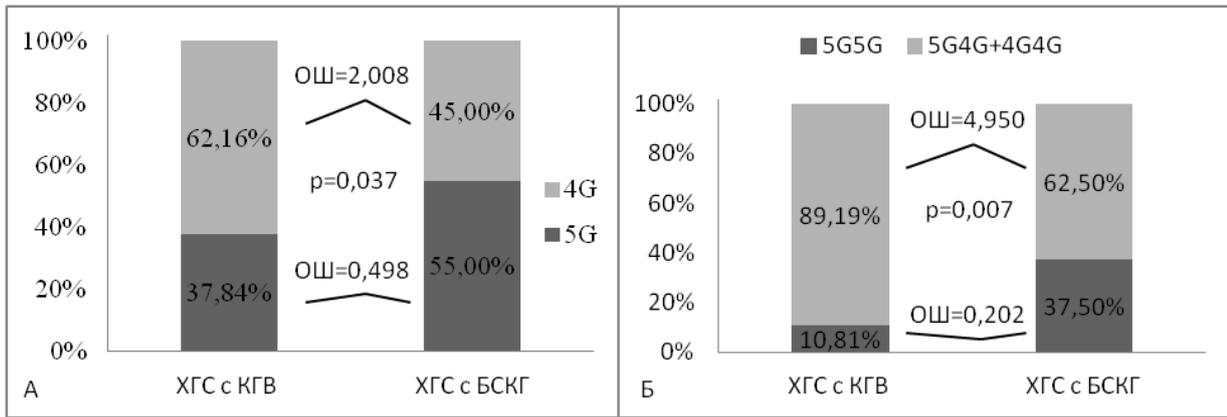


Рисунок 2. Частота аллелей (А) и генотипов (Б) гена PAI-I -675 5G/4G в группах больных ХГС с криоглобулинемическим васкулитом (КГВ) и с бессимптомной криоглобулинемией (БСКГ)

При анализе встречаемости полиморфных генетических маркеров гена PAI-I -675 5G/4G показано, что в группе с КГВ по сравнению с группой без КГ мажорная аллель 5G на уровне тенденции выявляется реже (37,84% против 48,37%, $p=0,143$). В группе больных ХГС с КГВ и без КГ минорная аллель 4G встречалась с частотой 62,16% и 51,62% соответственно ($p=0,143$). Распространенность генотипов данного гена в группах с КГВ и без КГ имела тенденцию к статистической значимости ($p=0,177$). При объединении в одну группу генотипов с 4G аллелью различия становились более выраженными. Так в группе с КГВ частота носительства дикого генотипа 5G5G ниже по сравнению с группой больных без КГ (10,81% против 25,20%, $p=0,063$).

Взаимосвязи между клиническими проявлениями и аллельными вариантами гена PAI-I -675 5G/4G выявлено не было.

Ассоциации между развитием КГВ и другими полиморфными маркерами исследуемых генов не выявлено.

В доступной нам литературе найдено лишь одно исследование, изучающее влияние аллельных вариантов генов системы гемостаза, а именно PAI-I -675 5G/4G, фактора V 1691 G/A, протромбина 20210 G/A, MTHFR (677 C/T и 1298 A/C) на развитие и течение КГВ (Casato M. и соавт., 2008). Нами также, как и авторами, не обнаружено взаимосвязи между генетическими вариантами FV 1691 G/A, FII 20210 G/A, MTHFR 677 C/T и развитием КГВ. Однако, представляет интерес более высокий уровень гомоцистеинемии у пациентов с КГВ по данным Casato M. и соавт., ассоциированный с ТТ генотипом MTHFR 677 C/T. Согласно нашим данным, в группе с КГВ по сравнению с группой без КГВ и БСКГ на уровне тенденции чаще встречаются генотипы с мутантной 4G аллелью гена PAI-I -675 5G/4G ($p=0,063$). Функциональная значимость данной мутации при развитии КГВ может быть объяснена тем, что в плазме крови при наличии полиморфизма PAI-I -675 5G/4G повышенный активный PAI-I связывается с витронектином — гликопротеином, опосредующим клеточную адгезию и

взаимодействующим с белками системы комплемента, свертывания крови и фибринолиза. Возможно, эта связь с компонентом комплемента дополнительно усиливает взаимодействие с сог-белком HCV и способствует образованию криоглобулинов.

Анализ факторов риска развития КГВ

Для оценки прогностического значения сочетания генотипов генов ITGB3 1565 T/C и PAI-I -675 5G/4G в развитии КГВ был введен специальный суммарный балл: 0 – пациент имеет две гомозиготные мажорные аллели по обоим генам (ITGB3 1565 TT и PAI-I -675 5G5G); 1 – пациент имеет одну минорную аллель по одному из двух генов (TC/5G5G; TT/5G4G); 2 – имеет одну минорную аллель по обоим генам (TC/5G4G); 3 – имеет одну минорную аллель по одному гену – гетерозиготен, а по другому имеет две минорные аллели (TC/4G4G; CC/5G4G); 4 – имеет две минорные аллели по обоим генам (CC/4G4G).

В группе с КГВ по сравнению с группой без КГ чаще выявлялись пациенты с высоким суммарным баллом, учитывающим сочетанное влияние полиморфизма генов ITGB3 1565 T/C и PAI-I -675 5G/4G ($p=0,047$, табл. 7). При сравнении групп КГВ и БСКГ отмечалась тенденция к более частому выявлению высокого суммарного балла у пациентов с КГВ ($p=0,092$, табл. 7). Отличий в распределении пациентов в группах с БСКГ и без КГ по суммарному баллу не выявлено ($p=0,895$).

Таблица 7.

Формирование групп больных по суммарному баллу, учитывающему полиморфизм генов ITGB3 1565 T/C и PAI-I -675 5G/4G

Группа	Суммарный балл					p		
	0	1	2	3	4	IvsIII	IvsII	IIvsIII
ХГС с КГВ (I), %(n)	5,71% (2)	42,86% (15)	31,43% (11)	20,00% (7)	0,00% (0)	0,047	0,092	0,895
ХГС с БСКГ (II), %(n)	23,53% (8)	41,18% (14)	29,41% (10)	5,88% (2)	0,00% (0)			
ХГС без КГ (III), %(n)	18,35% (20)	41,28% (45)	33,03% (36)	5,50% (6)	1,83% (2)			

Примечание: p-значение вычислялось для критерия χ^2 Пирсона. ХГС – хронический гепатит С, КГВ – криоглобулинемический васкулит, КГ – криоглобулинемия, БСКГ – бессимптомная криоглобулинемия

В дальнейшем нами проводился однофакторный и многофакторный анализ методом логистической регрессии с включением следующих переменных – возраст и пол пациента, длительность заболевания и суммарный балл, учитывающий полиморфизм генов ITGB3 1565 T/C и PAI-I -675 5G/4G (табл. 8).

При однофакторном анализе при сравнении групп с КГВ и без КГ наиболее значимыми для развития васкулита были возраст, женский пол, длительность заболевания (табл. 8), а

влияние суммарного балла носило пограничный характер. При многофакторном анализе независимыми факторами развития КГВ оказались суммарный балл (ОШ 1,62, 95%ДИ 1,01-2,61) и длительность заболевания (ОШ 1,05, 95% ДИ 1,00-1,09), на фоне которых влияние пола и возраста больного нивелировалось (табл. 8).

Таблица 8.

Однофакторный и многофакторный анализ при сравнении групп с КГВ и без КГ

	Однофакторный анализ	Многофакторный анализ
	ОШ (95%ДИ)	ОШ (95%ДИ)
Возраст пациента	1,05 (1,03-1,09)	1,03 (0,99-1,07)
Пол	3,76 (1,34-10,55)	2,7 (0,88-8,34)
Длительность заболевания	1,07 (1,03-1,11)	1,05 (1,00-1,09)
Суммарный балл	1,53 (0,99-2,35)	1,62 (1,01-2,61)

Примечание: ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал, КГВ – криоглобулинемический васкулит, КГ – криоглобулинемия

Прогноз вероятности КГВ (р) у пациентов ХГС, исходя из данной модели, можно рассчитать по формуле 2:

$$p = \frac{1}{1+e^{-z}}, (2)$$

где e – основание натуральных логарифмов (Число Эйлера) 2,71828...; z – уравнение регрессии. В нашей модели

$$z = -5,16 + 0,99 * (\text{Пол}0,1) + 0,03 * (\text{Возраст}) + 0,05 * (\text{Длительность заболевания}) + 0,48 * (\text{Суммарный балл})(3)$$

где пол может принимать значения 0 (мужской) или 1 (женский), суммарный балл – от 0 до 4, возраст и длительность заболевания выражены в годах. Статистическая значимость полученной модели $p=0,00001$.

При сравнении групп больных с КГВ и БСКГ при многофакторном анализе показано, что независимым предиктором развития КГВ является суммарный балл (ОШ 2,04, 95% ДИ 1,02-4,09), на фоне которого влияние других клинических показателей не существенно (табл. 9).

Таблица 9.

Однофакторный и многофакторный анализы при сравнении групп с КГВ и БСКГ

	Однофакторный анализ	Многофакторный анализ
	ОШ (95%ДИ)	ОШ (95%ДИ)
Возраст пациента	1,09 (1,04-01,15)	1,06 (0,99-1,15)
Пол	3,71 (1,13-12,26)	1,28 (0,27-6,00)
Длительность заболевания	1,08 (1,02-1,13)	1,03 (0,97-1,10)
Суммарный балл	1,90 (1,05-3,43)	2,04 (1,02-4,09)

Примечание: ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал, КГВ – криоглобулинемический васкулит, БСКГ – бессимптомная криоглобулинемия

В многофакторном анализе при сравнении групп с БСКГ и без КГ независимых факторов развития БСКГ не выявлено.

ВЫВОДЫ

1. Быстрый темп прогрессирования фиброза печени у больных ХГС статистически значимо ассоциирован с генотипом GA гена FV 1691 G/A (ОШ GA=9,787), а также на уровне тенденции к статистической значимости с генотипом GA гена FII 20210 G/A ($p=0,118$), 4G аллелью и генотипами 5G4G+4G4G гена PAI-I-I 675 5G/4G ($p=0,112$ и $0,117$ соответственно);
2. Медленный темп прогрессирования фиброза печени у больных ХГС статистически значимо ассоциирован с диким генотипом GG гена FV 691 G/A (ОШ GG=0,207);
3. Интегральная модель продемонстрировала, что с увеличением количества мутантных генотипов генов FII 20210 G/A, FV 1691 G/A и PAI-I-675 5G/4G в генетическом профиле пациента скорость процессов фиброзирования возрастает;
4. У больных криоглобулинемическим васкулитом по сравнению с больными с бессимптомной криоглобулинемией достоверно чаще встречается мутантная аллель 4G (ОШ 4G=2,008) и генотипы 5G4G+4G4G (ОШ 5G4G+4G4G=4,950) гена PAI-I-675 5G/4G, а по сравнению с больными без криоглобулинемии – мутантный генотип CC гена ITGB3 1565 T/C ($p=0,047$);
5. У больных криоглобулинемическим васкулитом С аллель и гомозигота CC гена ITGB3 1565 T/C ассоциированы с поражением почек, С аллель и генотипы с ней (TC+CC) гена ITGB3 1565 T/C - с поражением мышц и нервной системы;
6. В многофакторном анализе при сравнении групп с криоглобулинемическим васкулитом и без криоглобулинемии независимыми факторами развития криоглобулинемического васкулита являются количество мутантных аллелей генов PAI-I-675 5G/4G и ITGB3 1565 T/C, а также длительность инфицирования, а при сравнении групп с КГВ и БСКГ - только количество мутантных аллелей данных генов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании больных ХГС целесообразно проведение генной диагностики полиморфных маркеров генов FII 20210 G/A, FV 1691G/A, PAI-I-675 5G/4G, ITGB3 1565 T/C. с последующим сопоставлением с данными анамнеза и клинико-лабораторных показателей для прогнозирования особенностей течения заболевания и определения сроков проведения противовирусной терапии;
2. Созданные математические модели, включающие клинико-демографические факторы больного при определении генетических особенностей свертывающей системы, позволяют уточнить риск развития быстрого фиброза и могут быть использованы при выборе тактики ведения и лечения больных;
3. Мутации в гене ITGB3 1565 T/C являются предиктором развития тяжелого течения КГВ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах:

1. **Старостина Е.Е.**, Фастовец С.В., Самоходская Л.М., Розина Т.П., Игнатова Т.М., Краснова Т.Н., Мухин Н.А. Роль аллельных вариантов генов свертывания крови в скорости прогрессирования фиброза при хронических заболеваниях печени // Фарматека. - 2015 - № 20 - С. 17-23.
2. Самоходская Л.М., **Старостина Е.Е.**, Яровая Е.Б., Краснова Т.Н., Мухин Н.А., Ткачук В.А., Садовничий В.А. Математическая модель прогноза скорости фиброза печени у больных с хроническим гепатитом С на основе комбинаций геномных маркеров // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2015 - № 70 - С. 651-661.
3. **Старостина Е.Е.**, Розина Т.П., Семенков А.В., Филин А.В., Ким Э.Ф., Некрасова Т.П. Трансплантация печени от однойцевой сестры больной врожденным фиброзом печени // Клиническая гепатология. - 2013 - № 2 - С. 44-48.
4. Мухин Н.А., Абдурахманов Д.Т., Розина Т.П., Лопаткина Т.Н., Никулкина Е.Н., **Старостина Е.Е.**, Сидорова Е.И. Новые возможности противовирусной терапии хронического гепатита С у больной с неблагоприятными прогностическими факторами // Клиническая гепатология. - 2013 - № 1 - С. 28-36.
5. **Старостина Е.Е.**, Розина Т.П. Трудности диагностики ювенильного цирроза печени // Клиническая гепатология. - 2012 - № 3 - С. 39-42.

Тезисы конференций:

1. **Старостина Е.Е.**, Самоходская Л.М., Розина Т.П., Краснова Т.Н., Яровая Е.Б., Мухин Н.А., Ткачук В.А. Роль полиморфных маркеров генов гемостаза и тромбоцитарных рецепторов в прогрессировании фиброза печени у больных хроническим гепатитом С. XXI Международный конгресс "Гепатология сегодня", Москва, 18-20 марта 2016 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АЛТ – аланиновая трансаминаза
АСТ – аспаргиновая трансаминаза
БСКГ – бессимптомная криоглобулинемия
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
ГН – гломерулонефрит
ДИ – доверительный интервал
ИМТ – индекс массы тела
КГ – криоглобулинемия
КГВ – криоглобулинемический васкулит
ОШ – отношение шансов
ПЦР – полимеразная цепная реакция
ХГВ – хронический гепатит В
ХГС – хронический гепатит С
А – аденин
С – цитозин
G – гуанин
ITGA2 – интегрин альфа 2
ITGB3 – интегрин бета 3
FII – фактор II свертывания, протромбин
FV – фактор V свертывания
FVII – фактор VII свертывания
FXIII – фактор XIII свертывания
FBG – фибриноген
HCV – вирус гепатита С
MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза
PAI-I-1 – ингибитор активатора плазминогена 1 типа
Т – тимин

АННОТАЦИЯ

В работе проведён комплексный анализ взаимосвязи течения и прогноза хронического гепатита С с носительством вариантных маркеров 9 полиморфных локусов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов у пациентов с хронической HCV-инфекцией (244 человека).

В ходе исследования выявлены вариантные полиморфные маркеры исследованных генов, ассоциированные с «быстрым» темпом прогрессирования фиброза печени (генотип GA гена FV 1691G/A, генотип GA гена FII 20210 G/A, 4G аллель и генотипы 5G4G+4G4G гена PAI-I -675 5G/4G) и с «медленным» темпом прогрессирования фиброза печени (дикий генотип GG гена FV 691G/A), развитием криоглобулинемического васкулита (мутантная аллель 4G и генотипы 5G4G+4G4G гена PAI-I -675 5G/4G, мутантный генотип CC гена ITGB3 1565 T/C). Показано, что с увеличением количества мутантных генотипов генов FII 20210 G/A, FV 1691 G/A и PAI-I -675 5G/4G скорость процессов фиброзирования возрастает. В многофакторном анализе при сравнении групп с криоглобулинемическим васкулитом и без криоглобулинемии независимыми факторами развития криоглобулинемического васкулита являлись количество мутантных аллелей генов PAI-I -675 5G/4G и ITGB3 1565 T/C, а также длительность инфицирования, а при сравнении групп с КГВ и БСКГ - только количество мутантных аллелей данных генов. Предложены прогностические модели оценки риска быстрого прогрессирования фиброза и развития криоглобулинемического васкулита у больных ХГС на основании комбинации генетических и клиничко-демографических параметров.

ANNOTATION

Herein a comprehensive analysis of the relationship of disease progress and prognosis of chronic hepatitis C with carriage of variant marker 9 polymorphic loci of genes of the hemostatic system and platelet receptors in patients with chronic HCV-infection (244 people) was conducted.

In the study variant markers associated with "fast" (genotype GA gene FV 1691G/A, genotype GA gene FII 20210 G/A, 4G allele and genotype 5G4G+4G4G gene PAI-I -675 5G/4G) and "slow" rate of progression of liver fibrosis (wild genotype GG gene FV 691G/A), development cryoglobulinemic vasculitis (mutant allele 4G and genotypes 5G4G+4G4G gene PAI-I -675 5G/4G, the mutant genotype CC gene ITGB3 1565 T/C) were revealed. It is shown that fibrosis rate increases with amounts of mutant genotypes FII genes 20210 G/A, FV 1691 G/A, and PAI-I -675 5G/4G. In multivariate analysis comparing the groups with and without cryoglobulinemic vasculitis independent factors for cryoglobulinemic vasculitis were the number of mutant alleles of genes PAI-I -675 5G/4G and ITGB3 1565 T/C, as well as the duration of infection. Predictive models for fibrosis rate and risk of development of cryoglobulinemic vasculitis in patients with chronic hepatitis C based on a combination of genetic and clinical and demographic parameters were proposed.