

Влияние аллельных вариантов генов эндотелиальной дисфункции и системы свертывания крови на клинические проявления криоглобулинемии, ассоциированной с вирусом гепатита С

М.В. Соколова¹, Е.Е. Старостина¹, Т.Н. Краснова^{1,2}, Л.М. Самоходская¹, Т.П. Розина^{1,2}, В.Г. Авдеев^{1, 2}, М.Г. Артемова¹, Е.Б. Яровая¹, Н.А. Мухин^{1,2}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Российская Федерация

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Минздрава России, г. Москва, Российская Федерация

Соколова Мария Вячеславовна – клинический ординатор. МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины. Контактная информация: maria_world@mail.ru

Sokolova Maria V. – resident, faculty of fundamental medicine, Lomonosov Moscow State University. Contact information: maria_world@mail.ru

Старостина Екатерина Евгеньевна – кандидат медицинских наук, врач-гастроэнтеролог, терапевт. Медицинский научно-образовательный центр МГУ им. М.В. Ломоносова. Контактная информация: starostinaee@gmail.com

Starostina Yekaterina Ye. – MD, gastroenterologist, physician. Medical scientific and educational center of Lomonosov Moscow State University. Contact information: starostinaee@gmail.com

Краснова Татьяна Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент. МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины; ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова». Контактная информация: krasnovamgu@yandex.ru

Krasnova Tatyana N. – MD, lecturer. Faculty of fundamental medicine of Lomonosov Moscow State University, Sechenov University. Contact information: krasnovamgu@yandex.ru

Самоходская Лариса Михайловна – кандидат медицинских наук, доцент. МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины. Контактная информация: slm@fbm.msu.ru

Samokhodskaya Larisa M. – MD, lecturer. Faculty of fundamental medicine of Lomonosov Moscow State University. Contact information: slm@fbm.msu.ru

Розина Тэона Павловна – кандидат медицинских наук, доцент. МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины; ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова». Контактная информация: alrozin@ya.ru

Rozina Teona P. – MD, lecturer. Faculty of fundamental medicine of Lomonosov Moscow State University; Sechenov University. Contact information: alrozin@ya.ru

Авдеев Владимир Георгиевич – кандидат медицинских наук, доцент. МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины. Контактная информация: avdeevvg@gmail.com

Avdeyev Vladimir G. – MD, lecturer. Faculty of fundamental medicine, Lomonosov Moscow State University. Contact information: avdeevvg@gmail.com

Артемова Марина Геннадьевна – аспирант. МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины. Контактная информация: marinaffm@ya.ru

Artemova Marina G. – postgraduate student. Faculty of fundamental medicine of Lomonosov Moscow State University. Contact information: marinaffm@ya.ru

Яровая Елена Борисовна – доктор физико-математических наук, доцент. МГУ им. М.В. Ломоносова, механико-математический факультет. Контактная информация: yarovaya@mech.math.msu.su

Yarovaya Yelena B. – Dr. Sci. in Physics and Mathematics, lecturer, mechanics and mathematics faculty, Lomonosov Moscow State University. Contact information: yarovaya@mech.math.msu.su

Поступила: 17.09.2017 / Received: 17.09.2017

Clinical role of endothelial dysfunction and hemostasis gene allelic variants in hepatitis C virus-associated cryoglobulinemia

M.V. Sokolova¹, Ye.Ye. Starostina¹, T.N. Krasnova^{1,2}, L.M. Samokhodskaya¹, T.P. Rozina^{1,2}, V.G. Avdeyev^{1,2}, M.G. Artemova¹, Ye.B. Yarovaya¹, N.A. Mukhin^{1,2}

¹ Federal state educational government-financed institution of higher education «Lomonosov Moscow State University», Moscow, the Russian Federation

² Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, the Russian Federation

Цель исследования. Оценить влияние носительства аллельных вариантов генов эндотелиальной дисфункции и системы свертывания крови на развитие криоглобулинемического васкулита (КГВ) и его клинических проявлений у пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС).

Материал и методы. В исследование были включены 72 пациента с ХГС и криоглобулинемией: 21 с КГВ и 51 без васкулита.

Результаты. Среди пациентов с КГВ была более распространена аллель Т гена NOS3 894 G/T, достоверно реже встречалась аллель Т гена ITGA2 807 C/T (ОШ=0,419), чаще — аллель С гена ITGB3 1565 T/C (ОШ=2,33). При многофакторном анализе независимым фактором риска оказалось количество мутантных аллелей (суммарный балл) генов NOS3 894 G/T, ITGA2 807 C/T и ITGB3 1565 T/C. Аллель Т гена NOS3 894 G/T достоверно реже выявляли у больных с поражением почек (15 и 45,5%; $p=0,035$) и пациентов с артериальной гипертензией (30 и 72,7%; $p=0,086$).

Выводы. Носительство генотипов GT гена NOS3894 G/T и CC гена ITGB31565 T/C ассоциировано с повышенным риском развития КГВ. Генотип TT гена ITGA2 807 C/T является «протективным». Суммарный балл — независимый предиктор развития КГВ.

Ключевые слова: хронический гепатит С, криоглобулинемический васкулит, полиморфизм генов, тромбофилия, гемостаз, тромбоцитарные рецепторы, эндотелиальная дисфункция.

Aim of investigation. To estimate the effect of carriage of endothelial dysfunction and hemostasis gene allelic variants on development of cryoglobulinemic vasculitis (CryoVas) and its clinical symptoms in patients with chronic hepatitis C (CHC).

Material and methods. Original study included overall 72 patients with CHC and cryoglobulinemia: 21 patients had CryoVas, 51 — CHC without vasculitis.

Results. The T allele of NOS3 894 G/T gene was more frequent, T allele of ITGA2 807 C/T gene (OR = 0.419) was less common and C allele of ITGB3 1565 T/C gene was more frequent (OR=2.33) in CryoVas patients. Multivariate assay revealed the number of mutant alleles («total score») of NOS3 894 G/T, ITGA2 807 C/T and ITGB3 1565 T/C genes as independent risk factor. The T allele of NOS3 894 G/T gene was found in patients with renal disease significantly less frequently (15% vs 45.5%; $p=0.035$) as well as in patients with systemic hypertension (30% and 72.7%; $p=0.086$).

Conclusions. Carriage of GT genotype of NOS3 894 G/T gene and CC genotype of ITGB3 1565 T/C gene is associated with high risk of CryoVas development. The TT genotype of ITGA2 807 C/T gene possess «protective» properties. The «total score» is independent predictor of CryoVas development.

Key words: chronic hepatitis C, cryoglobulinemic vasculitis, genetic polymorphism, thrombophilia, hemostasis, platelet receptors, endothelial dysfunction.

Для цитирования: Соколова М.В., Старостина Е.Е., Краснова Т.Н., Самоходская Л.М., Розина Т.П., Авдеев В.Г., Артемова М.Г., Яровая Е.Б., Мухин Н.А. Влияние аллельных вариантов генов эндотелиальной дисфункции и системы свертывания крови на клинические проявления криоглобулинемии, ассоциированной с вирусом гепатита С. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2018; 28(1):33-40 DOI: 10.22416/1382-4376-2018-28-1-33-40

For citation: Sokolova M.V., Starostina Ye.Ye., Krasnova T.N., Samokhodskaya L.M., Rozina T.P., Avdeyev V.G., Artemova M.G., Yarovaya Ye.B., Mukhin N.A. Clinical role of endothelial dysfunction and hemostasis gene allelic variants in hepatitis C virus-associated cryoglobulinemia Ross z gastroenterol gepatol koloproktol 2018; 28(1):33-40 DOI: 10.22416/1382-4376-2018-28-1-33-40

Введение

Течение хронического гепатита С (ХГС) у части больных сопровождается многочисленными иммунологическими феноменами. Один из наиболее часто выявляемых и клинически значимых — смешанная криоглобулинемия (КГ), ассоциированная с развитием криоглобулинеми-

ческого васкулита (КГВ) [1, 2]. Вместе с тем не у всех больных, в сыворотке крови которых обнаруживают криоглобулины, развивается системный васкулит [1, 3]. Эндотелиальная дисфункция (ЭД) и тромбофилические состояния при иммуновоспалительных заболеваниях вносят значимый вклад в повреждение органов и тканей в связи с выраженной ишемией, что может слу-

жить дополнительным фактором риска прогрессирования заболеваний. Согласно данным литературы, полиморфизм генов, контролирующих ЭД и систему свертывания, при ряде системных заболеваний может оказывать значимое влияние на их клинические проявления [4].

Независимо от стадии фиброза печени и активности ХГС поражение внутренних органов в рамках КГВ может быть ведущим симптомом в клинической картине заболевания и стать причиной смерти пациента. В связи с этим представляется актуальным поиск предикторов развития и течения КГВ, в том числе генетических факторов.

Цель исследования — оценить влияние носительства аллельных вариантов генов ЭД (NOS3 894 G/T, MTHFR 677 C/T, CYBA 242 C/T) и системы свертывания крови (ITGA2 807 C/T и ITGB3 1565 T/C) на развитие КГВ и его клинических проявлений у пациентов с ХГС.

Материал и методы исследования

В исследование были включены 72 пациента с ХГС и феноменом КГ в возрасте от 28 до 76 лет, наблюдавшиеся с июня 2001 г. по июнь 2013 г. в Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева (Университетская клиническая больница № 3) ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России. Критериями включения являлись: установленный диагноз ХГС (наличие маркеров вирусного гепатита С — анти-НСV и НCV РНК, выявленных с помощью *полимеразной цепной реакции* — ПЦР, в течение более 6 мес), а также обнаружение криоглобулинов в сыворотке крови по методу R. Pellicano (1999). У 21 пациента в соответствии с критериями, разработанными S. De Vita и соавт. [5], диагностирован КГВ. У 51 больного в сыворотке крови обнаружены криоглобулины, однако отсутствовали клинические проявления КГВ.

Среди больных, включенных в исследование, были 22 (30,6%) мужчины и 50 (69,4%) женщины, среди пациентов с КГВ — 3 (14,3%) и 18 (85,7%) соответственно, в группе КГ без васкулита — 19 (37,3%) и 32 (62,7%).

Для дополнительного сравнительного анализа в обеих группах были выбраны пациенты с *длительностью заболевания* (ДЗ) 20–45 лет (10 человек из группы КГВ и 25 — из группы КГ). Это позволило исключить участие временного фактора в развитии КГВ.

Геномную ДНК выделяли из периферической венозной крови, стабилизированной ЭДТА, с помощью коммерческого набора QIAmp DNA Blood Mini Kit и автоматической станции QIAcube™ (QIAGEN, Германия). Полиморфизм исследуемых генов определяли с помощью ПЦР с детекцией результатов в режиме реального вре-

мени и анализом кривых плавления с использованием коммерческих наборов реагентов фирмы «ДНК-технология» на детектирующем амплификаторе DTgrime (ООО «ДНК-технология», Россия).

Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программ STATISTICA 8 и Excel 2013. Для анализа качественных переменных использовали критерий χ^2 Пирсона или двусторонний критерий Фишера, количественных переменных — параметрический критерий (t-критерий Стьюдента) и непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Многофакторный анализ проводили методом логистической регрессии в программе STATISTICA 8. Вычисление *отношения шансов* (ОШ) и 95% *доверительного интервала* (ДИ), а также выбор модели риска с помощью теста отношения правдоподобия осуществляли в программе SNPStats.

Результаты исследования

Клинико-демографическая характеристика пациентов

В исследование были включены 72 пациента с ХГС и наличием криоглобулинов в сыворотке крови, из них 21 пациент с КГВ и 51 пациент с КГ без васкулита. В группе КГВ были пациенты в возрасте от 33 до 75 лет (медиана возраста 57 лет), в группе КГ — пациенты в возрасте от 23 до 76 лет (медиана возраста 46 лет; $p=0,013$). Среди пациентов с КГВ было 18 (85,7%) женщин и 3 (14,3%) мужчин, в группе КГ — 32 (62,7%) и 19 (37,25%) соответственно ($p=0,056$). Медиана ДЗ у пациентов с КГВ составила 27 лет, у пациентов с КГ — 21 год ($p=0,027$).

Среди факторов риска заражения вирусом гепатита С гемотрансфузии или донорство составили 50,8%, оперативные вмешательства — 34,9%. Другими факторами риска были внутривенное введение наркотиков (6,3%), тату или пирсинг (3,2%), работа в сфере медицины (4,8%).

Среди пациентов с КГВ по сравнению с пациентами группы КГ было больше больных циррозом печени (71,4 и 43,1% соответственно; $p=0,029$) и с синдромом *портальной гипертензии* (ПГ) (66,7 и 43,1%; $p=0,07$). Повышение активности *аспартатаминотрансферазы* (АсАТ) до 2,5 норм и более чаще встречалось среди пациентов с КГВ (28,6 и 17,6%; $p=0,35$). Различий в частоте повышения активности *аланинаминотрансферазы* (АлАТ) более чем в 2,5 раза в группах не отмечено (28,6% в группе КГВ и 25,5% в группе КГ; $p=0,78$).

Основным клиническим проявлением КГВ было поражение кожи, которое отмечалось у всех пациентов этой группы: у 19 — пальпируемая пурпура, преимущественно на коже голеней,

у одного — узловатая эритема, у одного — язвы небольшого размера на голених и кистях и сетчатое ливедо на коже голених, у 2 пациентов, помимо пурпуры, был синдром Рейно.

У 12 (57%) пациентов в рамках КГВ наблюдалось поражение суставов: у 8 — артралгии, у 3 — артриты крупных суставов, у одного — серопозитивный ревматоидный артрит. Частым проявлением КГВ было поражение почек (у 47,6% больных): хронический гломерулонефрит с сохраненной либо нарушенной функцией почек у 7 пациентов, хроническая болезнь почек у 2, интерстициальный нефрит у одного пациента. Для пациентов группы КГВ также была характерна *артериальная гипертензия* (АГ), отмеченная у 47,6% (в группе КГ — у 27,5%; $p=0,01$). У 7 (33,3%) пациентов с КГВ имелись признаки поражения нервной системы, представленные периферической сенсорной или смешанной нейропатией, у одной пациентки был синдром Гийена—Барре. У одного пациента с КГВ был диагностирован интерстициальный фиброз легких.

Взаимосвязь полиморфизма генов эндотелиальной дисфункции с развитием и клиническими проявлениями КГВ при ХГС

Полиморфизм гена NOS3 894 G/T

Мутантная аллель Т гена NOS3 894 G/T была более распространена среди пациентов с КГВ (у 31 и 22,3% соответственно; $p=0,28$; ОШ=1,558; 95%ДИ=0,69–3,519). Среди пациентов этой группы также достоверно чаще отмечалось носительство мутантной аллели данного гена в гетерозиготном состоянии (у 52,4 и 27,7%; $p=0,05$; ОШ=2,88; 95%ДИ=0,99–8,38). Достоверных различий по числу носителей аллели Т в гомозиготном состоянии между группами не выявлено (4,8% в группе КГВ и 8,5% в группе КГ; $p=1,00$).

При выполнении теста отношения правдоподобия наилучшей моделью для гена NOS3 894 G/T оказалось супердоминирование ($p=0,051$), т.е. риск развития васкулита в большей степени увеличивался при наличии мутантной аллели в гетерозиготном состоянии.

Для дальнейшего сравнения из обеих групп были выделены пациенты с ДЗ 20–45 лет (10 пациентов из группы КГВ и 25 — из группы КГ) с целью нивелирования времени, прошедшего от момента инфицирования, как фактора развития КГВ.

При сравнении групп пациентов с сопоставимой ДЗ среди пациентов группы КГВ чаще отмечалось носительство мутантной аллели Т гена NOS3 (35 и 22,9% соответственно; $p=0,3$).

Полиморфизм гена CУВА 242 С/Т

Мутантная аллель Т гена CУВА 242 С/Т была более распространена в группе пациентов с КГ,

чем в группе КГВ (31,82 и 18,42% соответственно; $p=0,123$; ОШ=0,484; 95%ДИ=0,19–1,232). В группе КГ также было больше пациентов, гетерозиготных по гену CУВА (20,46 и 15,8%; $p=0,76$; ОШ=0,27%; 95%ДИ=0,07–1,07). Носительство генотипа ТТ в обеих группах отмечалось с сопоставимой частотой (11,35% в группе КГ и 10,5% в группе КГВ; $p=1,00$). Достоверных различий между группами для данного гена не выявлено.

При сравнении пациентов с сопоставимой ДЗ различий по частоте встречаемости мутантной аллели гена CУВА среди пациентов обеих групп не установлено (30% в группе КГВ и 26% больных с КГ; $p=0,74$).

Полиморфизм гена МТНFR677 С/Т

В обеих группах было почти одинаковое число пациентов—носителей мутантной аллели гена МТНFR 677 С/Т (31% в группе КГВ и 26,47% в группе КГ; $p=0,585$; ОШ=1,245; 95%ДИ=0,566–2,739). Значимых различий в распределении генотипов по гену МТНFR 677 С/Т среди пациентов обеих групп не выявлено. При сравнении групп с сопоставимой ДЗ среди пациентов группы КГВ чаще встречались носители мутантной аллели Т гена МТНFR (30% против 26%; $p=0,74$).

При сравнении групп пациентов с сопоставимой ДЗ у пациентов с КГВ чаще выявляли не только мутантную аллель Т гена NOS3 894 G/T, но и гетерозиготность (50% против 20,83%; $p=0,12$).

Полиморфизм гена ITGA2 807 С/Т

Среди пациентов с КГВ было меньшее число носителей мутантной аллели Т гена ITGA2 807 С/Т (26,3% против 46% в группе КГ; $p=0,0354$; ОШ=0,419; 95%ДИ=0,184–0,954), однако гомозиготность по мутантной аллели отмечалась реже (5,3% против 24%; $p=0,094$; ОШ=0,419; 95%ДИ=0,184–0,954). При сравнении групп с сопоставимой ДЗ мутантную аллель Т также реже выявляли у пациентов с КГВ (30% против 54%; $p=0,071$). Шесть (25%) пациентов группы КГ были гомозиготны по данной мутантной аллели, в то время как среди пациентов с васкулитом гомозиготность не наблюдалась.

Полиморфизм гена ITGB31565 Т/С

В группе КГВ было более распространено носительство мутантной аллели С гена ITGB3 1565 Т/С (27,5% против 14% соответственно; $p=0,06$; ОШ=2,33; 95%ДИ=0,952–5,702), а также гетерозиготности (35% против 28%; $p=0,57$; ОШ=1,38; 95%ДИ=0,46–4,19) и гомозиготности (10% против 0; $p=0,094$) по мутантной аллели С.

Мутантную аллель С также чаще обнаруживали у пациентов с КГВ при сравнении групп с сопоставимой ДЗ, различия были высокодостоверны (45% против 8,33%; $p=0,0005$; ОШ=9,00; 95%ДИ=2,332–34,733). Это было обусловле-

Таблица 1

Баллы, присваиваемые генотипам генов NOS3, ITGA2 и ITGB3

Генотип \ Ген	NOS3894 G/T	Генотип \ Ген	ITGA2807 C/T	Генотип \ Ген	ITGB31565 T/C
GG	0	CC	2	TT	0
GT	2	CT	1	TC	1
TT	0	TT	0	CC	2

Таблица 2

Сочетанное влияние на развитие криоглобулонемического васкулита полиморфизма генов NOS3, ITGA2 и ITGB3, абс. число (%) пациентов с суммарным баллом по генотипам генов NOS3, ITGA2 и ITGB3

Показатель	Суммарный балл						p
	0	1	2	3	4	5	
ХГС+КГВ (n=19)	1 (5,3)	0	4 (21)	6 (31,6)	5 (26,3)	3 (15,8)	0,0138
ХГС+КГ (n=45)	8 (17,8)	14 (31,1)	10 (22,2)	4 (8,9)	6 (13,3)	3 (6,7)	

Примечание. В табл. 2 и 3 полужирным шрифтом выделены достоверные данные.

Таблица 3

Результаты однофакторного и многофакторного анализов: сравнение групп КГВ и КГ по клинико-демографическим показателям и суммарному баллу

Показатель	Однофакторный анализ, ОШ (95%ДИ)	Многофакторный анализ, ОШ (95%ДИ)
Возраст	1,06 (1,009–1,11)	1,05 (0,946–1,16)
Пол	3,87 (0,98–15,2)	4,26 (0,346–52,59)
ДЗ	1,05 (1,005–1,1)	1,01 (0,935–1,098)
ПГ	2,55 (0,86–7,53)	1,046 (0,21–5,21)
АсАТ>2,5 N	1,87 (0,56–6,26)	1,6 (0,138–18,62)
АлАТ>2,5 N	1,17 (0,37–3,72)	1,98 (0,18–21,8)
Суммарный балл	1,84 (1,21–2,79)	2,14 (1,214–3,77)

но большим числом носителей как гетерозиготного (50% против 16,7%; $p=0,085$; ОШ=5,00; 95%ДИ=0,97–25,77), так и гомозиготного (20% против 0; $p=0,08$) генотипов по мутантной аллели в данной группе.

Прогностическое значение совместного влияния на развитие криоглобулонемического васкулита полиморфизма генов NOS3, ITGA2 и ITGB3

Учитывая тот факт, что при сравнении групп КГВ и КГ, в том числе пациентов с сопоставимой ДЗ, наиболее значимые различия выявлены по генам NOS3, ITGA2 и ITGB3, была разработана схема, в которой учтено носительство пациентами различных генотипов данных генов. Каждому генотипу присуждали определенный балл, затем баллы по трем генам для каждого пациента суммировали. Наибольший балл присваивали генотипам, по полученным нами данным, ассоциированным с риском развития васкулита у пациентов с КГ (табл. 1).

В группе КГВ преобладали пациенты с более высоким суммарным баллом (3–5), в то время как в группе КГ чаще регистрировали суммарные баллы 0–1 ($p=0,0138$) (табл. 2).

Проводили однофакторный анализ и многофакторный – методом логистической регрессии с включением следующих переменных: пол, возраст, ДЗ от факторов риска заражения ВГС, наличие ПГ, концентрация АсАТ и АлАТ в сыворотке крови более 2,5 нормы и суммарный балл. При однофакторном анализе с риском развития КГВ были ассоциированы возраст (ОШ=1,06; 95%ДИ=1,009–1,11), ДЗ (ОШ=1,05; 95%ДИ=1,005–1,1) и суммарный балл (ОШ=1,84; 95%ДИ=1,21–2,79). При многофакторном анализе независимым предиктором развития КГВ являлся лишь суммарный балл (ОШ=2,14; 95%ДИ=1,214–3,77). Данные, полученные при проведении однофакторного и многофакторного анализов, представлены в табл. 3.

Значение полиморфизма исследуемых генов в развитии симптомов КГВ

Из 21 пациента с КГВ у 10 (47,6%) имелось поражение почек. В группе КГВ с поражением почек было меньше пациентов—носителей мутантной аллели Т гена NOS3 894 G/T, чем в группе КГ (15% против 45,5% соответственно; $p=0,035$). Различий по частоте встречаемости аллелей и генотипов гена CYBA 242 C/T между группами не выявлено. Мутантная аллель Т гена MTHFR 677 C/T была менее распространена среди пациентов с поражением почек, чем среди больных без него (20% против 41%; $p=0,19$). Среди пациентов с КГВ и поражением почек мутантная аллель Т гена ITGA2 807 C/T была менее распространена, чем в группе КГ (19% и 32% соответственно; $p=0,47$), а также чаще отмечалась гомозиготность по дикой аллели (62% против 45%; $p=0,65$).

В группе больных с поражением почек почти в 2 раза чаще обнаруживали мутантную аллель С гена ITGB3 1565 T/C (38,9% против 18,2%; $p=0,17$), а также гомозиготность по мутантной аллели (22% против 0; $p=0,19$).

У 10 (47,6%) пациентов из группы КГВ наблюдалась АГ. Среди пациентов с АГ реже выявлялись мутантные аллели генов NOS3 894 G/T (25% против 36,4%; $p=0,51$), CYBA 242 C/T (6,25% против 27,4%; $p=0,2$) и MTHFR 677 C/T (25% против 36,4%; $p=0,51$). В группе КГВ с АГ было меньше пациентов с гетерозиготностью по гену NOS3 (30% против 72,7% в группе без АГ; $p=0,086$) и больше — с гомозиготностью по дикой аллели (60% против 27,3%; $p=0,095$). В этой группе были также более распространены мутантные аллели генов ITGA2 807 C/T (35% против 16,7%; $p=0,28$) и ITGB3 1565 T/C (30% против 25%; $p=1,00$).

Обсуждение результатов исследования

По данным литературы, КГВ развивается лишь у 10–15% пациентов с КГ [6]. Meltzer и соавт. в 1966 г. описали классическую триаду признаков васкулита (кожная пурпура и/или язвы на ногах, артралгии и слабость), к которой позднее были добавлены мембранопролиферативный гломерулонефрит и периферическая нейропатия [1, 2, 6]. В проведенном нами исследовании васкулит у всех пациентов был представлен поражением кожи, у 12 (57%) пациентов наблюдались заболевания суставов. По данным литературы, суставы вовлекаются в патологический процесс у 24–90% пациентов с КГВ [8–10]. Частота поражения почек среди пациентов с КГВ в нашей выборке была несколько выше (47,6%), чем по данным других авторов — 20–30% [4]. У 7 (33,3%) пациентов с КГВ наблюдалось поражение нервной

системы. Согласно данным литературы, частота поражения нервной системы при КГВ достигает 60–80% [8, 11, 12].

Нами был проведен сравнительный анализ групп пациентов с КГВ и КГ, не соответствующей критериям васкулита, с целью выявления наиболее значимых для развития васкулита и его проявлений аллельных вариантов генов ЭД и системы свертывания крови. До настоящего времени проведено лишь небольшое число исследований по изучению тромбофилических дефектов и ЭД при КГВ. Исследования чаще посвящены установлению этиологии феномена КГ при ХГС, а не причин развития КГВ и его клинических проявлений.

В нашей выборке мутантная аллель Т гена NOS3 894 G/T была более распространена среди пациентов с КГВ (31% против 22,3% в группе КГ; $p=0,28$). При этом различие было обусловлено большим числом пациентов с генотипом GT в группе КГВ (52,4% против 27,66%; $p=0,05$), в то время как частота выявления генотипа TT была одинаковой в обеих группах. Тест отношения правдоподобия показал, что риск увеличился при носительстве гетерозиготного генотипа, но не гомозиготного. С генетической точки зрения наиболее вероятно, что в подобных случаях имеет значение «доза гена» (генетический термин, Самоходская Л.М.), т.е. каждая мутантная аллель увеличивает риск. Это соотносится с данными других авторов, которые сообщают о меньшей активности eNOS и увеличении риска развития патологических состояний при носительстве генотипа GT в большей степени, чем при носительстве генотипа TT [13, 14]. При этом ожидаемой была бы большая встречаемость генотипа TT в группе КГВ, однако подобное различие не установлено, что можно объяснить небольшим числом пациентов в сравниваемых группах и еще меньшей встречаемостью генотипа TT.

Различия групп по распространенности мутантной аллели гена NOS3 несколько увеличились при сравнении пациентов с сопоставимой ДЗ (от 20 до 45 лет) (35% в группе КГВ против 22,9% в группе КГ; $p=0,3$). Данных об изучении полиморфизма гена NOS3 при КГ и КГВ в литературе не найдено.

При сравнении групп КГВ и КГ по распределению аллелей и генотипов генов ЭД CYBA 242 C/T и MTHFR 677 C/T значимых различий не выявлено, в том числе для групп пациентов с сопоставимой длительностью заболевания.

В нашей выборке пациентов с КГВ достоверно реже встречались мутантная аллель Т гена ITGA2 807 C/T (26,3% против 46%; $p=0,0354$), а также гомозиготность по мутантной аллели (5,3% против 24%; $p=0,094$). При сравнении групп с сопоставимой ДЗ различия по гену ITGA2 увеличились, однако утратили достоверность

(30% против 54%; $p=0,071$). Тем не менее полученные данные позволяют предположить протективную роль полиморфизма гена ITGA2 807 C/T в развитии КГВ у пациентов с КГ. Механизм подобного эффекта неясен, так как при повышенной экспрессии рецепторов гликопротеина Ia на мембране тромбоцитов увеличивается риск возникновения тромботических осложнений. В литературе, в частности, показана связь наличия аллели T с риском развития ишемического инсульта, инфаркта миокарда, атеросклероза, особенно в молодом возрасте [15]. Полиморфизм данного гена при КГВ изучен впервые, в связи с чем необходимо дальнейшее проведение исследований.

В группе КГВ чаще выявляли мутантную аллель C гена ITGB3 1565 T/C (27,5% против 14%; $p=0,06$), а также гетерозиготность (35% против 28%; $p=0,57$) и гомозиготность (10% против 0; $p=0,094$) по данной аллели. При сравнении пациентов с сопоставимой ДЗ различия не только увеличились, но и стали высокодостоверными (45% против 8,33%; $p=0,0005$; ОШ=9,002; 95%ДИ=2,332–34,733). Таким образом, данный полиморфизм представляет наибольший интерес и, возможно, является фактором риска развития васкулита. Известно, что тромбоциты у носителей аллели C имеют более низкий порог агрегации, высвобождения α -гранул, активации гликопротеина IIb/IIIa и связывания фибриногена. Однонуклеотидная замена 1565 T/C изучена преимущественно при заболеваниях сердца и сосудов, а также в психиатрии. Результаты не всегда однозначны. Так, исследования показали более высокую частоту встречаемости мутации гена ITGB3 1565 T/C среди молодых пациентов с *ишемической болезнью сердца* (ИБС), однако распространенность данной замены в целом среди пациентов с ИБС не отличается от таковой в общей популяции [16]. В литературе данных об исследованиях, посвященных изучению полиморфизма гена ITGB3 при КГВ, не найдено.

Учитывая выявленные различия, была предложена система балльной оценки для каждого пациента по трем наиболее значимым полиморфизмам: NOS3 894 G/T, ITGA2 807 C/T и ITGB3 1565 T/C. В группе КГВ достоверно чаще получали более высокие суммарные баллы (от 3 до 5). Кроме того, суммарный балл оказался независимым фактором риска при многофакторном анали-

зе на фоне таких параметров, как возраст, пол, длительность заболевания, выраженность синдрома цитолита и ПГ.

У пациентов с поражением почек достоверно реже обнаруживали аллель T гена NOS3 894 G/T (15% против 45,5%; $p=0,035$). Ее также со склонностью к статистической достоверности реже выявляли у пациентов с АГ (30% против 72,7%; $p=0,086$). Мутантная аллель гена MTHFR 677 C/T была менее распространена в группе КГВ, однако носительство генотипа CT чаще наблюдалось среди пациентов с КГВ, что свидетельствует о протективной роли мутантной аллели в гомозиготном состоянии. Этот вывод не согласуется с данными, полученными в исследовании M. Casato и соавт. [11], в котором гипергомоцистеинемия (ассоциированная с мутацией по гену MTHFR) коррелировала с наличием нефропатии и повышенным уровнем креатинина в сыворотках крови пациентов.

У пациентов с поражением почек реже выявляли полиморфизм гена ITGA2 807 C/T, что позволяет предположить его возможную протективную роль в развитии не только КГВ, но и поражения почек.

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о различном вкладе полиморфизма изученных генов в развитие КГВ и его клинических проявлений. Так, генотипы GT гена NOS3 894 G/T, CC гена ITGB3 1565 T/C, очевидно, можно рассматривать в качестве факторов риска развития КГВ, в то время как генотип TT гена ITGA2 807 C/T продемонстрировал протективный эффект. Также установлено, что суммарный балл, рассчитанный, исходя из наличия мутантных аллелей генов NOS3 894 G/T, ITGA2 807 C/T и ITGB3 1565 T/C, является независимым предиктором развития КГВ. Применение полученных данных может помочь в индивидуальной оценке прогноза для пациентов с ХГС и феноменом КГ и при выборе терапевтической стратегии.

Исследование выполнено в рамках Государственного задания в Медицинском научно-образовательном центре МГУ им. М.В. Ломоносова.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Список литературы/References

1. Милованова С.Ю., Козловская Л.В., Гордовская Н.Б. Полиморфизм клинических проявлений криоглобулинемического васкулита, ассоциированно-

го с хроническим гепатитом С. Альманах клин мед 2014;30:46-51 [Milovanova S.Yu., Kozlovskaya L.V., Gordovskaya N.B. Polymorphism of clinical manifestations of hepatitis C virus-associated cryoglobulinemia vasculitis. Almanakh klin med 2014;30:46-51].

2. Мухин Н.А., Козловская Л.В., Малышко Е.Ю. Криоглобулинемический нефрит, ассоциированный с хронической инфекцией вируса гепатита С. Тер арх 2000; 6:5-9 [Mukhin N.A., Kozlovskaya L.V., Malysheko Ye.Yu. Hepatitis C virus-associated Cryoglobulinemic nephritis associated with chronic hepatitis C virus infection. Ter arkh 2000;6:5-9].
3. Игнатова Т.М., Мухин Н.А., Серов В.В., Апросина З.Г., Милованова С.Ю. HCV-инфекция и смешанная криоглобулинемия. Клиническая медицина 2005;6(83):37-43 [Ignatova T.M., Mukhin N.A., Serov V.V., Aprosina Z.G., Milovanova S.Yu. HCV-infection and mixed cryoglobulinemia. Klin med 2005;6(83):37-43].
4. Таратина О.В., Самоходская Л.М., Краснова Т.Н., Мухин Н.А. Связь полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной дисфункции с формированием и тяжестью портальной гипертензии у больных хроническим гепатитом С. Альманах клинической медицины 2016; 6(44):698-712 [Taratina O.V., Samokhodskaya L.M., Krasnova T.N., Mukhin N.A. Association of genetic polymorphism of the renin-angiotensin system and endothelial dysfunction with development and severity of portal hypertension at chronic hepatitis C. Almanakh klin med 2016;6(44):698-712].
5. De Vita S., Soldano F., Isola M., et al. Preliminary classification criteria for the cryoglobulinaemic vasculitis. Ann Rheum Dis 2011; 70(7):1183-90.
6. Sansonno D., Dammacco F. Hepatitis C virus, cryoglobulinaemia, and vasculitis: immune complex relations. Lancet Infect Dis 2005;5:227-36.
7. Sansonno D., Carbone A., De Re V., Dammacco F. Hepatitis C virus infection, cryoglobulinaemia, and beyond. Rheumatology 2007;46(4):572-8.
8. Ramos-Casals M., Stone J.H., Cid M.C., Bosch X. The cryoglobulinaemias. Lancet 2012; 379:348-60.
9. Dammacco F., Sansonno D., Piccoli C., Tucci F.A., Racanelli V. The cryoglobulins: An overview. Eur J Clin Invest 2001;31:628-38.
10. Leone N., Pellicano R., Ariata Maiocco I., Modena V., Marietti G., Rizzetto M., Ponzetto A. Mixed cryoglobulinaemia and chronic hepatitis C virus infection: the rheumatic manifestations. J Med Virol 2002;66(2):200-3.
11. Casato M., Carlesimo M., Francia A., Timarco C., Antenucci A., Bove M., Martini H., Visentini M., Fiorilli M., Conti L. Influence of inherited and acquired thrombophilic defects on the clinical manifestations of mixed cryoglobulinaemia. Rheumatology 2008;47:1659-63.
12. Dammacco F., Sansonno D. Therapy for Hepatitis C Virus-Related Cryoglobulinemic Vasculitis. N Engl J Med 2013;369(11):1035-45.
13. Ahsan A. Heterozygotes of NOS3 polymorphisms contribute to reduced nitrogen oxides in high-altitude pulmonary edema. Chest 2006;130(5):1511-9.
14. Godfrey V., Chan S.L., Cassidy A., Butler R., Choy A., Fardon T., Struthers A., Lang C. The functional consequence of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in young healthy volunteers. Cardiovasc Drug Rev 2007;25(3):280-8.
15. Lu J.X., Lu Z.Q., Zhang S.I., Zhi J., Chen Z.P., Wang W.X. Polymorphism in Integrin ITGA2 is Associated with Ischemic Stroke and Altered Serum Cholesterol in Chinese Individuals. Balk Med J 2014;31(1):55-9.
16. Verdoia M., Cassetti E., Schaffer A., Giovine G.D., De Luca G. Division Platelet glycoprotein IIIa Leu33P gene polymorphism and coronary artery disease: A meta-analysis of cohort studies. Platelets 2015;26(6):530-5.