

Значение полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы в прогрессировании фиброза печени у больных хроническим гепатитом С

О. В. Таратина¹, Т. Н. Краснова^{1,2}, Л. М. Самоходская¹,
Т. Н. Лопаткина², В. А. Ткачук¹, Н. А. Мухин^{1,2}

¹ Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

² ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ

Polymorphism of renin — angiotensin system genes in progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C

O.V. Taratina¹, T.N. Krasnova^{1,2}, L.M. Samokhodskaya¹, T.N. Lopatkina²,
V.A. Tkachuk¹, N.A. Mukhin^{1,2}

¹ Faculty of fundamental medicine, Lomonosov Moscow state university.

² State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university», Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Таратина Олеся Валериевна — младший научный сотрудник, факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова. Контактная информация: taratina@front.ru, taratina@fbm.msu.ru

Taratina Olesya V. — junior researcher, faculty of fundamental medicine, Lomonosov Moscow state university. Contact information: taratina@front.ru, taratina@fbm.msu.ru

Краснова Татьяна Николаевна — кандидат медицинских наук, доцент. Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова».

Контактная информация: krasnovamgu@yandex.ru

Krasnova Tatyana N. — MD, senior lecturer. Faculty of fundamental medicine, Lomonosov Moscow state university, State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university». Contact information: krasnovamgu@yandex.ru

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

Samokhodskaya Larisa M. — MD, senior lecturer. Faculty of fundamental medicine, Lomonosov Moscow state university. Contact information: slm@fbm.msu.ru

Лопаткина Татьяна Николаевна — кандидат медицинских наук, доцент.

ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова». Контактная информация: lopatkina-tn@mail.ru

Lopatkina Tatyana N. — MD, senior lecturer. State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university». Contact information: lopatkina-tn@mail.ru

Ткачук Всеволод Арсеньевич — доктор биологических наук, профессор, академик РАН.

Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова. Контактная информация: info@fbm.msu.ru

Tkachuk Vsevolod A. — Dr.Sci.Biol., professor, academician of the Russian Academy of Science.

Faculty of fundamental medicine, Lomonosov Moscow state university.

Contact information: info@fbm.msu.ru

Мухин Николай Алексеевич — доктор медицинских наук, профессор, академик РАН.

Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова,

ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова». Контактная информация: moukhin-nephro@yandex.ru

Mukhin Nikolay A. — MD, PhD, professor, academician of the Russian Academy of Science.

Faculty of fundamental medicine, Lomonosov Moscow state university. State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university».

Contact information: moukhin-nephro@yandex.ru

Цель исследования. Оценить связь полиморфизма генов, кодирующих компоненты ренин-ангиотензиновой системы (AGT G-6A, AGT M235T и ATR1 A1166C) со скоростью прогрессирования фиброза печени у больных *хроническим гепатитом С* (ХГС).

Материал и методы. Участвовавшие в исследовании 109 больных ХГС и циррозом печени С с установленными стадией фиброза и длительностью заболевания были разделены на группу с «быстро прогрессирующим фиброзом» (55 человек, $\geq 0,130$ ед. фиброза/год) и группу с «медленно прогрессирующим фиброзом» (54 человека, $< 0,130$ ед. фиброза/год). Определение полиморфизма исследуемых генов проводилось молекулярно-генетическими методами.

Результаты. У больных ХГС с «быстро прогрессирующим фиброзом» по сравнению с группой «медленно прогрессирующего фиброза» достоверно чаще встречались минорная А-аллель (50,0 и 33,3% соответственно, $p=0,0126$) и «мутантный» АА-генотип (27,3 и 11,1%, $p=0,0324$; ОШ АА=3,00; 95% ДИ 1,07–8,45) гена AGT по локусу G-6A, а также минорная Т-аллель ($p=0,0407$) гена AGT по локусу M235T и значимо реже — ММ генотип полиморфизма M235T гена AGT (20,8 и 44,4% соответственно, $p=0,0090$; ОШ ММ=0,33; 95% ДИ 0,15–0,73). Достоверных отличий между группами в распределении вариантных аллелей и генотипов гена ATR1 по локусу A1166C выявлено не было.

Заключение. Носительство мутантных аллелей гена ангиотензиногена по любому из локусов (G-6A или M235T) является фактором, прогнозирующим более быстрое прогрессирование заболевания. Поскольку хронический гепатит С — многофакторное заболевание, целесообразно использовать анализ аллельных вариантов гена ангиотензиногена в разработке персонализированного подхода к ведению больных ХГС.

Ключевые слова: хронический гепатит С, ренин-ангиотензиновая система, генетический полиморфизм.

Aim of investigation. To estimate relation of polymorphism of genes encoding renin-angiotensin system components (AGT G-6A, AGT M235T and ATR1 A1166C) with rate of liver fibrosis progression in patients with *chronic hepatitis C* (CHC).

Material and methods. Overall 109 patients with CHC and liver cirrhosis C with established stage of fibrosis and duration of disease have been divided into group of «rapidly progressing fibrosis» (55 patients, $\geq 0,130$ fibrosis points/year) and «slowly progressing fibrosis» (54 persons, $< 0,130$ fibrosis units/year). Assessment of polymorphism of studied genes was carried out by molecular genetic methods.

Results. In CHC patients of «rapidly progressing fibrosis» group in comparison to «slowly progressing fibrosis» group minor A-allele (50,0 and 33,3% respectively, $p=0,0126$) and «mutant» AA-genotype (27,3 and 11,1%, $p=0,0324$; OR AA=3,00; 95% CI 1,07-8,45), AGT gene on locus G-6A, as well as minor T-allele ($p=0,0407$) of AGT gene in M235T locus were significantly more common while MM genotype of M235T polymorphism of AGT gene (20,8 and 44,4%, respectively, $p=0,0090$; OR MM=0,33; 95%-CI 0,15–0,73) were significant less frequent. No significant differences between groups in distribution of alternative alleles and genotypes of ATR1 gene on A1166C locus have been revealed.

Conclusion. Carriage of mutant alleles of angiotensinogen gene on any of loci (G-6A or M235T) is the factor predicting more rapid progression of disease. As chronic hepatitis C is multifactorial disease, it is rational to use testing of allelic variants of angiotensinogen gene in patient-specific approach at CHC management.

Key words: chronic hepatitis C, renin-angiotensin system, genetic polymorphism.

Проблема *хронического гепатита С* (ХГС) остается актуальной в связи с его широкой распространенностью, отсутствием вакцинопрофилактики, недостаточной эффективностью современных методов лечения и частотой развития *цирроза печени* (ЦП) и *гепатоцеллюлярного рака* (ГЦР) [3]. В настоящее время внимание исследователей в большей степени привлечено к предикторам эффективности *противовирусной терапии* (ПВТ) и факторам риска развития фиброза при ХГС, чем к фенотипам болезни (клинической характеристике, лабораторным показателям, особенностям течения, прогнозу). Появилась настоятельная необходимость выявлять группы больных, которым показана «незамедлительная» ПВТ для снижения риска трансформации фиброза в ЦП и развития ГЦР.

Установлено, что употребление алкоголя, мужской пол, раса (не европейская), возраст старше 40 лет к моменту инфицирования, нарушение обмена железа, ожирение и метаболический синдром, иммуносупрессивная терапия, а также коинфекция ВИЧ или гепатита В ускоряют формирование фиброза и цирроза печени при ХГС [2, 5, 11, 37]. Для конкретного больного ни один из перечисленных клинических или демографических признаков, а также их сочетание не обладают высокой прогностической ценностью [38]. К решению этой проблемы позволило приблизиться развитие новых технологий в медицине, в первую очередь генетических исследований [11], в частности, изучение полиморфизма генов, контролирующих процессы апоптоза, воспаления, фиброза и функциональное состояние эндотелия. Так, анализ полиморфизма

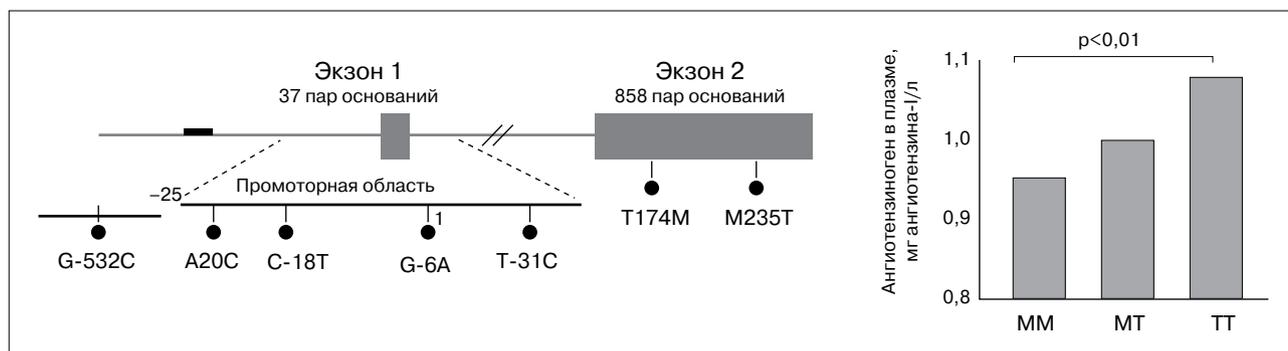


Рис. 1. Основные полиморфные участки гена ангиотензиногена и связь его полиморфизма M235T с концентрацией ангиотензина-I в плазме (по [27])

генов интерлейкина 28В и белка IP10 помогает выявить среди больных ХГС с 1-м генотипом HCV РНК группу с потенциально высокой эффективностью стандартной терапии, а мутация гена, кодирующего инозинтрифосфатазу, прямо коррелирует с развитием рибавирин-индуцированной анемии [4, 8, 17, 18, 20, 34].

Н. Huang и соавт. на основе точечных нуклеотидных замен (SNPs) в 7 генах разработали шкалу риска развития цирроза (Cirrhosis Risk Score), которая может прогнозировать прогрессирование фиброза лучше, чем клинические параметры. Эта шкала была получена методом полногеномного скрининга аллельных ассоциаций, и роль в фиброгенезе 5 из 7 выявленных генов до сих пор неизвестна [25]. Другим подходом является поиск генов-кандидатов из числа тех, что кодируют медиаторы, вовлеченные в известные звенья фиброгенеза в печени, такие как интерлейкины, гемоферритин или NAD (P) H-оксидаза [1, 7, 9].

В развитии фиброза большое значение имеют процессы активации локальной тканевой системы ангиотензина-II, все ключевые компоненты которой при ХГС экспрессируются в поврежденной печени: ангиотензиноген, *ангиотензин-превращающий фермент* (АПФ) и химаза, сам ангиотензин-II и его рецепторы 1-го (AT 1-Рц) и 2-го типа (AT 2-Рц) [14, 22, 31, 35]. Связывание ангиотензина-II с AT 1-Рц способствует пролиферации и миграции активированных звездчатых клеток печени, секреции ими провоспалительных цитокинов и синтезу коллагена [13, 15]. Напротив, связывание ангиотензина-II с AT 2-Рц ингибирует окислительный стресс и фиброгенез [12]. При активации звездчатых клеток печени (*in vitro* и *in vivo*) значительно повышается экспрессия в них AT 1-Рц, в то время как экспрессия AT 2-Рц остается крайне низкой, на гепатоцитах также доминируют рецепторы первого типа [12]. Поэтому повышение концентрации ангиотензина-II в печеночной ткани приводит к фиброгенезу [14]. Генетическое же или фармакологическое (ингибиторами АПФ и/или антагонистами AT1-Рц) блокирование *ренин-ангиотензиновой системы* (РАС) замедляет фиброгенез [23, 28, 30, 44].

В литературе описано множество полиморфных сайтов гена AGT, кодирующего ангиотензиноген — предшественник ангиотензинов. Мыши с делецией гена AGT устойчивы к развитию фиброза [16]. Хорошо изучены нуклеотидные замены M235T и G-6A в промоторном участке, которые часто сцеплены между собой [27] (рис. 1). Нуклеотидная замена гуанина на аденин в проксимальной промоторной области гена AGT (G-6A) повышает экспрессию гена AGT и ассоциируется с увеличением синтеза ангиотензиногена и, как следствие, ангиотензинов у носителей А-аллели [26]. Замена нуклеотида тимина (Т) на цитозин (С) во 2-м экзоне этого гена (Т803С) приводит к замене аминокислоты метионина (М) на треонин (Т) в позиции 235 белкового продукта (M235T). Аллель 235T AGT ассоциируется с резким увеличением уровня циркулирующего ангиотензина-II — его концентрация в плазме гомозигот ТТ на 15–40% выше, чем у гомозигот ММ [27] (см. рис. 1).

Рецептор 1-го типа к ангиотензину II — основной рецептор ангиотензинов — кодируется геном ATR1. Полиморфизм гена ATR1 A1166C заключается в точечной замене аденина на цитозин в позиции 11663' нетранслирующей области гена ATR1 — в цис-регуляторном сайте. В норме этот участок распознается специфической микроРНК (miR-155), подавляющей экспрессию гена. Когда присутствует 1166С-аллель, способность miR-155 взаимодействовать с регуляторным сайтом снижается, вследствие чего возрастает экспрессия гена, что приводит к увеличению плотности AT 1-Рц.

Цель данного исследования — оценить связь полиморфизма генов, кодирующих компоненты ренин-ангиотензиновой системы (AGT G-6A, AGT M235T и ATR1 A1166C) со скоростью прогрессирования фиброза печени у больных ХГС.

Материал и методы исследования

В исследование были включены 109 больных хроническим гепатитом С, в том числе с наличием цирроза печени в его исходе, наблюдавшихся в гепатологическом отделении Клиники нефроло-

гии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева ПМГМУ им. И.М. Сеченова в период с января 2002 г. по январь 2012 г. Критериями включения служили наличие ХГС или ЦПС, установленные стадия фиброза и длительность заболевания, принадлежность к европеоидной расе, а также подписанное информированное согласие на участие в исследовании. Критерием исключения было наличие одного или нескольких дополнительных факторов поражения печени (злоупотребления алкоголем, сочетанной инфекции вирусами гепатита В, дельта или ВИЧ, болезни Вильсона—Коновалова, аутоиммунного гепатита, первичного билиарного цирроза, первичного склерозирующего холангита или наследственного гемохроматоза). В качестве группы сравнения участвовали 299 здоровых доноров крови — мужчин и женщин, не имевших маркёров ВГС и других этиологических факторов поражения печени, с нормальным сывороточным уровнем билирубина и трансаминаз.

Стадия фиброза у 89 из 109 больных, включенных в исследование, установлена при биопсии печени с полуколичественной оценкой его по шкале METAVIR; 8 больным была проведена эластометрия печени с помощью аппарата «Фиброскан» («Echosens», Франция) — в 2 случаях данные эластометрии были подтверждены результатами «Фиброактитеста» (BioPredictive, Франция); еще у 12 больных с общепринятыми клинико-лабораторными и инструментальными признаками ЦП стадия фиброза оценена как F4. Оценка темпа прогрессирования фиброза проводилась по формуле, предложенной Т. Роунард и соавт. [37]: *Скорость прогрессирования фиброза [ед. фиброза/год] = F/T*, где F — стадия фиброза печени по шкале METAVIR (ед. фиброза), T — длительность заболевания (годы).

Длительность заболевания определялась как период от наиболее раннего из равнозначных факторов риска (первая внутривенная инъекция наркотика, первая трансфузия цельной крови или ее компонентов, полостная операция или желтушная форма острого вирусного гепатита С) до установления стадии фиброза печени. При указании в анамнезе на наличие у больного нескольких факторов риска инфицирования отсчет начинался от того из воздействий, которое предполагает максимальный объем инфицирующего материала.

Определение полиморфизма генов AGT G-6A и ATR1 A1166C проводилось методом *полиморфизма длины рестриктных фрагментов* (ПДРФ) продуктов *полимеразной цепной реакции* (ПЦР) на термоциклере «Master Cycler Gradient» фирмы «Eppendorf» с помощью описанной в литературе структуры праймеров и соответствующих эндонуклеаз. Визуализацию результатов осуществляли путем электрофореза в 2% агарозном геле с бромистым этидием при 150 В и 290 мА. Для

определения размера фрагментов использовали стандарт размеров длин фрагментов ДНК фирмы «Life Technologies». Определение аллельных вариантов гена AGT по полиморфному сайту M235T осуществляли методом ПЦР в реальном времени (RT-PCR taqMan) на амплификаторе «Rotor-Gene-3000» фирмы «Corbett Research».

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов прикладных статистических программ «Statistica 10.0» (StatSoft Inc., США) и «Microsoft Office Excel 2007». Количественные значения с нормальным распределением были представлены в виде среднего \pm репрезентативная ошибка среднего ($M \pm m$), для их анализа использовали двухвыборочный *t*-критерий Стьюдента. Анализ качественных признаков проводили с применением двустороннего точного критерия Фишера, в таблицах сопряженности 2×3 применялся критерий χ^2 Пирсона. Также использовался критерий *отношения шансов* (ОШ) [19] и *95% доверительного интервала* для отношения шансов (95% ДИ). Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Среди обследованных больных было 30 (27,5%) мужчин и 79 (72,5%) женщин в возрасте от 18 лет до 81 года ($49,9 \pm 1,3$), из которых у 59 (54,1%) человек диагностирован ХГС на различных стадиях фиброза: у 37 (33,9%) — F1 по METAVIR, у 15 (13,8%) — F2, у 7 (6,4%) — F3. Еще у 50 (45,9%) пациентов был выявлен ЦП в исходе ХГС (F4). Высокая доля F2–F4 стадий фиброза и отсутствие стадии F0 объясняются особенностями выборки обследуемых — пациенты с манифестным течением заболевания, нуждавшиеся в стационарном лечении в специализированном гепатологическом отделении, а также целенаправленным отбором больных ЦП для получения сопоставимых по численности групп. Преобладание женщин обусловлено жесткими критериями исключения (мужчины чаще злоупотребляли алкоголем или имели коинфекцию ВИЧ или вируса гепатита В). Инфицирование происходило в возрасте от 1 года до 54 лет (в среднем $25,8 \pm 1,2$ года), предполагаемая длительность заболевания составила в среднем $20,5 \pm 1,0$ года.

У 55 пациентов (50,5%) расчетная скорость прогрессирования фиброза была $0,130$ ед. фиброза/год и выше ($0,284 \pm 0,039$). Эти лица составили группу с «быстро прогрессирующим фиброзом» (табл. 1). У 54 больных (49,5%) темп прогрессирования не достигал $0,130$ ед. фиброза/год ($0,072 \pm 0,004$), они были отнесены в группу с «медленным развитием фиброза» (см. табл. 1).

У больных с быстрым темпом развития фиброза по сравнению с группой медленно прогрессирующего фиброза достоверно чаще встречались

Таблица 1

Сравнительные демографические, клинические и лабораторные характеристики групп больных с различной скоростью прогрессирования фиброза

Признак	«Быстрый фиброз» (n=55)	«Медленный фиброз» (n=54)	p
Средний темп прогрессирования фиброза, ед. фиброза/год	0,28±0,04	0,07±0,03	0,000001
Пол, абс. число (%)			
мужчины	18 (32,7)	12 (22,2)	0,2844
женщины	37 (67,3)	42 (77,8)	
Возраст, лет	52,8±1,7	47,0±2,0	0,0318
Больные моложе 40 лет, абс. число (%)	8 (14,5)	17 (31,5)	0,0422
Женщины моложе 50 лет/все больные,%	14,5	38,9	0,0049
Больные с ЦП, абс. число (%)	40 (72,7)	10 (18,5)	<0,00001
Длительность заболевания, годы	17,1±1,1	24,0±1,4	0,0003
Максимальная активность цитолиза, нормы	4,3±1,6	2,9±1,8	0,0300
Генотип вируса, абс. число (%):			
1-й	29 (70,7)	36 (78,3)	0,4659
не 1-й	12 (29,3)	10 (21,7)	
Возраст на момент инфицирования, годы	30,9±1,5	20,7±1,5	0,000009

А аллель гена AGT по локусу G-6A (50,0 и 33,3% соответственно, $p=0,0126$; рис. 2a) и гомозиготный мутантный генотип -6AA (27,3 и 11,1% соответственно, $p=0,0324$; рис. 2б), табл. 2.

Носительство -6AA-генотипа в 3 раза повышает риск быстрого развития цирроза у больных ХГС (ОШ AA=3,00; 95% ДИ 1,07–8,45; см. табл. 2), и эффект данного генотипа на прогноз у больных ХГС можно считать негативным.

При сравнении частот аллелей и генотипов полиморфизма M235T гена AGT у пациентов с быстрым прогрессированием фиброза достоверно чаще встречалась аллель Т и реже – аллель М, чем в группе с медленно прогрессирующим фиброзом ($p=0,0407$; см. табл. 2, рис. 3a). При этом у больных с быстрым темпом развития фиброза по сравнению с группой медленного формирования

фиброза реже выявлялся «дикий» генотип MM (20,8 и 44,4% соответственно) и чаще – гетерозиготный генотип MT (50,9 и 31,5% соответственно, $p=0,0268$). При объединении генотипов TT и MT в одну подгруппу достоверность различий в распределении частот генотипов между группами возрастала ($p=0,0090$; рис. 3б). Наследование 235MM-генотипа в 3 раза понижает риск быстрой трансформации ХГС в ЦП (ОШ MM=0,33; 95% ДИ 0,12–0,94; см. табл. 2), поэтому данный генотип можно считать протективным в отношении течения ХГС.

Мы не выявили достоверных отличий в распределении вариантных аллелей и генотипов гена ATR1 по локусу A1166C между группами больных ХГС с различной скоростью прогрессирования фиброза печени (см. табл. 2).

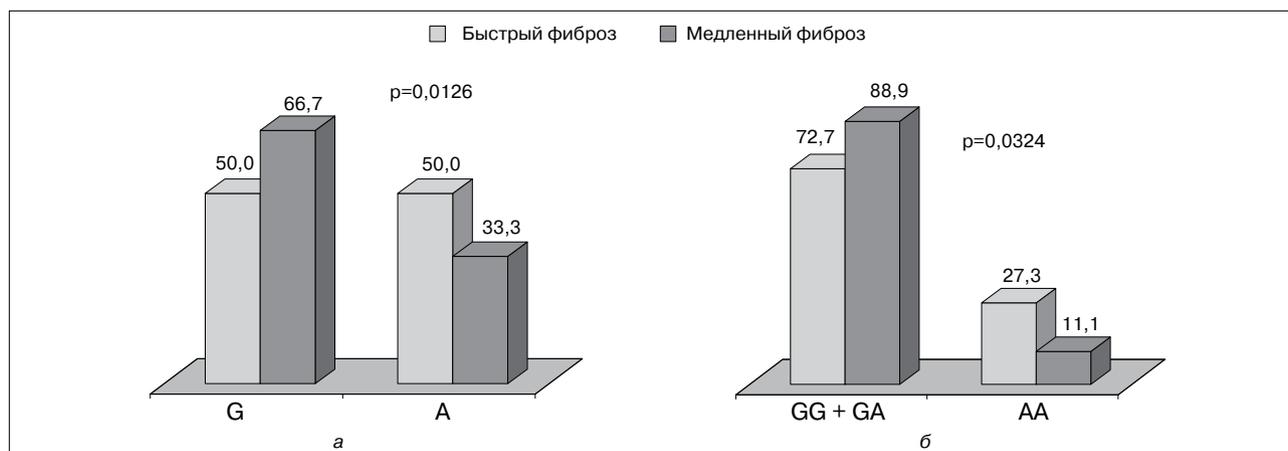


Рис. 2. Распределение аллелей (a) и генотипов (б) гена ангиотензиногена по локусу G-6A у больных ХГС с различной скоростью развития фиброза, %

Таблица 2

Распределение аллелей и генотипов генов PАС у больных ХГС с различной скоростью прогрессирования фиброза печени

Ген	Аллель/ Генотип	Быстрый фиброз, n (%)	Медленный фиброз, n (%)	p	ОШ	95% ДИ (ОШ)	Группа сравнения, n (%)
AGT G-6A	G	55 (50,0)	72 (66,7)*	0,0126	0,50	0,29–0,86	286 (47,8)*
	A	55 (50,0)	36 (33,3)*		2,00	1,16–3,46	312 (52,2)*
	GG	15 (27,3)	24 (44,4)*	0,0512	0,47	0,21–1,03	68 (22,7)*
	GA	25 (45,4)	24 (44,4)*		1,04	0,49–2,22	150 (50,2)*
	AA	15 (27,3)	6 (11,1)*		3,00	1,07–8,45	81 (27,1)*
	GG+GA	40 (72,7)	48 (88,9)*	0,0324	0,33	0,12–0,94	218 (72,9)*
	GA+AA	40 (72,7)	30 (55,6)*	0,0615	2,13	0,97–4,67	231 (77,3)*
AGT M235T	M	49 (46,2)	65 (60,2)	0,0407	0,57	0,33–0,98	311 (52,0)
	T	57 (53,8)	43 (39,8)		1,76	1,02–3,02	287 (48,0)
	MM	11 (20,8)	24 (44,4)*	0,0268	0,33	0,15–0,73	83 (27,8)*
	MT	27 (50,9)	17 (31,5)*		2,26	1,05–4,88	145 (48,5)*
	TT	15 (28,3)	13 (24,1)*		1,24	0,52–2,95	71 (23,7)*
	MM+MT	38 (71,7)	41 (75,9)	0,6189	0,80	0,34–1,91	228 (76,3)
	MT+TT	42 (79,2)	30 (55,6)*	0,0090	3,05	1,36–6,85	216 (72,2)*
ATR1 A1166C	A	90 (81,8)	79 (73,1)	0,1252	1,65	0,87–3,15	448 (74,9)
	C	20 (18,2)	29 (26,9)		0,61	0,32–1,15	150 (25,1)
	AA	38 (69,1)	30 (55,6)	0,3346	1,79	0,82–3,88	167 (55,9)
	AC	14 (25,5)	19 (35,2)		0,63	0,28–1,42	114 (38,1)
	CC	3 (5,5)	5 (9,3)		0,57	0,13–2,49	18 (6,0)
	AA+AC	52 (94,5)	49 (90,7)	0,4463	1,77	0,40–7,80	281 (94,0)
	AC+CC	17 (30,9)	24 (44,4)	0,1447	0,56	0,26–1,21	132 (44,1)

*Достоверность различий с группой сравнения ($p < 0,05$ для двустороннего теста Фишера).

Распределение генотипов и аллелей исследованных генов в обеих группах пациентов и в группе сравнения находилось в соответствии с распределением Харди–Вейнберга, что свидетельствует о репрезентативности выборки и корректности определения вариантных маркёров.

Обсуждение результатов исследования

Полиморфизм гена AGT обуславливает различную физиологическую активность ангиотензиногена в плазме (см. рис.1) и ассоциируется с ухудшением течения и прогрессированием различных заболеваний, при которых участки функциональ-

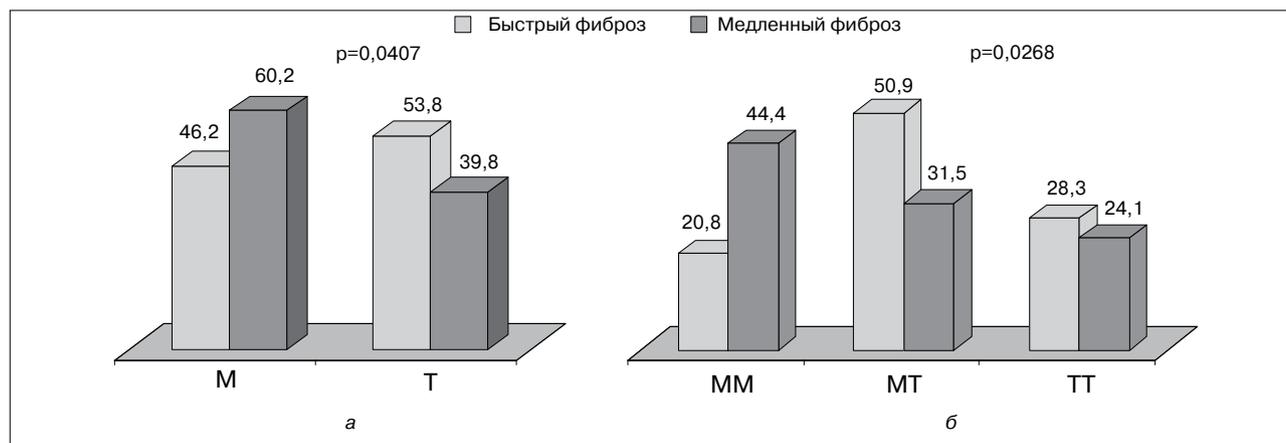


Рис. 3. Распределение аллелей (а) и генотипов (б) гена ангиотензиногена по локусу M235T у больных ХГС с различной скоростью развития фиброза

но активных тканей пораженного органа замещаются фиброзными тяжами [10, 27]. Локальный тканевой компонент РАС, обнаруженный в тканях головного мозга, почек, легких, сердца, печени, эндокринных органов, кровеносных сосудов, желудочно-кишечного тракта, в сетчатке глаза, в жировой и гемопоэтической тканях, может функционировать независимо от циркулирующего компонента и способен активироваться, даже если активность циркулирующей РАС снижена или нормальна [33].

Полиморфизм G-6A промоторного участка гена AGT влияет на экспрессию ангиотензиногена: носительство мутантного AA генотипа ведет к повышению транскрипции гена AGT и хроническому подъему базальной концентрации ангиотензина-II [27]. Наследование «дикой» G-аллели снижает риск как артериальной гипертензии, так и сердечно-сосудистых заболеваний, хронических заболеваний почек независимо от уровня артериального давления [24]. F. Xiao и соавт. [42] показали, что носительство мутантных генотипов в гене AGT по локусам -20 и -6 коррелирует с развитием ЦП у больных хроническим гепатитом. В исследовании E. E. Powell и соавт. [36] обнаружена корреляция наследования AA генотипа гена AGT с более тяжелыми (F3/F4) стадиями фиброза у больных ХГС, что подтверждается и результатами данной работы.

Носительство 235T-аллели и 235TT генотипа гена AGT предопределяет склонность к ряду заболеваний, прежде всего к артериальной гипертензии, а также к инсульту, диабетической нефропатии и инфаркту миокарда [27]. В нашем исследовании носители 235T-аллели (генотипы MT и TT) достоверно чаще встречались в группе с быстро прогрессирующим фиброзом, носительство же «дикого» гомозиготного генотипа MM можно считать благоприятным прогностическим фактором и маркером медленного прогрессирования фиброза у больных ХГС. Имеется высокая степень сцепления полиморфных локусов G-6A и M235T гена AGT, наследование минорных аллелей по каждому из локусов коррелирует как с повышением концентрации ангиотензина-II в плазме, так и с предрасположенностью к различным заболеваниям, а носительство обоих полиморфных маркеров приводит к синергетическому усилению генетического эффекта [27, 41].

В нашей работе наследование 235T-аллели, как наследование -6G-аллели, служило неблагоприятным маркером в отношении скорости прогрессирования фиброза. В доступной нам литературе была обнаружена лишь одна публикация, посвященная связи полиморфизма M235T гена AGT с фиброзом печени, — сообщение E. N. Forrest и соавт. [21], в котором 195 пациентов с ХГС были разделены на три группы (0–1 стадии фиброза по Ishak, 2–3 стадии и 4–6 стадии). Распределение в этих груп-

пах аллельных вариантов генов AGT (по локусам M235T и G-6A), АПФ и ATR1, согласно наблюдениям названных авторов, не имело достоверных отличий [21]. Необходимо отметить, что в данном исследовании не учитывалась длительность инфекции, а значит, в группу «мягкого» или «промежуточного» фиброза могли попадать и больные с кратким анамнезом заболевания, у которых при дальнейшем наблюдении трансформация в цирроз печени могла произойти менее чем через 20 лет от момента инфицирования. Это обстоятельство, а также различия исследованных популяций и шкал полуколичественной оценки стадий фиброза могут объяснить расхождение полученных нами результатов и указанной работы.

По сведениям H. Yoshiji и соавт. [44], AT 1-Rc играют ключевую роль в развитии фибротических изменений при хронических заболеваниях печени. В экспериментах на мышах с делецией гена ATR1 было показано, что у ATR1-нокаутных мышей по сравнению с животными дикого типа отмечаются уменьшение активности воспаления, снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов и выраженность фиброза и стеатоза печени [29, 32, 43]. Полиморфизм A1166C гена ATR1 является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (аллель 1166C ассоциируется с повышением риска ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, гипертонии, диабетической нефропатии, депрессии и легочной гипертензии), а также фибротических изменений в различных органах [6]. S. Sookoian и соавт. [39] обнаружили, что среди больных ЦП вирусной (HCV) и алкогольной этиологии у носителей «дикого» AA генотипа терапевтическое действие на системную гемодинамику 12-недельного введения лозартана в дозе 25 мг/д проявлялось чаще, чем у носителей AC и CC генотипов. Единственной публикацией, посвященной анализу взаимосвязи полиморфизма A1166C гена ATR1 со стадией фиброза печени у больных ХГС, была работа E. N. Forrest и соавт. [21], в которой подобной корреляции найдено не было.

Заключение

Результаты нашего исследования указывают на возможное влияние полиморфизма генов РАС на скорость прогрессирования фиброза у больных ХГС. Носительство минорных аллелей гена ангиотензиногена по любому из локусов (G-6A или M235T) является фактором, прогнозирующим более быстрое прогрессирование заболевания. Поскольку хронический гепатит С — многофакторное заболевание, целесообразно использовать анализ аллельных вариантов гена ангиотензиногена в разработке персонализированного подхода к ведению больных ХГС.

Список литературы

1. *Абдуллаев С.М., Целищева Ю.И., Самоходская Л.М.* и др. Генетические маркеры предрасположенности к агрессивному течению хронического гепатита С // Вестн. РАМН. — 2007. — № 1. — С. 8–13.
1. *Abdullayev S.M., Tselishcheva Yu.I., Samokhodskaya L.M.* et al. Genetic markers of predisposition to aggressive course of chronic hepatitis C // Vestn. RAMN. — 2007. — № 1. — С. 8–13.
2. *Ивашкин В.Т., Павлов Ч.С.* Фиброз печени. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 168 с.
2. *Ivashkin V.T., Pavlov Ch.S.* Liver fibrosis. — М.: GEOTAR-Media, 2011. — 168 p.
3. *Кучерявый Ю.А., Стукова Н.Ю., Ахтаева М.Л.* Хронический гепатит, цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома — звенья одной цепи // Клини. перспективы гастроэнтерол. гепатол. — 2012. — № 5. — С. 3–11.
3. *Kucheryavy Yu.A., Stukova N.Ju., Akhtayeva M.L.* Chronic hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma — parts of one circuit // Klin. perspektivy gastroenterol. gepatol. — 2012. — N 5. — P. 3–11
4. *Лопаткина Т.Н., Кудлинский И.С.* Роль полиморфизмов гена интерлейкина 28В в оценке эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С // Клини. гепатол. — 2011. — № 2. — С. 28–38.
4. *Lopatkina T.N., Kudlinsky I.S.* Genetic polymorphism of interleukin 28B in rating of antiviral therapy efficacy in chronic hepatitis C // Klin. gepatol. — 2011. — N 2. — P. 28–38.
5. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С. // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2013. — Т. 23, № 2. — С. 41–70.
5. Guidelines on diagnostics and treatment of hepatitis C in adults. // Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. — 2013. — Vol. 23, N 2. — P. 41–70.
6. *Самоходская Л.М., Балацкий А.В., Садекова О.Н.* и др. Молекулярно-генетический анализ предрасположенности человека к мультифакторным заболеваниям / Под ред. *Ткачука В.А.* — М.: Изд-во Моск. ун-та, 2011. — 388 с.
6. *Samokhodskaya L.M., Balatsky A.V., Sadekova O.N.*, et al. Molecular genetic analysis of predisposition to multifactorial diseases/ed.: *Tkachuk V.A.* — М.: Publishing house Mosk. university, 2011. — 388 p.
7. *Самоходская Л.М., Игнатова Т.М., Абдуллаев С.М.* и др. Прогностическое значение комбинации аллельных вариантов генов цитокинов и гемохроматоза у больных хроническим гепатитом С // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2007. — Т. 17, № 2. — С. 50–56.
7. *Samokhodskaya L.M., Ignatova T.M., Abdullayev S.M.* et al. Prognostic value of cytokines and hemochromatosis genes allelic variants combination in chronic hepatitis C // Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. — 2007. — Vol. 17, N 2. — P. 50–56.
8. *Таратина О.В., Краснова Т.Н., Самоходская Л.М.* и др. Полиморфизм генов эндотелиальной дисфункции и скорость прогрессирования фиброза печени при хроническом гепатите С // Тер. арх. — 2014. — № 4 (в печати).
8. *Taratina O.V., Krasnova T.N., Samokhodskaya L.M.* et al. Polymorphism of endothelial dysfunction genes and rate of liver fibrosis progression in chronic hepatitis C // Ter. arkh. — 2014. — N 4 (in press).
9. *Тихонова Н.Ю., Бурневич Э.З.* Новые возможности прогнозирования ответа на противовирусную терапию хронического гепатита С // Фарматека. — 2012. — № 2. — С. 32–35.
9. *Tikhonova N.Yu., Burnevich E.Z.* New options of prediction of antiviral therapy response in chronic hepatitis C // Farmateka. — 2012. — N 2. — P. 32–35.
10. *Altarescu G., Haim S., Elstein D.* Angiotensinogen promoter and angiotensinogen II receptor type 1 gene polymorphisms and incidence of ischemic stroke and neurologic phenotype in Fabry disease // Biomarkers: biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals. — 2013. — Vol. 18, N. 7. — P. 595–600.
11. *Asseleh T., Bieche I., Paradis V.* et al. Genetics, genomics, and proteomics: implications for the diagnosis and the treatment of chronic hepatitis C // Semin. Liver Dis. — 2007. — Vol. 27, N 1. — P. 13–27.
12. *Bataller R., Sancho-Bru P., Gines P.* et al. Activated human hepatic stellate cells express the renin-angiotensin system and synthesize angiotensin II // Gastroenterology. — 2003. — Vol. 125, N 1. — P. 117–125.
13. *Bataller R., Gines P., Nicolas J. M.* et al. Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cells // Gastroenterology. — 2000. — Vol. 118, N 6. — P. 1149–1156.
14. *Bataller R., Sancho-Bru P., Gines P.* et al. Liver fibrogenesis: a new role for the renin-angiotensin system // Antioxid Redox Signal. — 2005. — Vol. 7, N 9–10. — P. 1346–1355.
15. *Bataller R., Schwabe R.F., Choi Y.H.* et al. NADPH oxidase signal transduces angiotensin II in hepatic stellate cells and is critical in hepatic fibrosis // J. Clin. Invest. — 2003. — Vol. 112, N 9. — P. 1383–1394.
16. *Brenner D.A.* Molecular pathogenesis of liver fibrosis // Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc. — 2009. — Vol. 120. — С. 361–368.
17. *Cariani E., Villa E., Rota C.* et al. Translating pharmacogenetics into clinical practice: interleukin (IL) 28B and inosine triphosphatase (ITPA) polymorphisms in hepatitis C virus (HCV) infection // Clinical chemistry and laboratory medicine: CCLM // FESCC. — 2011. — Vol. 49, N 8. — P. 1247–1256.
18. *Clark P.J., Thompson A.J., McHutchison J.G.* IL28B genomic-based treatment paradigms for patients with chronic hepatitis C infection: the future of personalized HCV therapies // Am. J. Gastroenterol. — 2011. — Vol. 106, N 1. — P. 38–45.
19. *Fabris C., Toniutto P., Bitetto D.* et al. Low fibrosis progression of recurrent hepatitis C in apolipoprotein E epsilon4 carriers: relationship with the blood lipid profile // Liver Int. — 2005. — Vol. 25, N 6. — P. 1128–1135.
20. *Fattovich G., Covolo L., Bibert S.* et al. IL28B polymorphisms, IP-10 and viral load predict virological response to therapy in chronic hepatitis C // Aliment. Pharmacol. Ther. — 2011. — Vol. 33, N 10. — P. 1162–1172.
21. *Forrest E.H., Thorburn D., Spence E.* et al. Polymorphisms of the renin-angiotensin system and the severity of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection // J. Viral. Hepat. — 2005. — Vol. 12, N 5. — P. 519–524.
22. *Friedman S.L.* Evolving challenges in hepatic fibrosis // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. — 2010. — Vol. 7, N 8. — P. 425–436.
23. *Girgrah N., Liu P., Collier J.* et al. Haemodynamic, renal sodium handling, and neurohormonal effects of acute administration of low dose losartan, an angiotensin II receptor antagonist, in preascitic cirrhosis // Gut. — 2000. — Vol. 46, N 1. — P. 114–120.
24. *Hsu C.C., Bray M.S., Kao W.H.* et al. Genetic variation of the renin-angiotensin system and chronic kidney disease progression in black individuals in the atherosclerosis risk in communities study // J. Am. Soc. Nephrol.: JASN. — 2006. — Vol. 17, N 2. — P. 504–512.
25. *Huang H., Shiffman M.L., Friedman S.* et al. A 7 gene signature identifies the risk of developing cirrhosis in patients with chronic hepatitis C // Hepatology. — 2007. — Vol. 46, N 2. — P. 297–306.
26. *Inoue I., Nakajima T., Williams C.S.* et al. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription *in vitro* // J. Clin. Invest. — 1997. — Vol. 99, N 7. — P. 1786–1797.
27. *Jeunemaitre X.* Genetics of the human renin angiotensin system // J. Mol. Med. — 2008. — Vol. 86, N 6. — P. 637–641.

28. *Jonsson J.R., Clouston A.D., Ando Y.* et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the progression of rat hepatic fibrosis // *Gastroenterology.*— 2001. — Vol. 121, N 1. — P. 148–155.
29. *Kanno K., Tazuma S., Chayama K.* AT1A-deficient mice show less severe progression of liver fibrosis induced by CCl (4) // *Biochem Biophys. Res. Commun.*— 2003. — Vol. 308, N 1. — P. 177–183.
30. *Lee J.K., Hsieh J.F., Tsai S.C.* et al. Effects of single dose of 50 mg captopril in patients with liver cirrhosis and ascites // *Hepatogastroenterology.*— 2000. — Vol. 47, N 33. — P. 767–770.
31. *Lubel J.S., Herath C.B., Tchongue J.* et al. Angiotensin-(1–7), an alternative metabolite of the renin-angiotensin system, is up-regulated in human liver disease and has antifibrotic activity in the bile-duct-ligated rat // *Clin. Sci. (Lond.)*.— 2009. — Vol. 117, N 11. — P. 375–386.
32. *Nabeshima Y., Tazuma S., Kanno K.* et al. Deletion of angiotensin II type I receptor reduces hepatic steatosis // *J. Hepatol.*— 2009. — Vol. 50, N 6. — P. 1226–1235.
33. *Nguyen Dinh Cat A., Touyz R. M.* A new look at the renin-angiotensin system-focusing on the vascular system // *Peptides.*— 2011. — Vol. 32, N 10. — P. 2141–2150.
34. *Ochi H., Maekawa T., Abe H.* et al. ITPA polymorphism affects ribavirin-induced anemia and outcomes of therapy—a genome-wide study of Japanese HCV virus patients // *Gastroenterology.*— 2010. — Vol. 139, N 4. — P. 1190–1197.
35. *Paizis G., Tikellis C., Cooper M.E.* et al. Chronic liver injury in rats and humans upregulates the novel enzyme angiotensin converting enzyme 2 // *Gut.*— 2005. — Vol. 54, N 12. — P. 1790–1796.
36. *Powell E.E., Edwards-Smith C.J., Hay J.L.* et al. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C // *Hepatology.*— 2000. — Vol. 31, N 4. — P. 828–833.
37. *Poynard T., Bedossa P., Opolon P.* Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups // *Lancet.*— 1997. — Vol. 349, N 9055. — P. 825–832.
38. *Richardson M.M., Powell E.E., Barrie H.D.* et al. A combination of genetic polymorphisms increases the risk of progressive disease in chronic hepatitis C // *J Med Genet.*— 2005. — Vol. 42, N 7. — e45.
39. *Sookoian S., Castano G., Garcia S.I.* et al. A1166C angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism may predict hemodynamic response to losartan in patients with cirrhosis and portal hypertension // *Am. J. Gastroenterol.*— 2005. — Vol. 100, N 3. — P. 636–642.
40. *Strader D.B., Wright T., Thomas D.L.* et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C // *Hepatology.*— 2004. — Vol. 39, N 4. — P. 1147–1171.
41. *Wang J.H., Lin C.M., Wang L. S.* et al. Association between molecular variants of the angiotensinogen gene and hypertension in Amis tribes of eastern Taiwan // *J. Formosan Med. Assoc. = Taiwan yi zhi.*— 2002. — Vol. 101, N 3. — P. 183–188.
42. *Xiao F., Wei H., Song S.* et al. Polymorphisms in the promoter region of the angiotensinogen gene are associated with liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis B // *J. Gastroenterol. Hepatol.*— 2006. — Vol. 21, N 9. — P. 1488–1491.
43. *Yang L., Bataller R., Dulyx J.* et al. Attenuated hepatic inflammation and fibrosis in angiotensin type 1a receptor deficient mice // *J. Hepatol.*— 2005. — Vol. 43, N 2. — P. 317–323.
44. *Yoshiji H., Kuriyama S., Yoshii J.* et al. Angiotensin-II type 1 receptor interaction is a major regulator for liver fibrosis development in rats // *Hepatology.*— 2001. — Vol. 34, N 4 Pt 1. — P. 745–750.