

На правах рукописи

КОЛОТВИН АНДРЕЙ ВАСИЛЬЕВИЧ

**ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА
ПАТОГЕНА И ХОЗЯИНА ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ И
РАЗВИТИЯ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С**

03.01.03 – Молекулярная биология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 2014

Работа выполнена в ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского»
Министерства здравоохранения России и ФГБОУ ВПО «Московский
государственный университет им. М. В. Ломоносова»

Научные руководители:

доктор биологических наук

Людмила Ивановна Николаева

кандидат медицинских наук, доцент

Лариса Михайловна Самоходская

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор

Екатерина Федоровна Колесанова

кандидат биологических наук, доцент

Михаил Анатольевич Эльдаров

Ведущая организация:

ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова»
Российской академии медицинских наук.

Защита диссертации состоится «__» октября 2014 г. в 12-00 часов на заседании
Диссертационного совета Д 208.131.01 при ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И.
Ивановского» Министерства здравоохранения России по адресу: 123098, г.
Москва, ул. Гамалеи, д. 16.

Автореферат разослан «_____» _____ 2014 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Е.И. Бурцева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Вирусный гепатит С (ГС) представляет серьезную проблему для здравоохранения нашей страны в связи с его распространенностью в разных возрастных группах, отсутствием вакцинопрофилактики и высоким риском развития хронических заболеваний печени. В мире ГС инфицировано около 3% населения (www.CDC.com, 2013). Ежегодно около 3-4 миллионов людей инфицируется вирусом гепатита С (ВГС) и почти 350 тысяч умирает от хронического гепатита С (ХГС) и его осложнений (ВНО, 2011). В нашей стране доля инфицированных вирусом людей достигает почти 3%, прогнозируется дальнейший рост обнаружения хронически инфицированных лиц до 2015-2020 годов и увеличение смертности от осложнений ХГС (Гайдаренко А. Д., 2009; Мукомолов С.Л. и др. 2012; Hanafiah K.M. et al., 2013).

На территории Российской Федерации, как и в большинстве стран, наблюдается неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по вирусному гепатиту С (Мукомолов С. Л. и др., 2012). Среди ВГС-инфицированных людей преобладают пациенты с хронической формой инфекции (Селиванов Н. А. и др., 2003). Для ХГС характерно прогрессирующее течение, которое через несколько десятков лет может завершиться циррозом печени (до 30%) и первичной гепатоклеточной карциномой (от 5 до 15%) (Alberti A. et al., 2004; Alter M.J. et al., 2007; Perz J.F. et al., 2006).

Несмотря на интенсивное изучение ВГС-инфекции, до сих пор установлены не все факторы вируса и пациента, влияющие на скорость формирования фиброза печени и эффективность противовирусной терапии (ПВТ). Благодаря проекту «Геном человека», была выявлена важная роль однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), которые влияют на формирование иммунного ответа, интенсивность неспецифических иммунных реакций и формируют предрасположенность к различным заболеваниям. Эти данные позволяют по новому оценить роль генетического полиморфизма как хозяина, так и патогена (Lander E.S., et al., 2001).

Геном ВГС имеет генетическую неоднородность, то есть полиморфен, что привело к необходимости классифицировать вирус на генотипы и субтипы (Simmonds P. et al., 1996; 2005; Smith D. B. et al., 2014). В каждом инфицированном пациенте ВГС существует в виде набора генетически близких вариантов, называемых квазивариантами. На такое генетическое разнообразие вируса накладывается ОНП генов инфицированных людей, что приводит к разной скорости формирования фиброза печени и к различной чувствительности к основным препаратам стандартной двойной терапии.

Состояние научной разработанности проблемы. Несмотря на значительное число исследований, посвященных поиску взаимосвязи между ОНП генов-кандидатов и темпами развития фиброза печени и ответом на ПВТ, достоверные данные получены для небольшого числа генов. В ряде

исследований приводятся противоречивые результаты, что, вероятно, связано с разными критериями включения больных в сравниваемые группы, разными схемами лечения и этнической неоднородностью группы. Кроме этого, надо отметить малочисленность отечественных работ по изучению ОНП генов больных ХГС, имеющих восточнославянское происхождение (русские, украинцы, белорусы). Начиная с 2009 года в международной печати появились публикации, в которых отмечалось, что эффективность терапии связана с этническим происхождением пациента (Yu S. et al., 2009; Elefsiniotis I.S. et al., 2009; Yu M.L. et al., 2009). Например, пациенты монголоидного происхождения лучше отвечают на стандартную двойную терапию, чем европеоиды, а коренные жители Африки – хуже всех. Доминирующим этносом на территории нашей страны являются восточные славяне. В связи с этим в исследование были включены пациенты данного этноса.

Перечисленные выше причины определяют актуальность проведения диссертационной работы по выявлению аллельных вариантов отдельных генов человека, имеющих полиморфные локусы, в комбинации с полиморфными особенностями генома ВГС, влияющими в совокупности на эффективность ПВТ и формирование фиброза печени при естественном течении ХГС. Учитывая значение иммунных механизмов, интенсивности окислительного стресса и нарушения обмена железа в прогрессировании ХГС и формирования ответа на ПВТ, в диссертационной работе были изучены ОНП генов, продукты которых участвуют: в иммунных реакциях (*IL-1B*, *IL-6*, *IL-10*, *IL28B*, *TGF-B1*, *TNF-A*) в обмене железа (*HFE*), в эндотелиальной дисфункции (*eNOS*) и окислительном стрессе (*p22phox*) в сочетании с генетическим полиморфизмом ВГС.

Цель исследования:

Определить прогностическую значимость генетического полиморфизма вируса гепатита С и генов цитокинов, гемохроматоза и эндотелиальной дисфункции у пациентов с ХГС для прогноза эффективности противовирусной стандартной двойной терапии и скорости развития фиброза печени.

Задачи исследования:

1. Установить прогностическую значимость факторов ВГС (генотип/субтип, репликативная активность и набор генетических вариантов) для оценки эффективности противовирусной терапии и оценки их влияния на скорость развития фиброза печени у пациентов с ХГС этнически однородной группы (восточные славяне).

2. Установить частоту встречаемости аллельных вариантов генов цитокинов: *IL-1B* (-511 C>T), *IL-6* (-174 G>C), *IL-10* (-1082 G>A), *IL-28B* (rs12979860 C>T, rs8099917 T>G), *TNF-A* (-238 G>A), *TGF-B1* (+915 G>C); наследственного гемохроматоза – *HFE* (H63D, C282Y) и генов, вовлеченных в развитие эндотелиальной дисфункции *eNOS* (+894 G>T) и окислительного стресса *p22phox* (+242C>T) в исследуемой выборке пациентов в зависимости от ответа на противовирусную терапию.

3. Установить частоту встречаемости аллельных вариантов генов цитокинов: *IL-1B* (-511 C>T), *IL-6* (-174 G>C), *IL-10* (-1082 G>A), *IL-28B* (rs12979860 C>T, rs8099917 T>G), *TNF-A* (-238 G>A), *TGF-B1* (+915 G>C); наследственного гемохроматоза – *HFE* (H63D, C282Y) и генов, вовлеченных в развитие эндотелиальной дисфункции *eNOS* (+894 G>T) и оксидативного стресса *p22phox* (+242C>T) в исследуемой выборке пациентов в зависимости от интенсивности развития фиброза печени.

4. Провести многофакторный анализ сочетаний аллельных вариантов генов пациентов и генетических факторов вируса и их ассоциацию с эффективностью терапии и скоростью фиброзированием печени при ХГС в исследуемой выборке пациентов.

Научная новизна:

1. Впервые было изучено сочетанное влияние генетических факторов ВГС и ОНП генов пациента (*IL-1B*, *IL-6*, *IL-10*, *IL-28B*, *TNF-A*, *TGF-B1*, *HFE*, *eNOS*, *p22phox*) на эффективность противовирусной терапии и развитие фиброза печени у пациентов восточнославянского происхождения.

2. Впервые была выявлена ассоциация аллельных вариантов генов цитокинов: *IL-28B* по локусам rs12979860 C>T, rs8099917 T>G; *TNF-A* (-238 G>A) и *IL-1B* (-511 C>T) с эффективностью ПВТ и скоростью развития фиброза печени в данной выборке пациентов.

3. Впервые было показано, что гаплотип C (rs12979860)/T (rs8099917 T>G) гена *IL-28B* выявляется с высокой частотой у пациентов с ХГС (восточные славяне).

4. Впервые установлены прогностически значимые закономерности сочетания субтипа вируса и аллельных вариантов генов пациентов (*IL-1B*, *IL-28B*, *TNF-A*, *HFE*) на эффективность терапии и скорость развития фиброза печени в данной выборке пациентов.

5. Впервые разработана прогностическая модель с количественной оценкой данных по полиморфным локусам генов пациента и генотипу/субтипу вируса, позволяющая сделать прогноз эффективности терапии и скорости развития фиброза печени у пациентов восточнославянского происхождения.

Практическая значимость.

Благодаря установленным в диссертационной работе сочетаниям аллельных вариантов генов пациентов и генетических параметров ВГС создана прогностическая модель, позволяющая рассчитать вероятность достижения УВО при стандартной двойной терапии, оценивая данные анализа ОНП генов цитокинов *IL-1B* (-511 C>T), *IL-28B* (rs12979860 C>T, rs8099917 T>G) и генотипа/субтипа вируса, которым инфицирован больной, по баллам (прогноз по сумме баллов). В соответствии с предложенной моделью с увеличением количества «мутантных» аллелей по данным генам уменьшается вероятность достижения УВО при стандартной двойной терапии пациентов с ХГС, имеющих восточнославянского происхождения.

Установленная в диссертационной работе закономерность относительно роли аллельных вариаций генов *TNF-A* (-238 G>A) и *HFE* (H63D, C282Y) и генотипа/субтипа вируса позволит прогнозировать скорость развития фиброза печени у пациентов с ХГС определенного этнического происхождения. С увеличением количества «мутантных» аллелей по данным генам увеличивается вероятность ускоренного фиброгенеза.

Данная модель является определенным этапом в развитии современного персонафицированного подхода к терапии и прогнозу скорости поражения печени у пациентов с ХГС.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Среди изученных генетических факторов ВГС наибольшее влияние на эффективность терапии и развитие фиброза печени оказывает генотип/субтип вируса. Не выявлена зависимость между количеством генетических вариантов по 1-му гипервариабельному региону (1ГВР) белка E2 и эффективностью стандартной двойной терапии и развитием фиброза печени.

2. Устойчивый вирусологический ответ на терапию достоверно чаще достигается при выявлении у пациентов аллельных пар CC (rs12979860) и TT (rs8099917) гена *IL28B* и при отсутствии генотипа TT (-511 C/T) гена *IL-1B*. Обнаружена высокая частота одновременной встречаемости аллельных пар CC (rs12979860) и TT (rs8099917) гена *IL28B*, что свидетельствует о существовании гаплотипа C/T.

3. Быстрое развитие фиброза печени достоверно чаще отмечается при обнаружении у пациента аллельного варианта GA (-238 G>A) гена *TNF-A* и генотипа GC (+915 G>C) гена *TGF-B1*. Появление A-аллеля в локусе -238 G/A гена *TNF-A* и вариантов CY и YY в позиции C282Y гена *HFE* чаще приводит к быстрому развитию фиброза печени.

4. Медленное формирование фиброза печени достоверно чаще отмечается у пациентов с генотипом GG в локусе -238 G/A гена *TNF-A* и генотипом CT в локусе +242 C/T гена *p22phox*

5. При комплексной оценке данных патоген-хозяин показано, что прогностическими факторами высокой вероятности достижения УВО являются инфицирование пациента ВГС генотипа 2 или 3 и наличие у больного аллельных вариантов CC (rs12979860) и TT (rs8099917) гена *IL28B*; отсутствие генотипа TT (-511 C/T) гена *IL-1B*. Высокая вероятность неэффективности терапии наблюдается при инфицировании вирусом генотипа 1 и наличии у пациентов T- (rs12979860) или G-аллеля (rs8099917) гена *IL28B* и аллельного варианта TT (-511 C/T) гена *IL-1B*.

6. Прогностическими факторами низкой скорости развития фиброза печени являются: инфицирование пациента вирусом субтипа 3a, наличие в гене *TNF-A* аллельной пары GG (-238 G/A) и варианта CC (аминокислотная позиция C282Y) в гене *HFE*. Высокая скорость развития фиброза печени ассоциирована с инфицированием вирусом генотипа 1 и наличием в гене *TNF-A* аллельного варианта GA (-238 G/A) и вариантов CY и YY в позиции C282Y гена *HFE*.

Личный вклад автора состоит в самостоятельном планировании и проведении лабораторных исследований, анализе полученных данных и их статистической обработке. Соискателем самостоятельно проводилось определение генетических параметров пациентов – ОНП анализируемых генов цитокинов, гемохроматоза и эндотелиальной дисфункции. Генетические параметры ВГС определялись совместно с канд. биол. наук Самохваловым Е.И., канд. биол. наук Альховским С.В. и докт. биол. наук Николаевой Л.И. Многофакторная статистическая обработка данных проводилась совместно с докт. физ.-мат. наук Яровой Е.Б.

Внедрение результатов исследования.

Результаты исследования по влиянию аллельных вариантов полиморфных зон генов пациентов и генетическим параметрам ВГС на формирование УВО при двойной терапии и на развитие фиброза печени используются при чтении лекций врачам на кафедре инфекционных болезней Российской медицинской академии последиplomного образования г. Москвы как пример персонифицированного подхода.

Апробация работы.

Результаты работы были доложены на IX Российской конференции «Гепатология сегодня» в г. Москва, 17 марта 2010 г.; на II ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням в г. Москва, 31 марта 2010 г.; на научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционных заболеваний» в г. Ташкент, 22 октября 2010 г.; на VIII Международной конференции «Медицинская генетика соматических клеток» в г. Звенигород, 9 декабря 2011 г.; на VI ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням в г. Москва, 24 марта 2014 г. Апробация диссертационной работы проведена в ФГБУ «Научно-исследовательском институте им. Д.И. Ивановского» Минздрава России 24 апреля 2014 г. на совместном заседании апробационного совета и отдела молекулярной вирусологии с участием сотрудников кафедры биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова.

Публикации.

По материалам диссертации опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья в журнале, не входящем в перечень журналов, рекомендованных ВАК, и 7 тезисов в сборниках материалов как общероссийских, так международных конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, включающих: обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение; выводов и списка литературы, состоящего из 24 отечественных и 243 зарубежных источников. Работа изложена на 172 страницах текста, иллюстрирована 32 таблицами и 34 рисунками.

Работа была частично поддержана грантом ФГБУ «Российский фонд фундаментальных исследований» №04-09-13853.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Пациенты и методы исследования.

В исследование включен 191 пациент с хроническим гепатитом С, наблюдавшихся в Клинической инфекционной больнице №2 и Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева в период с января 2007 года до января 2013 года. Этиологическая связь поражения печени с инфекцией вирусом гепатита С была подтверждена выявлением специфических антител и РНК ВГС в сыворотке крови. У всех пациентов было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. Факторы риска и время инфицирования больных устанавливались путем опроса по стандартному протоколу каждого из исследовательских центров. Формирование групп пациентов, сбор биологического материала и анамнестических данных осуществлялся врачами Клинической инфекционной больницы №2 и Клиники нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева.

Критериями включения в основную группу (191 человек) были: 1) хронический гепатит С; 2) отсутствие хронических гепатитов В и D, ВИЧ, диабета, онкологических и других хронических инфекционных заболеваний; 3) восточнославянское происхождение. В работе были обследованы пациенты в возрасте от 18 до 58 лет средний возраст $38,8 \pm 1,6$ года, гендерное соотношение: 103 мужчин и 88 женщин.

В зависимости от скорости фиброзирования печени участники исследования были поделены на 3 группы: с медленной скоростью (до 0,11 единиц/год), с умеренной скоростью (0,11-0,19 единиц/год) и с высокой скоростью (свыше 0,19 единиц/год). При оценке скорости фиброзирования печени учитывали данные пункционной биопсии или фиброэластографии печени. Стадию фиброза оценивали по шкале METAVIR. Скорость фиброзирования печени определяли, как частное от деления стадии фиброза (F_0 - F_4) на время от предыдущего анализа или от первого определения маркеров инфекции.

Из 191 человека с диагнозом хронический гепатит С проведено лечение противовирусными препаратами 143 пациентам. Остальные пациенты имели противопоказания к лечению или отказались от него. Пациентам был проведен 24-х и 48-и недельный курс терапии пегилированным интерфероном- $\alpha 2a/2b$ (ИФН- $\alpha 2a/2b$) в комбинации с рибавирином. При выборе длительности лечения учитывали субтип вируса. Пациентов, инфицированных вирусом субтипа 1a и 1b лечили 48 недель, а 3a, 2a и 2k/1b – 24 недели. Через 6 месяцев после окончания терапии были сформированы группы больных с устойчивым вирусологическим ответом (УВО) и не ответившие (НО) на терапию.

Выделение РНК ВГС проводили с помощью набора реагентов для выделения РНК ВГС «РеалБест» РНК ВГС, качественный вариант» («Вектор-Бест», РФ) с чувствительностью 15 МЕ/мл; **вирусную нагрузку** определяли с помощью коммерческой тест-системы «ОТ-гепатоген-С-количественный» («ДНК-технология», Россия) с чувствительностью 300 МЕ/мл.; **генотипирование ВГС** выполняли методом ОТ-ПЦР с системой генотип-специфических праймеров, позволяющих идентифицировать субтипы вируса; для **определения межгенотипной рекомбинации** проводили секвенирование нуклеотидных последовательностей методом Сэнгера на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3130 («Applied Biosystems», США), для установления **количества квазивариантных форм** использовали методику анализа конформационного полиморфизма однонитевой ДНК – SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism).

Выделение геномной ДНК пациентов проводили с помощью набора «ДНК-сорб-Б» («ИнтерЛабСервис», РФ), **определение аллельных вариантов генов** пациентов проводили методом ПДРФ (полиморфизм длин рестриктных фрагментов) и методом ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе Rotor-Gene-3000 фирмы Corbett Research (Австралия) и на детектирующем амплификаторе ДТ-96 фирмы ДНК-технология (Россия).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакетов статистических программ STATISTICA 10.0 и SPSS 14.

Результаты исследования и их обсуждение

Сопоставляя два параметра время инфицирования и доминирующие субтипы ВГС (1b и 3a), удалось обнаружить, что у лиц, зараженных до 1990 года, преобладал вирус субтипа 1b. После 2000 года процентное соотношение пациентов, инфицированных этими двумя субтипами, стремится к равновесному соотношению

У пациентов, которые были инфицированы после 40 лет, доминировал вирус субтипа 1b (91,67%). В случае более молодых пациентов, до 40 лет, прослеживается тенденция к увеличению частоты встречаемости вируса субтипа 3a

Итак, во всей выборке пациентов, выявлено преобладание ВГС генотипов 1 и 3. Обнаружена также тенденция к постепенному увеличению встречаемости субтипа 3a (Рис. 1). Этот факт подтверждается исследованиями других российских ученых (Шахгильдян И.В. и др, 2009; Самохвалов Е.И. и др., 2012; Бацких С. Н. и др., 2012).

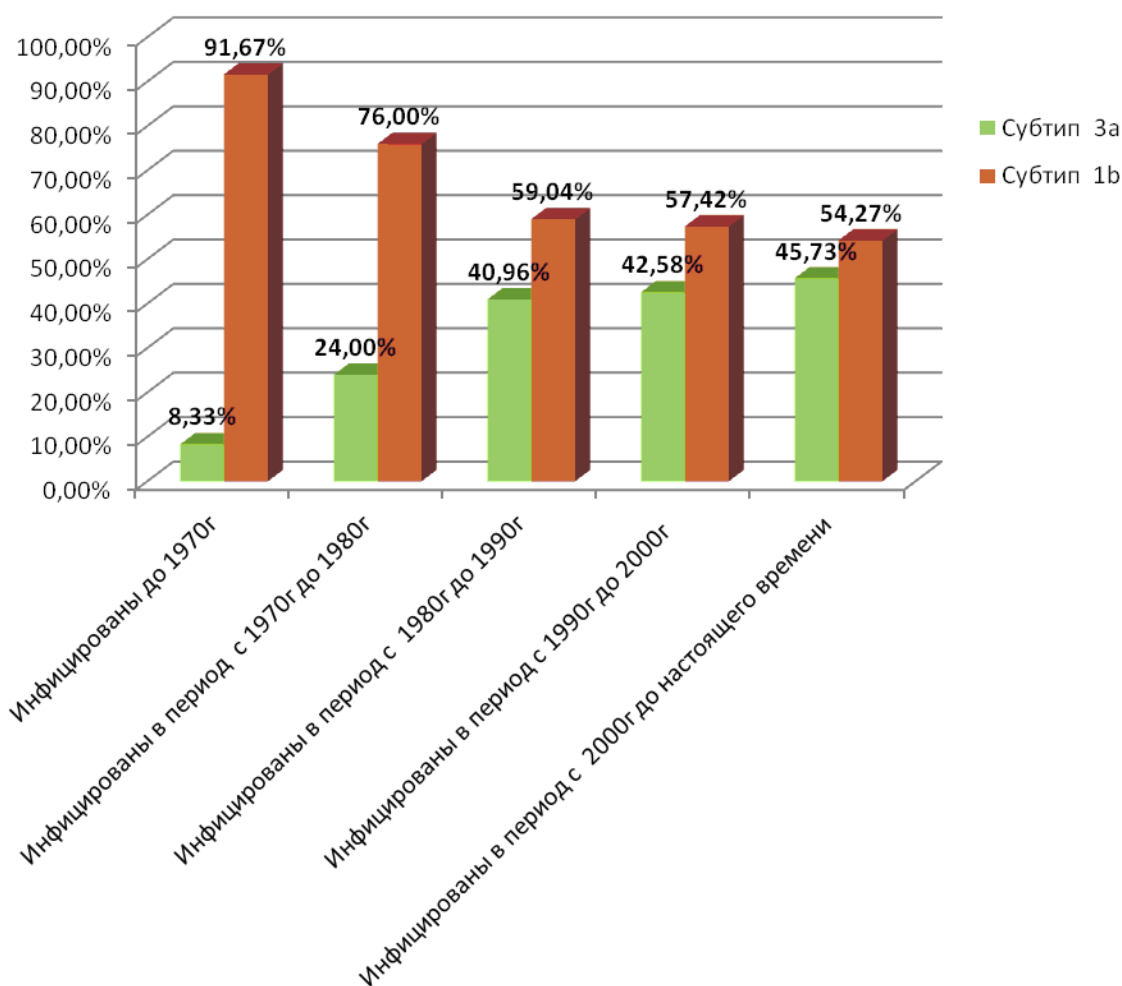


Рис. 1. Изменение в частоте выявления ВГС субтипов 1b и 3а у пациентов, инфицированных в разные периоды времени.

Анализ влияния факторов вируса на эффективность ПВТ

Результаты исследования генетических параметров ВГС у больных с ХГС, в зависимости от ответа на терапию представлены в табл. 1. В группе с УВО преобладал вирус субтипов 1b и 3а (их сумма составила 85,71%), а в группе НО – первый генотип (72,11%) и субтип 3а (21,84%). Доля пациентов, инфицированных вирусом субтипа 1b, в группе с УВО достигла 46,43%. Анализ соотношения доли больных, достигших и не достигших УВО и инфицированных вирусом первого генотипа, показал, что этот генотип ассоциирован с отсутствием УВО (26 человек против 63, $p < 0,001$). Для субтипа 3а достоверных различий не обнаружено. Количество пациентов, инфицированных вирусом субтипа 2а и 3а и достигших УВО, в нашем исследовании, составило 53,57%. У 2-х участников из группы НО была обнаружена РНК с межгенотипной рекомбинацией, которая соответствовала варианту - RF2k/1b. Вероятно, этот рекомбинант относительно редко встречается у больных Московского региона. Однако оба участника исследования, инфицированные межгенотипным рекомбинантом, закончили курс ПВТ безуспешно (Табл. 1).

Таблица 1

Частота встречаемости различных субтипов ВГС в группах пациентов с разной эффективностью терапии

Субтипы вируса	Группа с УВО (n=56)	Группа с НО (n=87)
1a	0	11 (12,64%)
1b	26 (46,43%)	52 (59,77%)
2k /1b	0	2 (2,30%)
2a	8 (14,29%)	3 (3,45%)
3a	22 (39,28%)	19 (21,84%)

В таблице 2 представлены данные по вирусной нагрузке и количеству квазивариантных форм по 1ГВР. В обеих группах пациентов выявлена вариабельность вирусной нагрузки. Однако между средними показателями вирусной нагрузки в сравниваемых группах перед началом ПВТ достоверных различий не обнаружено. Различие в количестве пациентов с низкой и высокой вирусной нагрузкой в двух сравниваемых группах больных перед началом терапии было минимальным и не достигло статистической значимости (Табл. 2).

Итак, показано, что пациенты с первым генотипом вируса достоверно чаще не достигают УВО, у больных с вирусом субтипа 3a не обнаружено достоверной ассоциации с результатом терапии. Первое положение подтверждено многими авторами, исследующими другие этнические группы (Fujino H. et al., 2013; Marciano S. et al., 2014; Pol S. et al., 2014), второе – находит близкое мнение у некоторых отечественных исследователей (Бацких С. Н. и др., 2012).

Таблица 2

Содержание РНК ВГС и количество генетических вариантов по 1ГВР в группах пациентов, достигших и не достигших УВО

Показатели	Группа с УВО (n=56)	Группа с НО (n=87)
Содержание РНК до ПВТ:	$(7,62 \pm 3,58) \times 10^5$	$(8,93 \pm 2,73) \times 10^5$
<10 ⁶ (МЕ/мл), %	62,5%	55,2%
>10 ⁶ (МЕ/мл), %	37,5%	44,8%
Содержание РНК через 6 месяцев после ПВТ	не выявлялась	$(8,93 \pm 2,73) \times 10^5$
Количество квазивариантов:	2,93±0,46	3,48±0,49
среднее значение и диапазон	2-5	2-6

Анализ выявления аллельных вариаций генов цитокинов у пациентов, достигших УВО или не ответивших на терапию

Обнаружены статистически значимые различия для аллельных вариаций гена *IL-1B* в группах с разным результатом ПВТ. Генотип ТТ в локусе -511 достоверно чаще (в 3,43) встречался в группе НО по сравнению с группой УВО (Рис. 2).

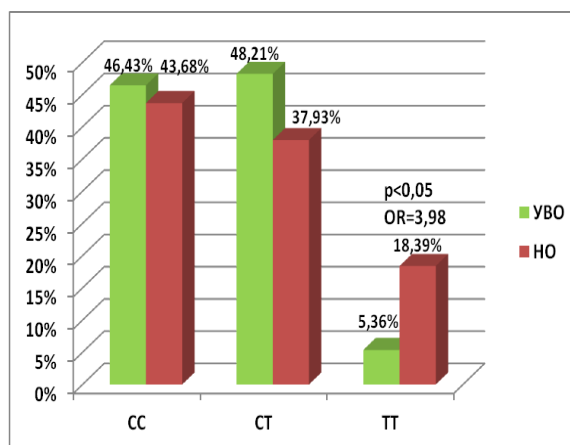


Рис. 2. Частота встречаемости аллельных вариаций гена *IL-1B* в группах пациентов, завершивших терапию с УВО или без ответа (НО).

В исследовании обнаружено более частое выявление минорного генотипа ТТ гена *IL-1B* в группе больных НО. По данным авторов, анализировавших больных ХГС (коренные жители Пакистана), такой зависимости не обнаружено [Abbas Z. et al., 2005]. Мы связываем такое расхождение с этническими различиями между группами пациентов.

Нами установлены статистически значимые различия во встречаемости аллельных вариаций гена *IL-28B* в локусе rs12979860 (Рис. 3А). Так генотипа СС встречался в 1,85 раз чаще в группе УВО, чем в группе НО ($p < 0,05$). Генотип СТ в этом же локусе наоборот чаще (в 1,79 раз) встречался в группе НО, по сравнению с УВО ($p < 0,05$).

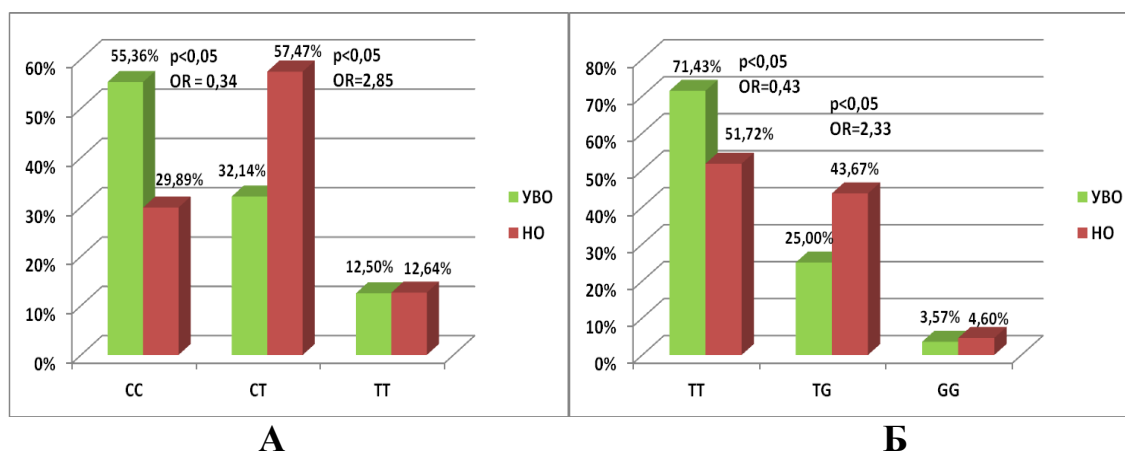


Рис. 3. Частота встречаемости аллельных вариаций гена *IL-28B* в локусах rs12979860 (А) и rs8099917 (Б) в группах пациентов с УВО и НО.

Генотип ТТ по локусу rs8099917 гена *IL-28B* достоверно чаще (в 1,38 раз) встречался в группе УВО по сравнению с НО (Рис. 3Б). Генотип ТG, наоборот, чаще (в 1,79 раз) встречается у пациентов НО, чем в группе с УВО ($p < 0,05$). Итак, при появлении G-аллели (варианты ТG или GG) пациенты реже достигали УВО.

Как недавно установлено, с полиморфизмом гена *IL-28B* ассоциирована самопроизвольная элиминация вируса при остром гепатите С и высокая вероятность достижения УВО (Thomas D.L. et al., 2009; Halfon P. et al., 2010). В нашем исследовании на выборке пациентов, где преобладал вирус генотипов 1 и 3, показана ассоциация аллельных вариантов СС (rs12978860) и ТТ (rs8099917) этого гена с достижением УВО. Ранее другими исследователями было установлено, что у больных, инфицированных вирусом генотипа 1 и достигших УВО, преобладал аллельный вариант СС (rs12978860) (Halfon P. et al., 2010)). Для пациентов, инфицированных вирусом генотипа 3, эта ассоциация была показана позже (Mangia A. et al., 2013).

В нашем исследовании не выявлено ассоциации между различными аллельными вариациями полиморфных локусов генов *IL-6*, *IL-10*, *TGF-β1* и *TNF-α* и результатом терапии. Однако различия в частоте обнаружения генотипа GC гена *IL-6* и генотипов GG и GA гена *IL-10* в сравниваемых группах пациентов имели характер тенденции. Полученная нами ассоциация полиморфных локусов генов *IL-1B* и *IL-28B* с эффективностью терапии согласуется с данными других авторов (Halfon P. et al., 2010; Moghaddam A. et al., 2011).

Влияние генетических факторов вируса на развитие фиброза печени

Результаты анализа генетических параметров ВГС у больных сравниваемых групп представлены в табл. 3. Во всех группах достоверно чаще регистрировался вирус субтипа 1b. Рекомбинантная РНК ВГС (RF 2k/1b) была обнаружена у больных из групп с умеренной и высокой скоростью развития фиброза печени (ФП), но частота обнаружения такого рекомбинанта была низкой. В группе с медленным формированием ФП наблюдалась более низкая вирусная нагрузка, чем в других группах. Однако различия не достигли статистически достоверной значимости.

Пациенты, инфицированные вирусом субтипа 2a, чаще ($p < 0,02$) выявлялись в группе с умеренной скоростью развития ФП (Табл. 3). Пациенты, зараженные вирусом субтипа 3a, чаще выявлялись в группе с медленной скоростью фиброзирование печени, чем в группе с высокой скоростью ($p = 0,001$). Для других субтипов достоверных различий не выявлено.

Итак, обнаружена достоверно значимая ассоциация между вирусом субтипа 3a и медленной скоростью развития фиброза ($p = 0,001$), и субтипом 2a – и умеренной скоростью ($p < 0,02$). Хотя субтип 1b достоверно чаще ($p < 0,01$), чем субтип 3a, встречался у пациентов с быстрым развитием фиброза печени, но в группе больных, инфицированных первым генотипом (107 пациентов), не

выявлено достоверной ассоциации между субтипом 1b и высокой скоростью развития ФП.

Таблица 3

Генетические параметры ВГС в разных группах больных

Генетические параметры ВГС	Группа с медленным развитием ФП (n=69)	Группа с умеренным развитием ФП (n=61)	Группа с быстрым развитием ФП (n=61)
Субтип ВГС (%):			
1b	39(56,52%)	28(45,90%)	40(65,57%)
1a	2(2,90%)	4(6,56%)	8(13,11%)
2a	3(4,35%)	10(16,39%)	3(4,92%)
3a	25(36,23%)	18(29,51%)	9(14,75%)
2k/1b	0	1(1,64%)	1(1,64%)
Вирусная нагрузка, (МЕ/мл)	$(8,20 \pm 1,80) \times 10^5$ ⁵	$(3,67 \pm 1,28) \times 10^6$ ⁶	$(1,15 \pm 1,33) \times 10^6$ ⁶
Количество квазивариантов: среднее значение и диапазон	3,44±0,52 от 2 до 8	2,82±0,44 от 2 до 7	2,65±0,72 от 2 до 5

Анализ влияния полиморфизма генов цитокинов на скорость развития фиброза печени

При сравнении частоты встречаемости различных аллельных вариаций гена *IL-1B* в группах пациентов с различной скоростью развития ФП были получены статистически значимые различия между группами с медленной и высокой скоростью развития фиброза по генотипу СТ (Рис. 5А). При медленной скорости этот генотип встречается в 1,99 раз чаще, чем при быстрой. Генотип ТТ достоверно чаще (в 3,91 раза) определяли у пациентов с высокой скоростью развития ФП, чем у пациентов с медленной.

При сравнении групп с умеренной и высокой скоростью формирования фиброза получено, что генотип СТ достоверно чаще (в 1,75) выявлялся у в группе с умеренной скоростью развития, чем у участников группы с высокой скоростью (Рис. 5Б). Однако у пациентов группы с высокой скоростью достоверно чаще встречается генотип ТТ, чем у пациентов с умеренной.

Аналогично нашим данным, ассоциацию аллельного варианта ТТ с быстрым развитием ФП обнаружили у пациентов с ХГС коренных жителей Японии (Tanaka Y. et al., 2003).

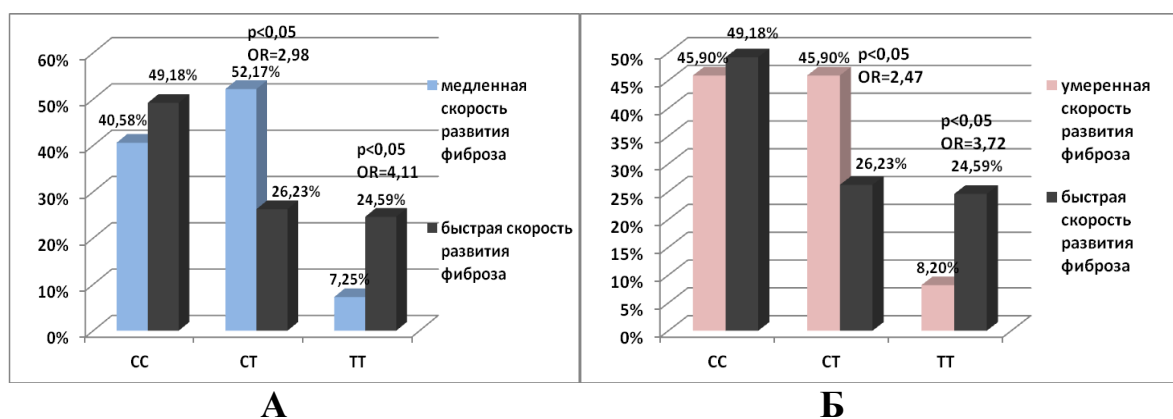


Рис. 5. Различия в частоте встречаемости отдельных аллельных вариантов гена *IL-1B* у пациентов групп низкой и высокой скорости развития ФП (А) и групп с умеренной и высокой скоростью (Б).

При сравнении частоты встречаемости отдельных аллельных вариаций гена *TNF-A* по локусу -238 в группах с разной скоростью развития ФП были получены статистически значимые различия (Рис. 6, стр. 15).

Так, в группе с медленной скоростью генотип GG встречается в 1,21 раз чаще, чем в группе с быстрой ($p<0,05$). Генотип GA достоверно чаще определялся у пациентов с высокой скоростью развития фиброза, чем у пациентов с медленной (Рис. 6А). Получены достоверные различия и между группами с умеренной и высокой скоростью развития ФП (Рис. 6Б). В группе с умеренной скоростью генотип GG выявлялся чаще, чем в группе с быстрой ($p<0,05$). Генотип GA достоверно чаще (в 13 раз) встречается у пациентов с быстрой скоростью развития фиброза, чем у пациентов с умеренной скоростью.

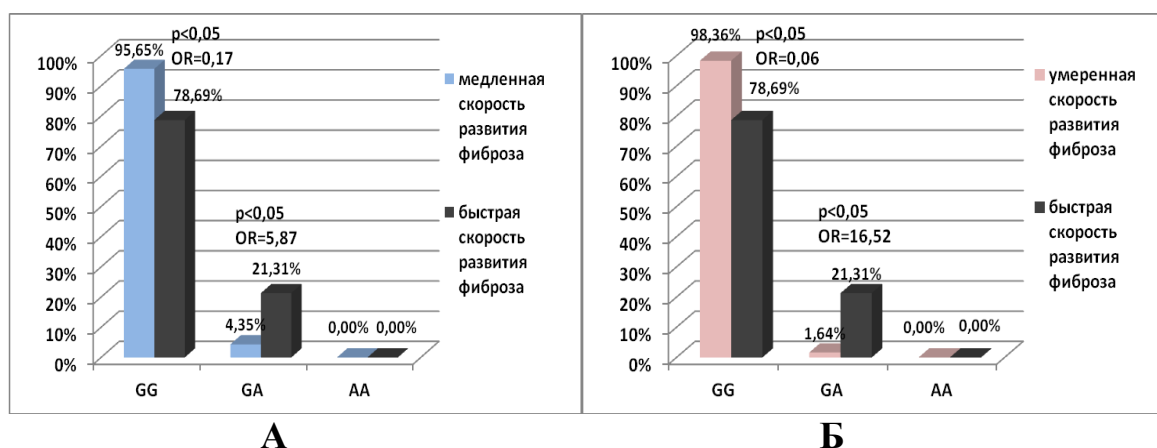


Рис. 6. Частота встречаемости аллельных вариаций гена *TNF-A* в группах пациентов с низкой и высокой скоростью развития фиброза (А), с умеренной и высокой скоростью (Б).

Аналогичные результаты по ассоциации аллельного варианта GA с быстрым развитием ФП получены для коренных жителей Германии (Hohler T. et al., 1998).

Как установлено ранее, аллельные варианты, приводящие к высокой секреции *TGF-β1*, являются факторами риска прогрессирования фиброза печени (Wilson L.E. et al., 2006). Получены достоверные различия между группами с умеренной и быстрой скоростью формирования фиброза. Частота встречаемости генотипа GG были в 1,17 раз чаще в группе с умеренной скоростью, чем в группе с быстрой скоростью. Генотип GC достоверно чаще (в 2,60 раза) встречается у пациентов с быстрой скоростью фиброгенеза, чем у пациентов с умеренной (Рис. 7).

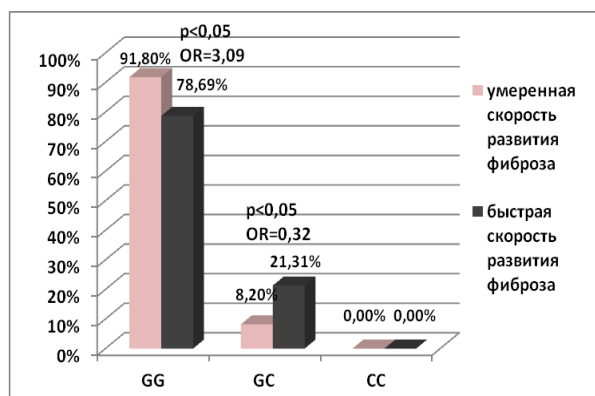


Рис. 7 — Различия в частотах встречаемости генотипов гена *TGF-β1* в группах с различной скоростью фиброгенеза

Ассоциации между различными аллельными вариациями полиморфных локусов генов *IL-6*, *IL-10* и *IL-28B* (в локусах rs12979860 и rs8099917) со скоростью фиброгенеза печени в нашем исследовании не выявлено.

Изучение ассоциаций полиморфизма гена гемохроматоза со скоростью развития фиброза печени

При сравнении частоты встречаемости отдельных аллельных вариаций гена *HFE* по локусу H63D в группах пациентов с различной скоростью развития ФП статистически значимых отличий выявить не удалось. Ввиду малочисленности лиц, имеющих сочетания CY и YY по локусу C282Y, было выполнено сравнение пациентов с доминантной парой CC в группах с медленной и умеренной скоростью (65 и 61 пациент) против группы с быстрым развитием фиброза (54 пациента). Обнаружено, что пациенты с доминантной парой CC достоверно чаще встречались в группах с низкой и умеренной скоростью развития фиброза, чем в группе с быстрым развитием фиброза ($p < 0,001$). У пациентов последней группы чаще определялись пары CY и YY, чем в группах с низкой и умеренной скоростью развития. Очевидно, наличие аминокислотного остатка тирозина (Y) в положении 282 ассоциировано с более быстрым развитием ФП.

Итак, при анализе скорости развития фиброза печени статистически значимыми оказались ОНП генов *TNF-A* (-238 G>A) и *HFE* C282Y. Эти данные согласуются с результатами других авторов (Hohler T. et al., 1998; Pacal L. et al., 2002; Gehrke S.G., et al., 2003; Абдуллаев С.М., и соавт., 2006).

Многофакторный анализ роли полиморфизма исследуемых генов пациентов и генетических факторов вируса в эффективности терапии

В нашем исследовании при работе с большим массивом накопленных данных по полиморфизму вируса и отдельных генов пациентов с ХГС возникла необходимость многофакторной статистической обработки. В процессе создания модели были проанализированы различные сочетания аллельных вариаций всех исследуемых генов и учитывались как достоверные различия между группами пациентов, так и уровень достоверности самой модели. В результате была создана комплексная прогностическая модель. В этой модели использовалась система условных баллов, согласно которым можно прогнозировать результат ПВТ и скорость развития ФП. Данная прогностическая модель была создана впервые

Для прогнозирования эффективности терапии статистически значимыми оказались ОНП генов хозяина *IL-1B* (-511 C>T) и *IL28B* (rs12979860 C>T, rs8099917 T>G). В нашей модели с появлением хотя бы одной минорной аллели по этим генам количество условных баллов увеличивается, а вероятность достижения УВО у пациентов уменьшается. Самый благоприятный прогноз ПВТ характерен для пациентов с наименьшим количеством баллов, когда в генотипе пациента обнаружены только мажорные аллельные вариации по всем трем генам. Однако очень важным фактором в прогнозе противовирусной терапии остается генотип/субтип вируса, которым инфицирован пациент. Поэтому в таблицах 4 и 5 приведены данные по сумме баллов пациента по генам *IL-1B* и *IL28B* отдельно для каждого субтипа вируса.

Таблица 4

Сумма баллов по аллельным вариантам полиморфных генов пациентов, прошедших курс ПВТ, инфицированных вирусом субтипа 3a

Ответ на терапию	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла	Количество пациентов
УВО (% , n)	70,00%(7)	50,00%(7)	50,00%(6)	40,00%(2)	22
НО (% , n)	30,00%(3)	50,00%(7)	50,00%(6)	60,00%(4)	20
Количество пациентов	10	14	12	6	42

Таблица 5

Сумма баллов по аллельным вариантам полиморфных генов пациентов, прошедших курс ПВТ, инфицированных субтипом вируса 1b

Ответ на терапию	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла	Количество пациентов
УВО (% , n)	62,50%(5)	44,00%(11)	28,57%(8)	11,11%(2)	26
НО (% , n)	37,50%(3)	56,00%(14)	71,43%(20)	88,89%(16)	53
Количество пациентов	8	25	28	18	79

С появлением у пациента хотя бы одной «мутантной» аллели в этих генах уменьшается вероятность успеха ПВТ. Значение баллов:

0 – пациент гомозиготен по генам *IL-1B* и *IL28B* (локус С/Т) и *IL28B* (локус Т/Г), генотип пациента – СС/СС/ТТ;

1 – пациент гетерозиготен хотя бы по одному из этих генов, варианты его генотипа – СС/СТ/ТТ, СТ/СС/ТТ, СС/СС/ТГ;

2 – пациент гетерозиготен по двум генам, варианты его генотипа – СС/СТ/ТГ, СТ/СТ/ТТ, СТ/СС/ТГ;

3 – пациент гетерозиготен по трем генам (СТ/СТ/ТГ) или имеет обе «мутантные» аллели в одном из генов, варианты его генотипа - ТТ/СТ/ТТ, ТТ/СС/ТГ, СТ/ТТ/ТТ, СС/ТТ/ТГ, СТ/СС/ГГ, СС/СТ/ГГ.

Среди всех пациентов с генотипом СС по локусу rs12979860 гена *IL28B* 94,74% имели генотип ТТ по локусу rs8099917 (Табл. 6).

Таблица 6

Частота сочетания аллельных пар по двум локусам rs12979860 и rs8099917 гена *IL28B*

rs12979860 \ rs8099917	ТТ, %(n)	ТГ, %(n)	ГГ, %(n)
СС, %(n)	94,74(54)	5,26(3)	0,00(0)
СТ, %(n)	42,65(29)	57,35(39)	0,00(0)
ТТ, %(n)	11,11(2)	55,56(10)	33,33(6)
Всего: 143	85	52	6

В нашей группе пациентов (имеющих восточнославянское происхождение) выявлена высокая частота одновременного выявления аллельных пар СС и ТТ, что свидетельствует о наличии гаплотипа С (rs12979860)/Т(rs8099917). Комбинация аллельных пар СТ и ТГ по частоте встречаемости занимает второе место (57,35%), третье место – у пары ТТ и ТГ (55,56%). Не выявлено пациентов с сочетанием СС–ГГ и СТ–ГГ по гену *IL28B*.

Анализ сочетанного влияния полиморфизма исследуемых генов пациентов и факторов вируса гепатита С на скорость развития фиброза печени

В результате многофакторного анализа генетических данных пациента и ВГС была создана модель, в которой присутствуют значимые ОНП генов, влияющих на скорость фиброзирование печени. Для оценки прогностического характера развития фиброза в зависимости от различных генотипов пациентов по генам *TNF-A* и *HFE* C282Y была сформирована система баллов. С

появлением у пациента хотя бы одной «мутантной» аллели по этим генам возрастает вероятность быстрого развития фиброза печени. Значение баллов:

0 – пациент имеет две гомозиготные доминантные аллели по обоим генам *TNF-A* и *HFE* (локус 282), его генотип GG/CC;

1 – пациент гетерозиготен хотя бы по одному из этих генов, его генотип – GA/CC или GG/CY;

2 – пациент гетерозиготен по обоим генам, его генотип – GA/CY;

3 – пациент по одному гену гетерозиготен, а по другому имеет обе мутантные аллели, его генотип – GA/YU.

С появлением хотя бы одной минорной аллели по этим генам количество условных баллов увеличивалось, также как и вероятность быстрого фиброзирования печени. Самый благоприятный прогноз, при котором скорость развития ФП минимальна, характерен для пациентов с наименьшей суммой баллов, в этом случае обнаружены только мажорные аллельные вариации по обоим генам. Однако важную роль в прогнозе скорости развития ФП играет генотип/субтип вируса, которым инфицирован пациент (Ackefors M. et al., 2013; Shueb D. et al., 2013). Ниже представлены таблицы данных для пациентов с учетом субтипа ВГС.

Таблица 7

Сумма баллов по аллельным вариантам полиморфных генов для пациентов с различной скоростью развития фиброза печени, инфицированных вирусом субтипа 3a

Скорость развития ФП	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла	Количество пациентов
Медленная, (% , n)	52,63%(10)	50,00%(13)	20,00%(1)	50,00%(1)	25
Умеренная, (% , n)	31,58%(6)	42,31%(11)	20,00%(1)	0,00%(0)	18
Быстрая, (% , n)	15,79%(3)	7,69%(2)	60,00%(3)	50,00%(1)	9
Количество пациентов	19	26	5	2	52

Пациенты, набравшие 0 баллов, достоверно чаще выявлялись в группе с низкой скоростью развития ФП, чем с быстрой ($p < 0,05$). Пациенты с 1 баллом равновероятно попадали в группы с низкой и умеренной скоростью развития ФП, но очень редко в группу с быстрой ($p < 0,05$). Сравнение пациентов с баллом 2 и 3 не было выполнено в виду их малочисленности.

При инфицировании пациента вирусом субтипа 1b появление гетерозиготности (1-3 балла) приводит к быстрому развитию фиброза ($p < 0,05$) (Табл 8).

Сумма баллов по аллельным вариантам полиморфных генов для пациентов с различной скоростью развития фиброза печени, инфицированных вирусом субтипа 1b

Скорость развития ФП	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла	Кол-во пациентов
Медленная, (% , n)	38,30%(36)	15,38%(2)	0,00%(0)	0,00%(0)	38
Умеренная, (% , n)	30,85%(29)	7,69%(1)	0,00%(0)	0,00%(0)	30
Быстрая, (% , n)	30,85%(29)	76,92%(10)	100,00%(1)	100,00%(1)	41
Количество пациентов	94	13	1	1	109

Итак, создана предсказательная модель, которая является определенным этапом в развитии современного персонифицированного подхода и позволяет оценить вероятность достижения УВО при стандартной двойной терапии и сделать прогноз по скорости развития фиброза печени у пациентов с ХГС.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что среди полиморфных генетических факторов вируса гепатита С: генотип/субтип, количество генетических вариантов, репликативная активность – наиболее значимым для прогноза терапии и оценки скорости развития фиброза печени является генотип вируса. Подтверждена динамика изменения субтипов 1b и 3a в Московском регионе.

2. Установлено, что достижение УВО при двойной стандартной терапии ассоциировано с ОНП генов цитокинов *IL28B* и *IL-1B*. Обнаружена высокая частота одновременной встречаемости аллельных пар CC (rs12979860) и TT (rs8099917) гена *IL28B*. Не выявлены ассоциации полиморфизма генов цитокинов: *IL-6* (-174 G>C), *IL-10* (-1082 G>A), *TNF-A* (-238 G>A), *TGF-B1* (+915 G>C); наследственного гемохроматоза – *HFE* (H63D, C282Y) и генов, вовлеченных в развитие эндотелиальной дисфункции *eNOS* (+894 G>T) и оксидативного стресса *p22phox* (+242C>T) с ответом на терапию.

3. Выявлено, что быстрое развитие фиброза печени достоверно чаще наблюдается у пациентов, имеющих аллельный вариант GA (-238 G>A) гена *TNF-A*, генотип GC (+915 G>C) гена *TGF-B1* и вариант CY или YY (C282Y) в белке, кодируемом геном *HFE*. Медленное развитие фиброза печени достоверно чаще отмечается у пациентов с генотипом GG в локусе -238 G/A гена *TNF-A* и аллельным вариантом CT (+242 C/T) гена *p22phox*. Не выявлены ассоциации полиморфизма генов цитокинов: *IL-1B* (-511 C>T), *IL-6* (-174 G>C), *IL-10* (-1082 G>A), *IL-28B* (rs12979860 C>T, rs8099917 T>G), и гена, вовлеченного в

развитие эндотелиальной дисфункции *eNOS* (+894 G>T) с разной скоростью развития фиброза.

4. Создана прогностическая модель с условной системой баллов. На ее основе установлено, что высокая вероятность достижения УВО отмечается при инфицировании пациента ВГС генотипа 2 или 3 и при выявлении у больного аллелей СС (rs12979860) и ТТ (rs8099917) гена *IL28B*, отсутствии генотипа ТТ (-511 С/Т) гена *IL-1B*. Высокая вероятность неэффективности терапии наблюдается при инфицировании пациентов вирусом генотипа 1 и при наличии у них Т- (rs12979860) или G-аллеля (rs8099917) гена *IL28B* и генотипа ТТ (-511 С/Т) гена *IL-1B*.

5. С помощью данной модели показано, что прогностическими факторами медленной скорости развития фиброза являются: инфицирование пациента вирусом субтипа 3а, наличие в гене *TNF-A* аллельной пары GG (-238 G/A) и варианта СС (С282Y) в белке гена *HFE*. Прогностическими факторами быстрого фиброобразования печени являются: инфицирование ВГС генотипа 1, наличие в гене *TNF-A* аллельного варианта GA (-238 G/A) и вариантов СY и YY (С282Y) в белке гена *HFE*.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК:

1. Николаева Л.И., Колотвин А.В., Самоходская Л.М., Макашова В.В., Токмалаев А.К., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Генетический полиморфизм и эффективность противовирусной терапии при хроническом вирусном гепатите С. Вестник Российского Университета дружбы народов. Серия «Медицина». 2012, №2, с.81-88.

2. Николаева Л.И., Колотвин А.В., Самоходская Л.М., Сапронов Г.В., Макашова В.В., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Гришечкин Е.А., Беляева Н.М., Гибадулин Р.А. Анализ влияния генетических факторов вируса гепатита С и полиморфизма генов инфицированных людей на развитие фиброза печени. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012, №5, с.7-13.

3. Николаева Л.И., Сапронов Г.В., Колотвин А.В., Самохвалов Е.И., Лейбман Е.А., Самоходская Л.М. Гепатит С при инфицировании рекомбинантной формой вируса RF2k/1b: течение и терапия. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2014, №3, с. 9-15.

Публикации в других изданиях:

1. Николаева Л.И., Самоходская Л.М., Макашова В.В., Колотвин А.В., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Арутюнова М.А., Таратина О.В., Гибадулин Р.А., Клименко С.М., Лидеман Л.Ф. Поиск генетических факторов вируса гепатита С и пациентов с хроническим гепатитом С, ассоциированных с формированием устойчивого вирусологического ответа на противовирусную терапию. В мире вирусных гепатитов. №1, с. 25-36

2. Николаева Л.И., Самоходская Л.М., Макашова В.В., Петрова Е.В., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Колотвин А.В., Лидеман Л.Ф., Арутюнова М.А., Макаревич П.И., Таратина О.В., Клименко С.М. Генетические особенности организма-хозяина и вируса гепатита С у больных с разным результатом противовирусной терапии. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии (РЖГГК). 2010, Приложение №35, с. 42. Материалы XV Российской конференции «Гепатология сегодня», 15-17 марта 2010, Москва.

3. Таратина О.В., Николаева Л.И., Самоходская Л.М., Макашова В.В., Колотвин А.В., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Арутюнова М.А., Лидеман Л.Ф., Клименко С.М. Влияние генетических особенностей организма-хозяина и вируса гепатита С на противовирусную терапию. Материалы II ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням, 29-31 марта 2010 г., Москва. РЖГГК, 2010, прилож. №35, с. 42.

4. Николаева Л.И., Самоходская Л.М., Макашова В.В., Таратина О.В., Колотвин А.В., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Арутюнова М.А., Петрова Е.В., Гибадулин Р.А. Влияние генетических факторов патогена и организма-хозяина на результат этиотропной терапии на примере хронического вирусного гепатита С. Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционных заболеваний» (Ташкент, 21-22 октября 2010 г.), 2010, с. 114-115.

5. Николаева Л.И., Самоходская Л.М., Макашова В.В., Колотвин А.В., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Арутюнова М.А., Таратина О.В., Лидеман Л.Ф., Клименко С.М. Влияние полиморфизма генома вируса гепатита С и гена наследственного гемохроматоза больных на эффективность противовирусной терапии. Сборник трудов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика - 2010», Москва, 24-26 ноября 2010 г., т.1, с. 277-279.

6. Колотвин А.В., Николаева Л.И., Самоходская Л.М., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Макашова В.В., Таратина О.В., Арутюнова М.А., Гибадулин Р.А. Роль генетического полиморфизма патогена и хозяина в формировании устойчивого вирусологического ответа на противовирусную терапию у больных хроническим гепатитом С. Материалы VIII Международной конференции «Медицинская генетика соматических клеток» (6-10 декабря 2011 г, Звенигород), 2011, с. 19-20.

7. Колотвин А.В., Самоходская Л.М., Макашова В.В., Сапронов Г.В., Самохвалов Е.И., Николаева Л.И. Аллельные вариации полиморфных локусов гена интерлейкина-28В у пациентов с вирусным гепатитом С. Материалы VI Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням, Москва, 24-26 марта 2014 г. Инфекционные болезни. 2014, т. 12, прилож. 1, стр. 138.

8. Колотвин А.В., Самоходская Л.М., Яровая Е.Б., Самохвалов Е.И., Николаева Л.И. Предсказательная модель оценки вероятности успешного результата лечения пациентов с вирусным гепатитом С. Материалы VI

Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням, Москва, 24-26 марта 2014 г. Инфекционные болезни. 2014, т. 12, прилож. 1, стр. 139.

Публикация, не вошедшая в диссертацию

1. Самоходская Л.М., Балацкий А.В., Садекова О.Н., Таратина О.В., Колотвин А.В. и др. Молекулярно-генетический анализ предрасположенности человека к мультифакторным заболеваниям: Монография / Научный редактор академик РАН и РАМН В.А. Ткачук. М.: Издательство Московского университета. 2011. 388 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

1ГВР – первый гипервариабельный регион.

ВГС – вирусный гепатит С.

ГС – гепатит С.

ДИ – доверительный интервал.

ОНП – однонуклеотидный полиморфизм.

ОШ (OR) – отношение шансов.

ПВТ – противовирусная терапия.

УВО – устойчивый вирусологический ответ.

ФП – фиброз печени.

ХГС – хронический гепатит С.

IL – интерлейкин.

eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота.

METAVIR – шкала стадий фиброза печени.

NO – оксид азота.

TNF- α – фактор некроза опухоли альфа, Tumor necrosis factor-alpha.

TGF- β 1 – трансформирующий фактор роста β 1.

HFE – ген гемохроматоза.

Выражаю признательность и благодарность:

за помощь в сборе клинического материала
врачам Клинической инфекционной больницы №2
врачам Клиники нефрологии внутренних и профессиональных
заболеваний им. Е.М. Тареева

за помощь в проведении ряда экспериментов

к.б.н. Самохвалову Е.И.,

к.б.н. Альховскому С.В.,

Арутюновой М.А.

Балацкому А.В.

за помощь в освоении молекулярно-генетических методов

сотрудникам лаборатории генных и клеточных технологий в медицине
ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова

сотрудникам лаборатории генно-инженерных препаратов «НИИ
вирусологии им. Д.И. Ивановского»