

Генетические маркеры фиброгенеза при хроническом вирусном гепатите С*

Гончарова И.А.¹, Назаренко М.С.^{1,2}, Тарасенко Н.В.^{1,2},
Марков А.В.¹, Белобородова Е.В.², Пузырев В.П.^{1,2}

¹ — Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»,
Томск, Набережная р.Ушайки, 10, 634050, genetics@tnimc.ru

² — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Томск, Московский тракт, 2, 634050, rector@ssmu.ru

* irina.goncharova@medgenetics.ru

В исследование включены больные хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) (n = 184) и популяционная выборка жителей г.Томска (n = 285). Генотипирование 58 полиморфных вариантов выполнено методом масс-спектрометрии на приборе Sequenom MassARRAY® (США). Статистическая обработка данных проводилась в программной среде R с помощью стандартного пакета «stats» (версия 3.0.3) [http://www.R-project.org/]. Больные ХВГС характеризуются более высокой частотой аллелей «А» rs679620 гена *MMP3* (OR = 1,74, 95%CI: 1,25–2,42; p = 0,0001) и «С» rs3739998 гена *KIAA1462* (OR = 1,33, 95%CI: 1,01–1,75; p = 0,044) и более низкой частотой аллелей «Т» rs20579 гена *LIG1* (OR = 0,55, 95%CI: 0,36–0,84; p = 0,004), «G» rs3765124 гена *ADAMDEC1* (OR = 0,68, 95%CI: 0,51–0,84; p = 0,006) и «С» rs1007856 гена *ITGB5* (OR = 0,75, 95%CI: 0,57–0,99; p = 0,045), по сравнению с контрольной группой. Предрасполагающими к развитию ХВГС являются генотипы «СС» rs10087305 (OR = 5,83, 95%CI: 1,74–19,02; p = 0,002) и «АА» rs3765124 (OR = 1,78, 95%CI: 1,16–8,46; p = 0,008) гена *ADAMDEC1*; «АА» rs679620 гена *MMP3* (OR = 2,40, 95%CI: 1,40–4,12; p = 0,001); «ТТ» rs1007856 гена *ITGB5* (OR = 1,74, 95%CI: 1,10–2,73; p = 0,015); «СС» rs20579 гена *LIG1* (OR = 1,92, 95%CI: 1,18–3,12; p = 0,007); «СС» rs3739998 гена *KIAA1462* (OR = 1,89, 95%CI: 1,16–3,10; p = 0,009). Таким образом, в предрасположенность ХВГС вносят вклад гены регуляции метаболизма экстрацеллюлярного матрикса (*ADAMDEC1*; *MMP3*; *ITGB5*), непосредственно влияющие на процессы фиброгенеза, а также гены, ответственные за функционирование эндотелия (*KIAA1462*) и репарацию ДНК (*LIG1*).

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит С (ХВГС), гены *ADAM*-подобного дицелина 1 (*ADAMDEC1*), металлопротеазы 3 (*MMP3*), интегрин бета 5 (*ITGB5*), лигазы 1 (*LIG1*), *KIAA146*

Введение

С 1989 года, когда впервые из крови больных гепатитом «ни А, ни В» была выделена РНК возбудителя, охарактеризованного как вирус гепатита С (Hepatitis C Virus — HCV), начались активные исследования как структуры вируса и реакций организма человека на вирусную инфекцию, так и взаимодействий вируса и организма хозяина на различных уровнях, в том числе и генетическом. Эти исследования в основном были направлены на выявление компоненты генома человека, определяющей подверженность к хронизации вирусного гепатита, скорости прогрессирования патологических процессов в печени, способности к спонтанному клиренсу вирусной инфекции, ответу на интерферонотерапию и развитие связанных с ней осложнений.

Было показано, что различные стадии трансформации от нормальной ткани печени до гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) характеризуются своим уникальным генетическим статусом. Так, например, при трансформации нормальной ткани печени в цирроз, ключевыми являются гены, продукты которых вовлечены в метаболизм внеклеточного матрикса, передачу сигналов между

клетками, иммунный ответ и метаболизм нуклеиновых кислот. Онкологическая же трансформация от дисплазии до ГЦК характеризуется включением генов, регулирующих клеточное деление и межклеточные взаимодействия [32].

Кроме этого, большое внимание уделялось изучению взаимодействия вируса и организма человека, поиска генетических мишеней, обеспечивающих возможность «ускользания» вируса от иммунного ответа хозяина, длительной персистенции вируса и хронизации инфекции. Так, показано, что более 200 белков человека взаимодействуют с белками вируса NS3, NS5A и CORE, 21 из которых являются «топовыми» и относятся к таким биохимическим путям, как передача сигнала и межклеточные взаимодействия, где основными являются метаболизм инсулина, TGFβ, интегрин-ассоциированная клеточная адгезия и Jak/STAT сигнальный путь [13]. Таким образом, проведенные исследования показали, что ХВГС является сложным патологическим состоянием, развитие которого обусловлено взаимодействием генома вируса с генами организма «хозяина», белковые продукты которых относятся к различным биохимическим путям.

* Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ (договор № 20 16-04-00840\16).

В настоящем исследовании был выполнен анализ вовлеченности генов, участвующих в процессах фиброгенеза и ассоциированных с развитием цирроза печени, прогрессированием фиброза различных органов (печень, почки и легкие) в детерминацию предрасположенности к ХВГС.

Материалы и методы

В исследование включены больные ХВГС ($n = 184$) в возрасте от 16 до 73 лет (средний возраст обследованных составил $40,2 \pm 13,9$ года; мужчин — 71%, женщин — 29%). На основании клинико-морфологического исследования у пациентов была установлена стадия фиброза печени, которая варьировала от умеренного фиброза (стадия фиброза — 2) до цирроза печени (стадия фиброза — 4).

Контрольная группа представляла собой популяционную выборку, состоящую из жителей г.Томска ($n = 285$) и включала в себя 54% мужчин и 46% женщин (средний возраст $56,7 \pm 8,4$ года). По этнической принадлежности все индивиды являются русскими. Критериями включения пациентов в настоящее исследование служили положительные результаты на наличие РНК вируса и маркеров вирусного гепатита С в крови.

Генотипирование 58 SNP, которые входили в состав панели разработанной в НИИ медицинской генетики, выполнено методом масс-спектрометрии на приборе Sequenom MassARRAY® (США). Данная панель была подробно описана ранее [1]. Статистическая обработка данных проводилась в программной среде R с использованием стандартного пакета «stats» (версия 3.0.3) [<http://www.R-project.org/>]. Функциональная аннотация генов осуществлялась с помощью программы STRING [<http://string-db.org/>].

Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей в исследуемых выборках выполнен методом перестановок (пермутационный тест, 10000 итераций) для получения точных оценок статистики χ^2 Пирсона. Проверка статистических гипотез при сравнительном анализе данных проводилась на 5%-ном уровне значимости.

Результаты и обсуждение

В популяционной выборке жителей г.Томска частоты минорных аллелей исследованных локусов находятся в пределах величин, характерных для популяций европеоидного происхождения [1]. При сравнении частот минорных аллелей между группой больных ХВГС и популяционной выборкой жителей г.Томска, которая служила в качестве контроля, были выявлены различия по полиморфным вариантам rs679620 гена *MMP3*, rs1007856 гена *ITGB5*, rs20579 гена *LIG1*, rs3739998 гена *KIAA1462* и rs3765124 гена *ADAMDEC1*. Показано, что больные ХВГС характеризуются более высокими частотами аллелей «А» rs679620 ($OR = 1,74$,

95%CI: 1,25—2,42; $p = 0,0001$) и «С» rs3739998 ($OR = 1,33$, 95%CI: 1,01—1,75; $p = 0,044$) и более низкой частотой аллелей «С» rs1007856 ($OR = 0,75$, 95%CI: 0,57—0,99; $p = 0,045$), «Т» rs20579 ($OR = 0,55$, 95%CI: 0,36—0,84; $p = 0,004$) и «G» rs3765124 ($OR = 0,68$, 95%CI: 0,51—0,84; $p = 0,006$) по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

По частотам генотипов различия между сравниваемыми группами показали локусы *ADAMDEC1* (rs10087305 и rs3765124), *MMP3* (rs679620), *ITGB5* (rs1007856), *LIG1* (rs20579), *KIAA1462* (rs3739998) (табл. 2). Статистически значимые различия наблюдались за счет более высокой частоты генотипов: «СС» rs10087305 и «АА» rs3765124 гена *ADAMDEC1*; «АА» rs679620 гена *MMP3*; «ТТ» rs1007856 гена *ITGB5*; «СС» rs20579 гена *LIG1*; «СС» rs3739998 гена *KIAA1462* у больных по сравнению с контролем (табл. 2). По частотам генотипов не было получено различий между мужчинами и женщинами, как в популяционной выборке (*ADAMDEC1* rs10087305 — $p = 0,277$; *ADAMDEC1* rs3765124 — $p = 0,957$; *MMP3* rs679620 — $p = 0,954$; *ITGB5* rs1007856 — $p = 0,839$; *LIG1* rs20579 — $p = 0,402$; *KIAA1462* rs3739998 — $p = 0,984$), так и в группе больных (*ADAMDEC1* rs10087305 — $p = 0,860$; *ADAMDEC1* rs3765124 — $p = 0,112$; *MMP3* rs679620 — $p = 0,117$; *ITGB5* rs1007856 — $p = 0,966$; *LIG1* rs20579 — $p = 0,359$; *KIAA1462* rs3739998 — $p = 0,957$).

Результаты проведенного исследования позволяют предположить наличие генетической предрасположенности к ХВГС. Так, например, при сравнении частот генотипов исследованных SNP между больными и популяционной выборкой, было показано, что у носителей генотипа «СС» rs10087305 гена *ADAMDEC1* риск развития ХВГС в 5,83 раза выше, чем у лиц с генотипами «GG» и «CG» данного полиморфного варианта ($p = 0,002$). Статистически значимое повышение риска развития ХВГС в 2,4 раза наблюдается и для носителей генотипа «АА» rs679620 гена *MMP3* и, в меньшей степени, для лиц с генотипами «ТТ» гена *ITGB5*, «СС» гена *LIG1* и «СС» гена *KIAA1462* (табл. 2).

Значительные различия в частотах генотипов между группами больных ХВГС и популяционной выборкой могут свидетельствовать о том, что, несмотря на высокий уровень хронизации вирусного гепатита С, довольно многочисленная группа лиц в популяции способна перенести острый гепатит С со спонтанным клиренсом инфекции. Это подтверждается и данными ВОЗ, что бессимптомное течение острого гепатита С сопровождается избавлением от вируса в течение 6 месяцев после заражения без медикаментозной терапии у 15—45% лиц [Гепатит С. ВОЗ. Информационный бюллетень 2015. №164. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/ru/>].

Различия в частотах генов между больными ХВГС и популяционными группами наблюдаются в разных расовых и этнических группах в различных регионах мира. В Забайкальском крае России выявлена связь аллелей

«Т», «А» и «G» SNP генов *IL10* (C819T и G1082A) и *IL2* (T330G) с ХВГС [4]. В Италии и Ирландии методом «случай-контроль» выявлены ассоциации некоторых SNP генов *IL10* и *TNF* с хронизацией и спонтанным клиренсом HCV-инфекции [22, 30]. Четырехкратное увеличение риска хронизации вирусного гепатита С выявлено для носителей гаплотипа «GGA» полиморфных вариантов rs2660, rs10774671 и rs3741981 гена 2',5'-олигоденилатсинтазы (*OAS1*) в Китае [31].

К настоящему времени выполнено большое количество исследований, затрагивающих различные вопросы генетики вируса гепатита и хозяина, взаимодействия геномов, подверженности к инфекции, изменчивости биохимических параметров у больных ХВГС, ответа на интерферонотерапию. В базе данных HuGE Navigator

(<http://www.cdc.gov/genomics/hugenet/hugenavigator.htm>) представлена информация о 346 генах человека, белковые продукты которых вовлечены в различные метаболические пути и процессы при HCV-инфекции. Среди наиболее изученных представлены гены: интерлейкина 28B (*IL28B*), которому посвящено 375 исследований и 10 метаанализов; интерферона лямбда 4 (*IFNL4*); инозинтрифосфатазы (*ITPA*); фактора некроза опухолей (*TNFA*); интерлейкина 10 (*IL10*); гемохроматоза (*HFE*); пататинподобной фосфолипазы (*PNPLA3*); трансформирующего фактора бета 1 (*TGFB1*), интерлейкина 1 бета (*IL1B*); интерферона гамма (*IFNG*); хемокинового рецептора (*CCR5*) и гены главного комплекса гистосовместимости (*HLA-DRB1*, *HLA-C*, *HLA-B*, *HLA-DQB1*, *HLA-A*, *HLA-DQA1*). Вышеупомянутые гены связаны,

Таблица 1

Частоты минорных аллелей исследованных SNP-маркеров у жителей г.Томска и больных ХВГС

Маркеры мультиплексной панели 31-плекс					Маркеры мультиплексной панели 27-плекс				
SNP_ID	Минорный аллель	Частота (%)		p	SNP_ID	Минорный аллель	Частота (%)		p
		Контроль	ХВГС				Контроль	ХВГС	
rs10087305	C	13,0	18,8	0,062	rs1007856	C	51,3	44,3	0,045
rs11133482	G	41,3	36,7	0,217	rs1107946	A	16,5	20,9	0,115
rs11515	G	11,6	10,3	0,628	rs1131454	G	38,6	36,2	0,507
rs11540899	A	41,1	36,4	0,252	rs1133763	C	16,2	14,6	0,570
rs12980602	C	21,5	20,5	0,782	rs1143674	G	49,2	—	—
rs1726866	C	49,1	43,5	0,234	rs12054703	G	19,8	21,1	0,670
rs17576	G	35,4	40,8	0,161	rs1333049	C	44,2	45,2	0,780
rs17740066	A	11,0	13,9	0,307	rs1817537	C	42,4	40,5	0,626
rs1800469	T	31,2	31,5	1,000	rs20579	T	18,5	11,1	0,004
rs1800588	T	24,0	26,3	0,492	rs2071559	C	44,0	47,7	0,298
rs1991401	G	37,7	36,0	0,690	rs2075555	A	14,8	16,9	0,396
rs1996546	A	14,9	11,1	0,147	rs2277698	A	13,0	11,9	0,671
rs2738446	G	30,6	35,8	0,419	rs3739998	C	41,9	48,3	0,044
rs2878771	C	20,9	20,2	0,853	rs3765124	G	48,9	39,2	0,006
rs3733619	G	11,7	10,6	0,720	rs4938056	T	43,8	46,0	0,531
rs3810153	G	44,1	38,4	0,166	rs4986790	G	7,9	6,2	0,356
rs3890182	A	9,8	9,7	1,000	rs4986819	G	12,9	11,7	0,676
rs4290029	C	14,4	14,6	1,000	rs5082	C	48,6	43,7	0,164
rs514921	G	22,5	18,46	0,239	rs626750	T	22,8	20,7	0,503
rs56051972	G	38,4	33,7	0,210	rs7023329	G	50,2	53,7	0,329
rs6668182	A	8,2	10,8	0,331	rs708272	T	44,7	39,2	0,118
rs6778643	C	49,4	56,2	0,072	rs803064	C	46,0	46,8	0,833
rs679620	A	43,7	57,5	0,000					
rs6841086	A	42,8	41,9	0,820					
rs7590760	G	44,5	43,5	0,821					
rs8326	C	11,6	11,7	1,000					
Примечание. p — уровень значимости, достигнутый с помощью критерия χ^2 при сравнении различий частот аллелей между группой больных ХВГС и популяционной выборкой жителей г.Томска (контроль).									

в основном, с функционированием иммунной системы. Следует отметить, что гены, показавшие ассоциацию с ХВГС в данном исследовании, задействованы в других метаболических путях, в частности — метаболизме экстрацеллюлярного матрикса (рисунок).

Среди генов, ассоциированных с ХВГС в настоящем исследовании, только ген *MMP3* был изучен ранее в связи с заболеваниями печени. Матриксные металлопротеиназы непосредственно вовлечены в процессы фиброгенеза, поскольку их функцией является расщепление белков экстрацеллюлярного матрикса, факторов свертывания крови, липопротеинов и молекул клеточной

адгезии. Металлопротеиназа *MMP3*, известная как стромелизин-1, участвует в расщеплении коллагена и протеогликанов, и играет роль в активации других металлопротеиназ. В гене *MMP3* к настоящему времени известно 828 полиморфных вариантов (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?showRare=on&chooseRs=all&go=Go&locusId=4314) и только немногие из них (rs520540, rs602128, rs679620, rs650108, rs639752, rs522616, rs3025058, rs35068180, rs639752) изучались в связи с многофакторными заболеваниями. Так, rs35068180 показал ассоциацию с неблагоприятным прогнозом развития ГЦК

Таблица 2

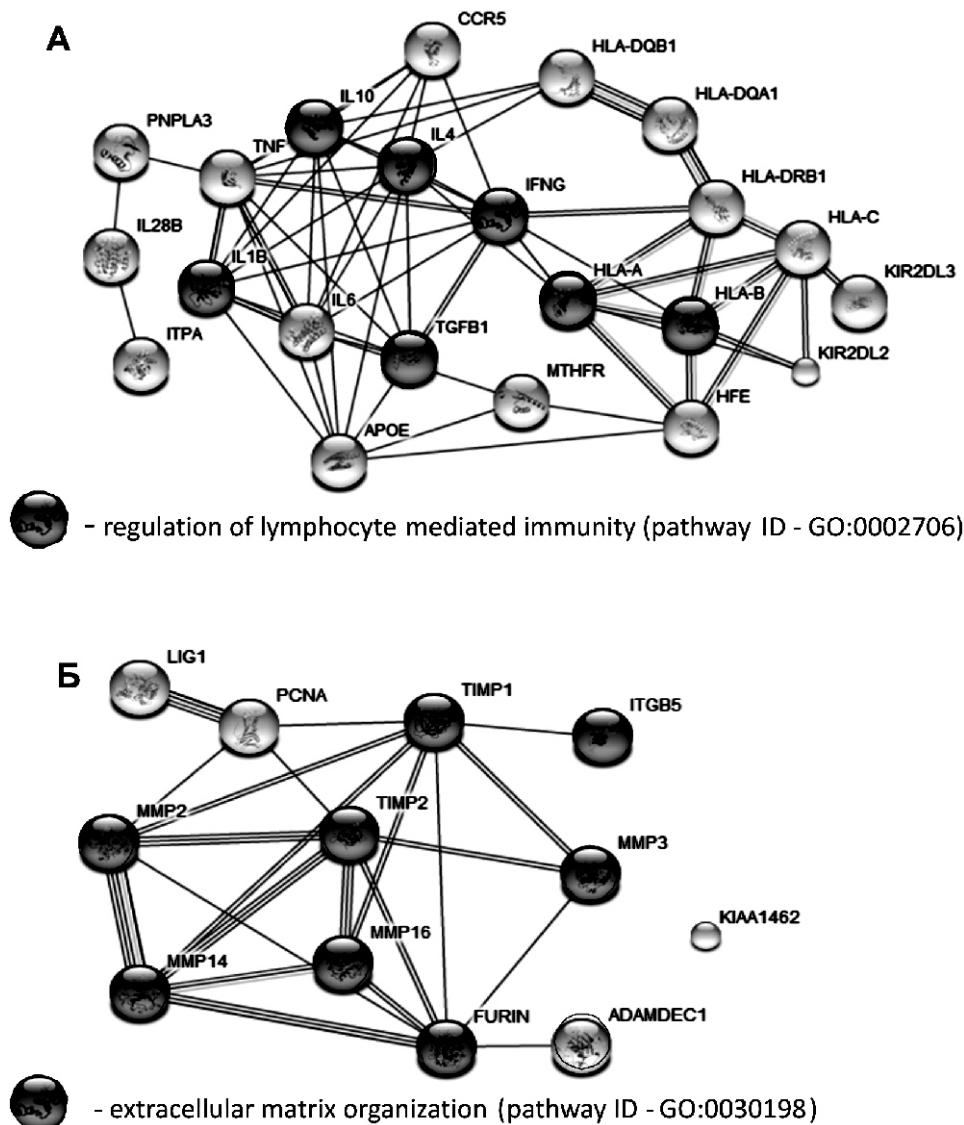
Частоты генотипов и их сочетаний исследованных SNP-маркеров генов *ADAMDEC1*, *MMP3*, *ITGB5*, *LIG1* и *KIAA1462*, показавших ассоциации с ХВГС

Ген	SNP (локализация)	Генотип	Контроль, N (%)	ХВГС	χ^2 (p)	OR (95%CI)
ADAMDEC1	Rs10087305 C/G (5'UTR)	GG	128 (75,7)	103 (73,0)	11,96 (0,002)	—
		GC	38 (22,5)	23 (16,3)		
		CC	3 (1,8)	15 (10,6)		
		GG+CG	166 (98,2)	126 (89,4)	9,48 (0,002)	0,17 (0,05-0,56)
		CC	3 (1,8)	15 (10,6)		
	Rs3765124 Ser365Asn (экзон 11)	AA	64 (24,3)	66 (36,5)	8,76 (0,012)	—
		AG	141 (53,6)	88 (48,6)		
		GG	58 (22,1)	27 (14,9)		
		AG+GG	199 (75,7)	115 (63,5)	7,04 (0,008)	0,56 (0,36-0,88)
		AA	64 (24,3)	66 (36,5)		
MMP3	Rs679620 Lys45Glu (экзон 2)	GG	54 (32,1)	32 (21,9)	12,34 (0,002)	—
		AG	81 (48,3)	60 (41,1)		
		AA	33 (19,6)	54 (37,0)		
		GG+AG	135 (80,4)	92 (63,0)	10,88 (0,001)	0,42 (0,24-0,71)
		AA	33 (19,6)	54 (37,0)		
ITGB5	Rs1007856 C/T (интрон 1)	TT	58 (22,22)	58 (33,14)	6,41 (0,041)	—
		TC	138 (52,87)	79 (45,14)		
		CC	65 (24,91)	38 (21,72)		
		TT	58 (22,22)	58 (33,14)	5,85 (0,016)	1,74 (1,10-2,73)
		TC+CC	203 (77,78)	117 (66,86)		
LIG1	Rs20579 C/T (5'UTR)	CC	152 (67,0)	140 (79,5)	8,17 (0,017)	—
		CT	66 (29,0)	33 (18,7)		
		TT	9 (4,0)	3 (1,7)		
		CC	152 (67,0)	140 (79,5)	7,25 (0,007)	1,92 (1,18-3,12)
		CT+TT	75 (33,0)	36 (20,5)		
KIAA1462	Rs3739998 Thy1002Gly (экзон 2)	GG	85 (32,2)	52 (28,6)	7,33 (0,026)	—
		GC	137 (51,89)	82 (45,0)		
		CC	42 (15,9)	48 (26,4)		
		GG+GC	222 (84,1)	134 (73,6)	6,69 (0,009)	0,53 (0,32-0,86)
		CC	42 (15,9)	48 (26,4)		

у больных ХВГС и биохимическими показателями функции печени, такими, как соотношение альбумин/глобулин, снижение которого наблюдается при некоторых инфекционных заболеваниях, в том числе гепатите, и циррозе печени [24, 27]. Полиморфный вариант rs679620 в связи с болезнями печени не изучался, но была показана его ассоциация с периодонтитом, инсультом и ревматоидным артритом [10, 18, 19].

Для изученных в настоящем исследовании полиморфных вариантов генов *ADAMDEC1*, *ITGB5*, *KIAA1462* и *LIG1* в доступных базах данных нет сведений относительно их связи с ХВГС. Однако, опираясь на молекулярные функции белков, кодируемых данными генами, можно предположить их возможное участие в патогенезе ХВГС.

Например, *ADAMDEC1* характеризуется металлопротеазной активностью, связанной с деградацией белков экстрацеллюлярного матрикса [http://www.hprd.org]. Показано, что при заболеваниях желудочно-кишечного тракта металлопротеазы (MMP) и их ингибиторы (TIMP) играют существенную роль. Соотношение уровня MMP/TIMP в сыворотке коррелирует со степенью токсического повреждения печени при алкогольной болезни, активностью воспалительных процессов и стадией фиброза печени у больных хроническими вирусными гепатитами. В связи с этим, металлопротеазы и их ингибиторы, в частности MMP2, MMP9, TIMP1, TIMP2, рассматриваются как кандидаты для неинвазивной оценки прогрессирования фиброза при заболеваниях печени



Функциональная аннотация генов, полиморфизм которых показал ассоциацию с ХВГС: а) гены, которые наиболее часто изучались (8 и больше исследований), согласно базе данных <http://www.cdc.gov/genomics/hugenet/hugenavigator.htm>; б) гены, показавшие ассоциацию с заболеванием в настоящем исследовании.

различной этиологии [20, 23]. Поскольку белок *ADAMDEC1* относится к семейству металлопротеиназ, функциональная активность его гена может влиять на интенсивность фиброгенеза и скорость прогрессирования различных заболеваний. Так, было показано, что снижение уровня экспрессии гена *ADAMDEC1* наблюдается при воспалительных процессах в кишечнике и онкологических заболеваниях желудка, кишечника и печени [12, 26]. Исследования связи полиморфизма гена *ADAMDEC1* с различными патологическими состояниями немногочисленны. Например, было показано, что гаплотип TGTGG пяти полиморфных вариантов (rs12674766, rs10087305, rs2291577, rs2291578, rs3765124) ассоциирован с повышенным уровнем фактора VIII свертываемости крови и развитием венозного тромбоза, а аллель «А» rs3765124 является предрасполагающим к развитию инфаркта миокарда, сахарного диабета первого типа и диабетической нефропатии [3].

Так же как и металлопротеиназы, на метаболизм экстрацеллюлярного матрикса оказывают влияние интегрины — белки семейства рецепторов клеточной поверхности, обеспечивающие межклеточные взаимодействия. Интегрины участвуют во многих клеточных процессах, включая имплантацию и эмбриональное развитие, рост и метастазирование опухолевых клеток, апоптоз, свертывание крови и перемещение клеток в зоны воспаления. Показано изменение уровня экспрессии интегрин бета 5 (*ITGB5*) в опухолевых клеточных линиях в зависимости от их локализации и радиочувствительности. Увеличение экспрессии наблюдается в клетках различных опухолей желудочно-кишечного тракта и понижение — в клетках радиочувствительных клеточных линий [11, 17]. Показаны ассоциации вариантов rs11902171, rs2675, rs17664, rs1062484 гена *ITGB5* с различными онкологическими заболеваниями, в том числе — желудочно-кишечного тракта [29]. Вклад полиморфизма данного гена в развитие ХВГС ранее не изучался.

Интенсивность процессов фиброгенеза в печени напрямую зависит от внутрипеченочной гемодинамики, нарушение которой может быть связано с повреждением эндотелия печеночных синусоидов и развитием эндотелиальной дисфункции, выраженность которой прямо пропорциональна степени поражения гепатоцитов и фиброза печени [6]. В связи с этим гены, которые кодируют белки, регулирующие функционирование эндотелия, могут служить молекулярно-генетическими маркерами фиброгенеза. Белок *KIAA1462* изучен недостаточно, предположительными его функциями являются: регуляция межклеточной адгезии, формирование цитоскелета, поддержание механической прочности и проницаемости эндотелия. Мутации и некоторые SNP гена *KIAA1462*, в частности rs3739998, показали ассоциацию с сердечно-сосудистыми заболеваниями и раком яичников [2, 8, 14]. Причем ассоциация rs3739998 с инфарктом миокарда и ХВГС имеет однонаправленный харак-

тер, где предрасполагающими к заболеванию являются аллель «С» и генотип «СС».

Известно, что вирус HCV вызывает хроническое воспаление, стимулирует продукцию оксида азота путем активации гена индуцибельной NO-синтазы (*NOS2*), что приводит к образованию активных форм кислорода, развитию окислительного стресса и подавлению репарации ДНК. Эти факторы являются причиной повышения уровня геномной нестабильности, включающей анеуплоидию, структурные aberrации хромосом, мутации в генах репарации ДНК, протоонкогенов и генов-супрессоров опухолей [21, 25]. Известно более 70 генов, обеспечивающих функционирование репарационной системы, полиморфизм которых является фактором межиндивидуальной вариативности в активности ферментов репарации. В частности, была показана связь некоторых SNP генов репарации с ферментативной активностью кодируемых белков, частотой хромосомных aberrаций, микросателлитной нестабильностью и различными, в том числе, онкологическими заболеваниями [7, 15, 28]. Некоторые полиморфные варианты генов репарационной системы (*XRCC1*, *XRCC3*, *XRCC4*, *hMLH1*, *OGG1*, *ERCC5*, *XPB*) ассоциированы с алкогольной болезнью печени, развитием, прогрессированием и выживаемостью пациентов с ЦЖК [5, 16].

Полиморфизм гена *LIG1*, продукт которого участвует в процессах репарации и рекомбинации ДНК, влияет на функциональную активность гена, снижение которой приводит к накоплению повреждений ДНК, нестабильности генома, увеличению числа хромосомных aberrаций и развитию различных заболеваний. Для некоторых SNP данного гена выявлены ассоциации с онкологическими и сердечно-сосудистыми заболеваниями [2, 9]. Наблюдается однонаправленная ассоциация полиморфного варианта rs20579 с вышеперечисленными патологиями, а именно, аллель «С» является «рисковым» для развития рака легких и ИБС, так же как и для ХВГС.

Таким образом, в результате настоящего исследования показано, что в формирование фенотипа ХВГС и подверженность к хронизации вирусной инфекции, вносит вклад полиморфизм генов *ADAMDEC1*, *MMP3*, *ITGB5*, *KIAA1462* и *LIG1*, белковые продукты которых участвуют в метаболизме экстрацеллюлярного матрикса, функционировании эндотелия и репарации ДНК.

Список литературы

1. Гончарова И.А., Кучер А.Н., Тарасенко Н.В., и др. Разработка панели генетических маркеров фиброгенеза и оценка ее информативности для русского населения г.Томска // Медицинская генетика. — 2015. — №8. — С.7-12.
2. Гончарова И.А., Макеева О.А., Голубенко М.В., и др. Гены фиброгенеза в детерминации предрасположенности к инфаркту миокарда // Молекулярная биология. — 2016. — Т. 50, № 1. — С. 94-105.

3. Гончарова И.А., Тарасенко Н.В., Макеева О.А., и др. Полиморфизм гена ADAMDEC1 и его вклад в развитие заболеваний, характеризующихся процессами фиброгенеза // Медицинская генетика. — 2015. — №9. — С.24-30.
4. Емельянова А.Н., Витковский Ю.А. Полиморфизм генов цитокинов ИЛ2 (Т330G), ИЛ10 (С819Т) и ил10 (G1082A) при хроническом вирусном гепатите С // Молекулярная медицина. — 2013. — №3. — С. 41-44.
5. Лукманова Л.И., Давлетшин Р.А., Юлдашев В.Л. и др. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов XRCC1, XPD и XRCC3 с повышенным риском развития алкогольного гепатита // Медицинская генетика. — 2011. — № 9. — С. 31-35.
6. Щёкотова А.П., Котельникова Л.П., Мугатаров И.Н., Федчук Н.Н. Эндотелиальная дисфункция, воспаление и фиброз при гепатобилиарной патологии // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 5. — С. 451-455.
7. Azizian-Farsani F., Raffei G., Saadat M. Impact of Sodium Arsenite on Chromosomal Aberrations With Respect to Polymorphisms of Detoxification and DNA Repair Genes // International Journal of Toxicology. — 2014. — Vol. 33, №6. — P. 518-522.
8. Boyd J., Luo B., Peri S., et al. Whole exome sequence analysis of serous borderline tumors of the ovary // Gynecol Oncol. — 2013. — Vol. 130, №3. — P. 560-564.
9. Buch S.C., Diergaard B., Nukui T., Day R.S., et al. Genetic variability in DNA repair and cell cycle control pathway genes and risk of smoking-related lung cancer // Mol. Carcinog. — 2012. — Vol. 51. — P. 11-20.
10. Chen Y., Nixon N. B., Dawes P. T., Matthey D. L. Influence of variations across the MMP-1 and -3 genes on the serum levels of MMP-1 and -3 and disease activity in rheumatoid arthritis // Genes and Immunity. — 2012. — V.13. — P. 29-37.
11. Claehtout S., Lim J.Y., Choi W., et al. Gene Expression Signature Analysis Identifies Vorinostat as a Candidate Therapy for Gastric Cancer // PLoS ONE. — 2011. — Vol. 6, №9. e24662.
12. de Bruyn M., Machiels K., Vandooren J. et al. Infliximab restores the dysfunctional matrix remodeling protein and growth factor gene expression in patients with inflammatory bowel disease // Inflamm. Bowel Dis. — 2014. — Vol. 20, №2. — P. 339-352.
13. de Chasse B., Navratil V., Tafforeau L., et al. Hepatitis C virus infection protein network // Molecular Systems Biology. — 2008. Vol. 4, №230. P. 1-12.
14. Erdmann J., Willenborg C., Nahrstaedt J., Preuss M., et al. Genome-wide association study identifies a new locus for coronary artery disease on chromosome 10p11.23 // Eur. Heart J. — 2011. — Vol. 32. — P. 158-168.
15. Gaymes T.J., Mohamedali A.M., Patterson M., et al. Microsatellite instability induced mutations in DNA repair genes CtIP and MRE11 confer hypersensitivity to poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors in myeloid malignancies // Haematologica. — 2013. — Vol. 98, №9. — P. 1397-1406.
16. Jung S.W., Park N.H., Shin J.W., et al. Polymorphisms of DNA repair genes in Korean hepatocellular carcinoma patients with chronic hepatitis B: Possible implications on survival // Journal of Hepatology. — 2012. — Vol. 57. — P. 621-627.
17. Kim H.S., Kim S.C., Kim S.J., et al. Identification of a radiosensitivity signature using integrative metaanalysis of published microarray data for NCI-60 cancer cells // BMC Genomics. — 2012. — V.13. — P. 348.
18. Kim S.K., Kang S.W., Kim D.H., et al. Matrix Metalloproteinase-3 Gene Polymorphisms Are Associated with Ischemic Stroke // Journal of Interferon & Cytokine Research. — 2012. — Vol. 32, №2. — P. 81-86.
19. Letra A., Silva R.M., Rylands R.J., Silveira E.M., et al. MMP3 and TIMP1 variants contribute to chronic periodontitis and may be implicated in disease progression // J Clin Periodontol. — 2012. — Vol. 39. — P. 707-716.
20. Li Y., Zhang Q., Liu Y. et al. Hepatitis C virus activates Bcl-2 and MMP-2 expression through multiple cellular signaling pathways // Journal of Virology. — 2012 — Vol. 86, №23. — P. 12531-12543.
21. Machida K., McNamara G., Cheng K., et al. Hepatitis C Virus Inhibits DNA Damage Repair through Reactive Oxygen and Nitrogen Species and by Interfering with the ATM-NBS1/Mre11/Rad50 DNA Repair Pathway in Monocytes and Hepatocytes // J Immunol. -2010. — Vol. 185. — P. 6985-6998.
22. Mangia A., Santoro R., Piattelli M., et al. IL-10 haplotypes as possible predictors of spontaneous clearance of HCV infection // Cytokine. — 2004. — Vol. 25, № 3. — P. 103-109.
23. Nunez O., Fernandez-Martinez A., Majano P. L. et al. Increased intrahepatic cyclooxygenase 2, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 expression is associated with progressive liver disease in chronic hepatitis C virus infection: role of viral core and NS5A proteins // Gut. — 2004. — Vol. 53, №11. — P. 1665-1672.
24. Okamoto K., Ishida C., Ikebuchi Y., et al. The genotypes of IL-1 beta and MMP-3 are associated with the prognosis of HCV-related hepatocellular carcinoma // Intern Med. — 2010. — Vol. 49, №10. — P. 887-895.
25. Pal S., Polyak S.J., Bano N., et al. Hepatitis C virus induces oxidative stress, DNA damage and modulates the DNA repair enzyme NEIL1 // Journal of Gastroenterology and Hepatology. — 2010. — Vol. 25. — P. 627-634.
26. Pasini F.S., Zilberstein B., Snitcovsky I. et al. A gene expression profile related to immune dampening in the tumor microenvironment is associated with poor prognosis in gastric adenocarcinoma // J. Gastroenterol. — 2014. -Vol. 49, №11. — P. 1453-1466.
27. Sanchez-Parada M.G., Alvarez-Rodriguez B.A., Gomez-Meda B.C., et al. Association of genetic polymorphisms with histological grading of necroinflammation, staging of fibrosis, and liver function in Mexicans with chronic hepatitis C virus infection // J Investig Med. — 2015. — Vol. 61, №7. -. P.1088-1096.
28. Sobczuk A., Poplawski T., Blasiak J. Polymorphisms of DNA repair genes in endometrial cancer // Pathol Oncol Res. — 2012. — Vol. 18, №4. — P. 1015-20.
29. Song X., Zhong H., Zhou J., et al. Association between polymorphisms of microRNA-binding sites in integrin genes and gastric cancer in Chinese Han population // Tumor Biology. — 2015. — Vol. 36, №4. — P. 2785-2792.
30. Vidigal P.G., Germer J.J., Zein N.N. Polymorphisms in the interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta1 genes in chronic hepatitis C patients treated with interferon and ribavirin // J Hepatol. — 2002. — Vol. 36, №2. — P. 271-277.
31. Zhao Y., Kang H., Ji Y., Chen X. Evaluate the relationship between polymorphisms of OAS1 gene and susceptibility to chronic hepatitis C with high resolution melting analysis // Clin Exp Med. — 2013. — Vol. 13. — P. 171-176.
32. Zheng S., Tansey W.P., Hiebert S.W., Zhao Z. Integrative network analysis identifies key genes and pathways in the progression of hepatitis C virus induced hepatocellular carcinoma // BMC Medical Genomics. — 2011. — Vol. 4, № 62. — P. 1-10.

Genetic markers of fibrogenesis in determining susceptibility to chronic hepatitis C virus infection

Goncharova I.A.¹, Nazarenko M.S.^{1,2}, Tarasenko N.V.^{1,2},
Markov A.V.¹, Beloborodova E.V.², Puzyrev V.P.^{1,2}

¹ — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRCM, Tomsk, 10 Nab. Ushaiki, 634050, genetics@tnimc.ru

² — Siberian State Medical University, Tomsk, 2 Moskovsky trakt, 634050, international.ssmu@gmail.com

* irina.goncharova@medgenetics.ru

The study included patients with chronic viral hepatitis C (chronic HCV) (n = 184) and a population-based sample of Tomsk residents (n = 285). Genotyping of 58 polymorphic variants was performed using mass spectrometry on the Sequenom MassARRAY® (USA). Statistical data processing was carried out in the software environment R. Patients with chronic HCV have higher frequency of 'A' allele of the *MMP3* gene variant rs650108 (OR = 1,74, 95%CI: 1,25-2,42; p = 0,0001), and 'C' allele of the *KIAA1462* gene variant rs3739998 (OR = 1,33, 95%CI: 1,01-1,75; p = 0,044) and a lower frequency of 'T' allele of the *LIG1* gene variant rs20579 (OR = 0,55, 95%CI: 0,36-0,84; p = 0,004), 'G' allele of the *ADAMDEC1* gene variant rs3765124 (OR = 0,68, 95%CI: 0,51-0,84; p = 0,006) and 'C' allele of the *ITGB5* gene variant rs1007856 (OR = 0,75, 95%CI: 0,57-0,99; p = 0,045) compared with the controls. The following genotypes are predisposing to the development of chronic HCV: 'CC' of the rs10087305 variant (OR = 5,83, 95%CI: 1,74-19,02; p = 0,002) and 'AA' of the rs3765124 variant (OR = 1,78, 95%CI: 1,16-8,46; p = 0,008) of the *ADAMDEC1* gene; 'AA' of the *MMP3* gene variant rs679620 (OR = 2,40, 95%CI: 1,40-4,12; p = 0,001); 'TT' of the *ITGB5* gene variant rs1007856 (OR = 1,74, 95%CI: 1,10-2,73; p = 0,015); 'CC' of the *LIG1* gene variant rs20579 (OR = 1,92, 95%CI: 1,18-3,12; p = 0,007); 'CC' of the *KIAA1462* gene variant rs3739998 (OR = 1,89, 95%CI: 1,16-3,10; p = 0,009). Therefore, in susceptibility to chronic HCV contribute genes of extracellular matrix metabolism regulation (*ADAMDEC1*; *MMP3*; *ITGB5*), directly affecting the processes of fibrogenesis, as well as genes responsible for the endothelial function (*KIAA1462*) and DNA repair (*LIG1*).

Key words: chronic viral hepatitis C (chronic HCV), ADAM-Like Decysin 1 gene (*ADAMDEC1*), metalloprotease 3 gene (*MMP3*), integrin beta 5 gene (*ITGB5*), ligase 1 gene (*LIG1*), *KIAA1462*