

ОСОБЛИВОСТІ МІЖГЕННИХ ТА ГЕН-ФАКТОРНИХ ВЗАЄМОДІЙ У ПАТОГЕНЕТИЧНИХ МЕХАНІЗМАХ РОЗВИТКУ АЛКОГОЛЬНОГО ГЕПАТИТУ ТА АЛКОГОЛЬНОГО ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ

В.Є. Молодцов¹, З.І. Россоха¹, О.І. Федів²

Миколаївська міська лікарня №1

ДЗ "Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України"¹

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет" м. Чернівці²

Мета роботи - проаналізувати комбінації генотипів за генами *eNOS* (T-786C), *PNPLA3* (C10109G), *CD-14* (C-159T) у хворих на алкогольну хворобу печінки (АХП). **Матеріал і методи.** Обстежено 99 пацієнтів із встановленим діагнозом АХП. У 37 (37,37 %) із 99 пацієнтів основної групи було підтверджено за допомогою додаткових лабораторних та інструментальних методів алкогольний гепатит (АГ), а у 62 (62,62%) - алкогольний цироз печінки (АЦП). У 64,86 % пацієнтів з АГ та у 64,51% з АЦП було виявлено гіпертонічну хворобу (ГХ) I-II стадій, I-II ступенів, без серцевої недостатності, тому до групи порівняння із 21 практично здоровою особою було також залучено 10 (32,25%) осіб з ГХ. Для визначення поліморфних варіантів генів *CD 14* (C-159T), *rs2569190 PNPLA3* (C10109G), *rs738409 та eNOS* (T-786C), *rs2070744* використовували модифіковані протоколи з олігонуклеотидними праймерами із застосуванням методу полімеразної ланцюгової реакції та наступним аналізом поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів.

Результати. Встановлено, що між хворими на АГ та хворими на АЦП не було виявлено значущих відмінностей при аналізі комбінацій генотипів за двома генами *eNOS/PNPLA3*, *eNOS/CD14*, *CD14/PNPLA3*. У практично здорових осіб частота розповсюдження комбінацій генотипів TC/CT за генами *eNOS/CD14* становила 33,33% та була достовірно вищою ніж у пацієнтів з АЦП - на 11,29% ($\chi^2 = 5,43$; $p < 0,05$). Під час розрахунку показника співвідношення шансів OR, який склав 0,255 (з довірчим інтервалом CI: 0,077-0,846), з'ясовано, що зазначена комбінація генотипів знижує ризик розвитку АЦП. У пацієнтів із АГ, як і у практично здорових осіб, була підвищена частка осіб із комбінацією генотипів TC/CC за генами *eNOS/PNPLA3* порівняно з пацієнтами із АЦП, але зазначене підвищення не було достовірним ($\chi^2 = 3,22$; $p > 0,05$); для значущих відмінностей критичне значення показника мало повинно становити 3,84, що було підтверджено розрахунком показника співвідношення шансів (OR=2,19; CI: 0,92-5,19). А частка пацієнтів із комбінацією генотипів CC/CG за генами *eNOS/PNPLA3*, навпаки, була знижена серед пацієнтів із АГ порівняно з пацієнтами із АЦП, але ці відмінності також не були значущими ($\chi^2 = 3,56$; $p > 0,05$; OR=6,11; CI: 0,74-50,37). Серед хворих на гіпертонічну хворобу (ГХ) була значуще підвищена частота розповсюдження комбінацій генотипів TT/TT за генами *eNOS/CD14*, а також CC/GG за генами *CD14/PNPLA3* (20% та 30%, а у клінічно здорових осіб цих комбінацій не виявлено взагалі, відповідно: $\chi^2 = 4,49$; $p < 0,05$ та $\chi^2 = 6,97$; $p < 0,01$). Результати аналізу розповсюдження комбінацій генотипів за трьома дослідженими генами показали, що значуща відмінність при цьому порівнянні була визначена лише для комбінації генотипів TT/TT/GG за генами *eNOS/CD14/PNPLA3*, частота яких переважала серед пацієнтів із ГХ порівняно із клінічно здоровими особами (20% та не виявлено взагалі, відповідно, $\chi^2 = 4,49$; $p < 0,05$; а показник співвідношення шансів зовсім не розраховувався, бо досліджена комбінація генотипів не була виявлена у клінічно здорових осіб). Комбінацію генотипів TC/CC/CC було виявлено у 10,10% хворих із АХП, з них - 13,51% у підгрупі із АГ та 8,06% у підгрупі із АЦП, а у групі порівняння цей генотип взагалі не було виявлено. Серед осіб групи порівняння та клінічно здорових осіб переважала частота розповсюдження комбінації генотипів TC/CT/GG (9,68% та 14,29%, відповідно) порівняно із загальною групою пацієнтів із АХП (2,02%) та пацієнтами із АГ (5,41%), а порівняно із хворими на АЦП, у яких не було цієї комбінації генотипів, згадане зростання було значущим ($\chi^2 = 6,20$; $p < 0,05$ та $\chi^2 = 9,18$; $p < 0,01$).

Висновок. При розрахунку розповсюдження всіх варіантів комбінацій генотипів у хворих на алкогольну хворобу печінки встановлено, що комбінації генотипів TC/CT за генами *eNOS/CD14* та TC/CT/GG за генами *eNOS/CD14/PNPLA3* значуще знижують ризик циротичного ураження печінки, у тому числі у випадку тривалого зловживання алкоголем.

Клінічна та експериментальна патологія. 2019. Т.18, №2 (68)

ISSN 1727-4338

<https://www.bsmu.edu.ua>

Ключові слова:

eNOS ген (rs2070744), *PNPLA3* ген (rs738409), *CD 14* ген (rs2569190), алкогольний гепатит, алкогольний цироз печінки.

Клінічна та експериментальна патологія Т.18, №2 (68). С.49-57.

DOI:10.24061/1727-4338.XVIII.2.68.2019.236

e-mail: valeriy.molodtsov70@gmail.com

Ключевые слова:

eNOS ген
(rs2070744),
PNPLA3 ген
(rs738409), *CD*
14 ген
(rs2569190),
алкогольный
гепатит, алко-
гольный цирроз
печени.

Клиническая и
экспериментальная
патология Т.18, №2
(68). С.49-57.

**ОСОБЕННОСТИ МЕЖГЕННЫХ И ГЕН-ФАКТОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ АЛКОГОЛЬНОГО ГЕПАТИТА И
АЛКОГОЛЬНОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ**

В.Е. Молодцов, З.И. Россоха, А.И. Федив

Цель работы - проанализировать комбинации генотипов по генам *eNOS* (T-786C), *PNPLA3* (C10109G), *CD-14* (C-159T) у больных алкогольной болезнью печени (АБП).

Материал и методы. Обследовано 99 пациентов с установленным диагнозом АБП. В 37 (37,37%) из 99 пациентов основной группы было подтверждено с помощью дополнительных лабораторных и инструментальных методов алкогольный гепатит (АГ), а в 62 (62,62%) - алкогольный цирроз печени (АЦП). В 64,86% пациентов с АГ и в 64,51% с АЦП была обнаружена гипертоническая болезнь (ГБ) I-II стадий I-II степеней, без сердечной недостаточности, поэтому к группе сравнения 21 практически здоровых лиц были также привлечены 10 (32,25%) человек с ГБ. Для определения полиморфных вариантов генов *CD 14* (C-159T), rs2569190 *PNPLA3* (C10109G), rs738409 и *eNOS* (T-786C), rs2070744 использовали модифицированные протоколы с олигонуклеотидными праймерами с применением метода полимеразной цепной реакции и последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов.

Результаты. Установлено, что между больными АГ и больными АЦП не было обнаружено значимых различий при анализе комбинаций генотипов по двум генам *eNOS* / *PNPLA3*, *eNOS* / *CD14*, *CD14* / *PNPLA3*. У практически здоровых лиц частота распространения комбинаций генотипов TC / CT по генам *eNOS* / *CD14* составляла 33,33% и была достоверно выше, чем у пациентов с АЦП - на 11,29% ($\chi^2 = 5,43$; $p < 0,05$). При расчете показателя соотношения шансов OR, который составил 0,255 (с доверительным интервалом CI: 0,077-0,846), установлено, что указанная комбинация генотипов снижает риск развития АЦП. У больных АГ, так же как и у практически здоровых лиц, была повышена доля лиц с комбинацией генотипов TC / CC по генам *eNOS* / *PNPLA3* по сравнению с больными АЦП, но указанное повышение не было достоверным ($\chi^2 = 3,22$, $p > 0,05$, для значимых различий критическое значение показателя должно составлять 3,84), что было подтверждено расчетом показателя соотношения шансов (OR = 2,19; CI: 0,92-5,19). А доля пациентов с комбинацией генотипов CC / CG по генам *eNOS* / *PNPLA3*, наоборот, была снижена у пациентов с АГ по сравнению с пациентами с АЦП, но эти различия также не были значимыми ($\chi^2 = 3,56$; $p < 0,05$; OR = 6,11; CI: 0,74-50,37). Среди больных гипертонической болезнью (ГБ) была значимо повышена частота распространения комбинаций генотипов TT / TT по генам *eNOS* / *CD14*, а также CC / GG по генам *CD14* / *PNPLA3* (20% и 30%, а у клинически здоровых лиц этих комбинаций не было выявлено вообще, соответственно: $\chi^2 = 4,49$; $p < 0,05$ и $\chi^2 = 6,97$; $p < 0,01$). Результаты анализа распространения комбинаций генотипов по трем исследованным генам показали, что значимое различие при этом сравнении было определено только для комбинации генотипов TT / TT / GG по генам *eNOS* / *CD14* / *PNPLA3*, частота которых преобладала среди больных ГБ по сравнению с клинически здоровыми лицами (20% и не обнаружено вообще, соответственно, $\chi^2 = 4,49$; $p < 0,05$, а показатель соотношения шансов вообще не рассчитывался, потому исследована комбинация генотипов не была выявлена у клинически здоровых лиц). Комбинацию генотипов TC / CC / CC было обнаружено в 10,10% больных АБП, из них - 13,51% в подгруппе с АГ и 8,06% - в подгруппе с АЦП, а в группе сравнения этот генотип вообще не был обнаружен. Среди лиц группы сравнения и клинически здоровых лиц преобладала частота распространения комбинации генотипов TC / CT / GG (9,68% и 14,29% соответственно) по сравнению с общей группой пациентов с АБП (2,02%) и пациентами с АГ (5,41%), а по сравнению с больными АЦП, у которых не было этой комбинации генотипов, упомянутое рост был значимым ($\chi^2 = 6,20$; $p < 0,05$ и $\chi^2 = 9,18$; $p < 0,01$).

Вывод. При расчете распространения всех вариантов комбинаций генотипов у больных алкогольной болезнью печени установлено, что комбинации генотипов TC / CT по генам *eNOS* / *CD14* и TC / CT / GG по генам *eNOS* / *CD14* / *PNPLA3* значимо снижают риск цирротического поражения печени, в том числе в случае длительного злоупотребления алкоголем.

**PECULIARITIES OF INTERGENE AND GENE-FACTOR INTERACTIONS IN
PATHOGENETIC MECHANISMS OF THE DEVELOPMENT OF ALCOHOLIC HEPATITIS
AND ALCOHOL LIVER CIRRHOSIS**

V. Ye. Molodtsov, Z. I. Rossokha, O. I. Fediv

Purpose - to analyze the combinations of genotypes for the eNOS (T-786C), PNPLA3 (C10109G), CD-14 (C-159T) genes in patients with alcoholic liver disease.

Material and methods. 99 patients with alcoholic liver disease were examined. In 37 (37.37%) of the 99 patients of the main group, alcoholic hepatitis (AG) was confirmed by additional laboratory and instrumental methods, and in 62 (62.62%) - liver cirrhosis (AC). In 64.86% of patients with hypertension and 64.51% of ADCs, hypertensive disease (GC) of I-II stages, stages I-II, without heart failure was detected, therefore 10 (32.25%) patients with HD were also involved in the comparison group of 31 healthy persons. To identify the polymorphic variants of CD14 (C-159T), rs2569190 and PNPLA3 gene (C10109G), rs738409, modified protocols with oligonucleotide primers were used using the PCR method and the subsequent analysis of restriction fragment length polymorphism (PDRF). To determine the eNOS (T-786C), rs2070744 mutation, a protocol with oligonucleotide primers was used using the allelic-specific PCR method. The investigated genes were amplified using specific primers (Metabion, Germany). Specific fragments of CD14 (C-159T), PNPLA3 (C10109G) and eNOS (T-786C) genes were amplified using the commercial DreamTaq Green PCR Master Mix (Thermo Scientific, USA).

Results. It was found that there were no significant differences between the two patients with eNOS / PNPLA3, eNOS / CD14, CD14 / PNPLA3 in the analysis of combinations of genotypes between patients with alcoholic hepatitis (AP) and patients with alcoholic cirrhosis (AC). In practically healthy subjects, the frequency of TC / CT genotype distribution by eNOS / CD14 genes was 33.33% and was significantly higher than in patients with AC - 11.29% ($\chi^2 = 5.43$; $p < 0.05$). When calculating the odds ratio of OR, which was 0.255 (with a confidence interval of CI: 0.077-0.846), it has been found that the combination of genotypes reduces the risk of AC development. In patients with AH, as well as in practically healthy subjects, the proportion of subjects with a combination of TS / SS genotypes with eNOS / PNPLA3 genes was increased compared to AC patients, but this increase was not significant ($\chi^2 = 3.22$; $p > 0,05$ for meaningful differences, the critical value of the index should be 3.84), which was confirmed by the calculation of the indicator of the odds ratio (OR = 2,19; CI: 0,92-5,19). And the proportion of patients with a combination of C / C genotypes on the eNOS / PNPLA3 genes, on the contrary, was lower among patients with hypertension compared with ADC patients, but these differences were also not significant ($\chi^2 = 3.56$; $p > 0.05$; OR = 6.11, CI: 0.74 to 50.37). Among patients with arterial hypertension (AH), the frequency of TT / TT combinations under the eNOS / CD14 genes and CC / GG for the CD14 / PNPLA3 genes (20% and 30%) was significantly increased, but in clinically healthy subjects these combinations were not detected in general, respectively: $\chi^2 = 4.49$; $p < 0.05$ and $\chi^2 = 6.97$; $p < 0.01$.

The results of the analysis of the distribution of combinations of genotypes in the three investigated genes showed that a significant difference in this comparison was determined only for the combination of TT / TT / GG genotypes for the eNOS / CD14 / PNPLA3 genes, the frequency of which was prevalent among patients with HD compared with clinically healthy subjects (20 % and was not detected at all, respectively, $\chi^2 = 4.49$; $p < 0.05$; and the odds ratio ratio was not calculated at all, since the combination of genotypes studied was not found in clinically healthy subjects. A combination of TS / CC / CC genotypes was found in 10.10% of patients with AHD, of which 13.51% were in the subgroup with hypertension and 8.06% in the subgroup with AC, and in the comparative group, this genotype was not detected at all. Among the comparison group and clinically healthy subjects, the prevalence of the combination of genotypes TS / CT / GG (9.68% and 14.29%, respectively) was higher than the general group of patients with AHD (2.02%) and patients with hypertension (5 , 41%), and the growth was significant ($\chi^2 = 6,20$; $p < 0,05$ and $\chi^2 = 9,18$; $p < 0,01$) compared with AC patients who did not have this combination of genotypes.

Conclusion. When calculating the distribution of all variants of combinations of genotypes in subjects involved in the study, it has been found that combinations of TS / CT genotypes by eNOS / CD14 and TC / CT / GG genes for eNOS / CD14 / PNPLA3 genes significantly reduce the risk of cirrhotic liver damage, in particular in the case of the prolonged alcohol abuse.

Key words:

melatonin,
hyperthyroidism,
plasma
fibrinolysis,
proteolysis.

Clinical and
experimental
pathology. Vol.18,
№2 (68). P.49-57.

Вступ

Останнім часом доведена роль спадкової схильності

до виникнення хронічних дифузних уражень печінки, розвиток яких можуть спричиняти мутації генів, що

кодуєть депонування жирів у печінці (аполіпропротеїн E, мікросомальний протеїн передачі тригліцеролів), окиснення жирних кислот (цитохром P450, PPAR α , ацил-КоА-оксидаза), "цитокінових" генів (IL-4, IL-10, TGF- β 1, інтерферон- γ , TNF α); генів, що регулюють інтенсивність оксидативного стресу (HFE, TNF α); генів, що кодуєть білки, які забезпечують протиоксидантний захист [2, 4, 7, 9, 10].

Існують чіткі докази того, що генетичний фон є важливим модулятором чутливості до розвитку алкогольної хвороби печінки (АХП). Зокрема, гетерозиготні та гомозиготні носії G-алелю гену PNPLA3 rs 738409 є підтвердженням генетичних факторів ризику прогресування алкогольної хвороби печінки [3, 6, 8].

Мета роботи

Проаналізувати комбінації генотипів за генами eNOS (T-786C), PNPLA3 (C10109G), CD-14 (C-159T) у хворих на алкогольну хворобу печінки.

Матеріал і методи дослідження

До проведення генетичного дослідження нами залучено 99 пацієнтів із встановленим діагнозом АХП. Критеріями включення у генетичне дослідження були наявність у пацієнтів алкогольного гепатиту або алкогольного цирозу печінки. Критеріями виключення із дослідження були наявні у пацієнтів захворювання внутрішніх органів з рецидивуючим перебігом та органною недостатністю, виявлена хронічна вірусна інфекція (віруси герпесу, гепатитів, тощо). У 37 (37,37%) із 99 пацієнтів основної групи підтверджено за допомогою додаткових лабораторних та інструментальних методів алкогольний гепатит (АГ), а у 62 (62,62%) - алкогольний цироз печінки (АЦП). У 64,86% пацієнтів з АГ та у 64,51% з АЦП виявлено гіпертонічну хворобу (ГХ) I-II стадій, I-II ступенів, без серцевої недостатності, тому до групи порівняння із 31 практично здоровою особою також залучено 10 (32,25%) осіб з ГХ.

Геному ДНК для молекулярно-генетичного дослідження виділяли з периферійної крові за допомогою комерційної тест-системи "innuPREP Blood DNA Mini Kit" (Analytik Jena, Німеччина) з використанням центрифужних фільтрів.

Для визначення поліморфних варіантів гену CD 14 (C-159T), rs2569190 та гену PNPLA3 (C10109G), rs738409 використовували модифіковані протоколи з олігонуклеотидними праймерами [1, 11] із застосуванням методу ПЛР та наступним аналізом поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Для визначення мутації eNOS (T-786C), rs2070744 використовували протокол з олігонуклеотидними праймерами [5] із застосуванням методу алельспецифічної ПЛР. Досліджувані ділянки генів ампліфікували за допомогою специфічних праймерів ("Metabion", Німеччина).

Специфічні фрагменти генів CD 14 (C-159T), PNPLA3 (C10109G) та eNOS (T-786C) ампліфікували із застосуванням комерційного набору DreamTaq Green PCR Master Mix (фірми "Thermo Scientific", США).

Для оцінки розподілу генотипів і алелів між групами використовували двосторонній тест Пірсона χ^2 -кв

рат (χ^2). Розрахунки здійснювались із використанням програми Statistica, версія 10,0.

Результати дослідження. У зв'язку з невиразним впливом поліморфних варіантів досліджених генів (за виключенням eNOS) на ризик АХП та перебіг захворювання у вигляді алкогольного гепатиту (АГ) та алкогольного цирозу печінки (АЦП) нами прораховано комбінації генотипів у групах порівняння та підгрупах залежно від провідних клінічних особливостей. Між хворими на АГ та хворими на АЦП не виявлено значущих відмінностей під час аналізу комбінацій генотипів за двома генами eNOS/PNPLA3, eNOS/CD14, CD14/PNPLA3, хоч і спостерігалися деякі тенденції для комбінацій гетерозиготних варіантів (табл. 1).

Розповсюдження комбінацій генотипів не розрізнялося також у загальній групі з АХП та групі порівняння (клінічно здорові особи та пацієнти з ГХ). Нами також проведено окреме зіставлення результатів обрахунку комбінацій генотипів для пацієнтів загальної групи, пацієнтів з АГ, пацієнтів з АЦП та 21 практично здорової особи із групи порівняння (табл. 1 та табл. 2).

У практично здорових осіб частота розповсюдження комбінацій генотипів TC/CT за генами eNOS/CD14 становила 33,33% та була достовірно вищою, ніж у пацієнтів з АЦП - на 11,29% ($\chi^2 = 5,43$; $p < 0,05$). При розрахунку показника співвідношення шансів OR, який становив 0,255 (з довірчим інтервалом CI: 0,077-0,846), нами з'ясовано, що представлена комбінація генотипів знижує ризик розвитку АЦП.

У пацієнтів із АГ, як і у практично здорових осіб була підвищена частка осіб із комбінацією генотипів TC/CC за генами eNOS/PNPLA3 порівняно з пацієнтами із АЦП, але зазначене підвищення не було достовірним ($\chi^2 = 3,22$; $p > 0,05$; для значущих відмінностей критичне значення показника повинно становити 3,84), що підтверджено розрахунком показника співвідношення шансів (OR=2,19; CI: 0,92-5,19). А частка пацієнтів із комбінацією генотипів CC/CG за генами eNOS/PNPLA3, навпаки, була знижена серед пацієнтів із АГ порівняно з пацієнтами із АЦП, але ці відмінності також не були значущими ($\chi^2 = 3,56$; $p > 0,05$; OR=6,11; CI: 0,74-50,37).

У групі порівняння виявлені достовірні відмінності у частоті розповсюдження комбінацій генотипів за дослідженими генами між клінічно здоровими особами та пацієнтами з ГХ (табл. 2). Серед хворих на ГХ була значуще підвищена частота розповсюдження (табл. 2) комбінацій генотипів TT/TT за генами eNOS/CD14, а також CC/GG за генами CD14/PNPLA3 (20% та 30%, а у клінічно здорових осіб цих комбінацій не виявлено взагалі, відповідно: $\chi^2 = 4,49$; $p < 0,05$ та $\chi^2 = 6,97$; $p < 0,01$).

У табл. 3 та 4 наведено результати аналізу розповсюдження комбінацій генотипів за трьома дослідженими нами генами у групах порівняння та підгрупах. В осіб групи порівняння взагалі не виявлено 12 можливих комбінацій за трьома генами eNOS/CD14/PNPLA3 (табл. 4). Для всіх комбінацій генотипів не виявлено достовірних відмінностей між клінічно здоровими особами та пацієнтами з ГХ, хоч і спостерігалася певна тенденція до збільшення частоти семи комбінацій генотипів серед клінічно здорових осіб порівняно із пацієн-

Таблиця 1

Частота розповсюдження комбінацій генотипів eNOS/PNPLA3, eNOS/CD14, CD14/PNPLA3 у пацієнтів з алкогольною хворобою печінки

Комбінації за генами	Комбінації генотипів	Пацієнти з АГ		Пацієнти з АЦП		Загальна група пацієнтів з АХП	
		n=37	%	n=62	%	n=99	%
<i>eNOS/CD14</i>	TT/CC	4	10,81	14	22,58	18	18,18
	TT/CT	4	10,81	13	20,97	17	17,17
	TT/TT	0	0,00	3	4,84	3	3,03
	TC/CC	8	21,62	9	14,52	17	17,17
	TC/CT	9	24,32	7	11,29	16	16,16
	TC/TT	7	18,92	9	14,52	16	16,16
	CC/CC	0	0,00	2	3,23	2	2,02
	CC/CT	5	13,51	2	3,23	7	7,07
	CC/TT	0	0,00	3	4,84	3	3,03
<i>eNOS/PNPLA3</i>	TT/CC	2	5,41	12	19,35	14	14,14
	TT/CG	4	10,81	9	14,52	13	13,13
	TT/GG	2	5,41	9	14,52	11	11,11
	TC/CC	16	43,24	16	25,81	32	32,32
	TC/CG	3	8,11	4	6,45	7	7,07
	TC/GG	5	13,51	5	8,06	10	10,10
	CC/CC	2	5,41	12	19,35	14	14,14
	CC/CG	1	2,70	9	14,52	10	10,10
	CC/GG	2	5,41	9	14,52	11	11,11
<i>CD14/PNPLA3</i>	CC/CC	5	13,51	11	17,74	16	16,16
	CC/CG	4	10,81	9	14,52	13	13,13
	CC/GG	3	8,11	5	8,06	8	8,08
	CT/CC	9	24,32	10	16,13	19	19,19
	CT/CG	4	10,81	2	3,23	6	6,06
	CT/GG	5	13,51	10	16,13	15	15,15
	TT/CC	6	16,22	9	14,52	15	15,15
	TT/CG	0	0,00	3	4,84	3	3,03
	TT/GG	1	2,70	3	4,84	4	4,04

тами із АГ (табл. 4), але під час розрахунку χ^2 не досягнуто його критичного значення 3,841, тому зв'язку між факторною та результативною ознакою не підтверджено.

Значуща відмінність при цьому порівнянні нами визначена лише для комбінації генотипів TT/TT/GG за генами eNOS/CD14/PNPLA3, частота яких переважала серед пацієнтів із ГХ порівняно із клінічно здоровими особами (20% та не виявлено взагалі, відповідно, $\chi^2=4,49$; $p<0,05$; а показник співвідношення шансів зовсім не розраховувався, бо досліджена комбінація генотипів не виявлена у клінічно здорових осіб).

У загальній групі пацієнтів із алкогольною хворобою печінки (табл. 3) взагалі не виявлено трьох комбінацій генотипів за трьома дослідженими генами: CC/CC/CC, CC/TT/CG, TT/TT/GG. Виявлені тенденції до зростання частоти розповсюдження чотирьох комбінацій генотипів серед хворих із АГ порівняно із АЦП не були достовірними, як і зростання трьох варіантів комбінацій генотипів серед хворих із АЦП порівняно із АГ (табл.3).

Комбінацію генотипів TC/CC/CC виявлено у 10,10% хворих із АХП, з них - 13,51% у підгрупі із АГ та 8,06% у підгрупі із АЦП (табл.3), а у групі порівняння цей генотип взагалі не виявлено (табл.4). Між загальною групою хворих із АЗП та групою порівняння визначені

ISSN 1727-4338 <https://www.bsmu.edu.ua>

Частота розповсюдження комбінацій генотипів eNOS/PNPLA3, eNOS/CD14, CD14/PNPLA3 у пацієнтів з алкогольною хворобою печінки

Комбінації за генами	Комбінації генотипів	Клінічно здорові особи		Пацієнти з ГХ		Загальна група порівняння	
		n=21	%	n=10	%	n=31	%
<i>eNOS/CD14</i>	TT/CC	3	14,29	1	10,00	4	12,90
	TT/CT	3	14,29	1	10,00	4	12,90
	TT/TT	0	0,00	2	20,00	2	6,45
	TC/CC	1	4,76	1	10,00	2	6,45
	TC/CT	7	33,33	1	10,00	8	25,81
	TC/TT	5	23,81	2	20,00	7	22,58
	CC/CC	1	4,76	1	10,00	2	6,45
	CC/CT	1	4,76	1	10,00	2	6,45
<i>eNOS/PNPLA3</i>	TT/CC	3	14,29	2	20,00	5	16,13
	TT/CG	2	9,52	0	0,00	2	6,45
	TT/GG	1	4,76	2	20,00	3	9,68
	TC/CC	9	42,86	1	10,00	10	32,26
	TC/CG	1	4,76	1	10,00	2	6,45
	TC/GG	3	14,29	2	20,00	5	16,13
	CC/CC	1	4,76	0	0,00	1	3,23
	CC/CG	1	4,76	1	10,00	2	6,45
<i>CD14/PNPLA3</i>	CC/CC	1	4,76	1	10,00	2	6,45
	CC/CG	4	19,05	1	10,00	5	16,13
	CC/GG	0	0,00	1	10,00	1	3,23
	CT/CC	7	33,33	2	20,00	9	29,03
	CT/CG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	CT/GG	4	19,05	1	10,00	5	16,13
	TT/CC	5	23,81	0	0,00	5	16,13
	TT/CG	0	0,00	1	10,00	1	3,23
TT/GG	0	0,00	3	30,00	3	9,68	

частоти розповсюдження комбінацій генотипів вірогідно не розрізнялися ($\chi^2 = 3,39$; $p > 0,05$), значущими були результати порівняння частот комбінацій генотипів TC/CC/CC для хворих із АГ та групи порівняння ($\chi^2 = 4,52$; $p < 0,05$).

Серед клінічно здорових осіб (табл.4) переважали частоти розповсюдження комбінацій генотипів TC/TT/CC, CC/CC/CG порівняно із групою пацієнтів із АЗП та підгрупами хворих (табл.3), але виявлені відмінності не були значущими під час розрахунку статистичних показників.

З наведених табл. 3 та 4 можна передбачити, що се-

ред осіб групи порівняння та клінічно здорових осіб переважала частота розповсюдження комбінації генотипів TC/CT/GG (9,68% та 14,29%, відповідно) порівняно із загальною групою пацієнтів із АЗП (2,02%) та пацієнтами із АГ (5,41%), а порівняно із хворими на АЦП, у яких не було цієї комбінації генотипів, згадане зростання було значущим ($\chi^2 = 6,20$; $p < 0,05$ та $\chi^2 = 9,18$; $p < 0,01$). Виявлені нами значущі відмінності засвідчують про зниження ризику АЦП у пацієнтів з цією комбінацією генотипів за наявності тривалого впливу зловживання алкоголем. Виявлений нами захисний ефект для носіїв варіанта 10109GG за геном PNPLA3 можна пояснити Клінічна та експериментальна патологія. 2019. Т.18, №2 (68)

Таблиця 3

Частота розповсюдження комбінацій генотипів eNOS/CD14/PNPLA3 у пацієнтів з алкогольною хворобою печінки

Комбінації за генами	Комбінації генотипів	Пацієнти з АГ		Пацієнти з АЦП		Загальна група пацієнтів з АХП	
		n=37	%	n=62	%	n=99	%
<i>eNOS/CD14/PNPLA3</i>	TT/CC/CC	0	0,00	6	9,68	6	6,06
	TT/CT/CC	2	5,41	4	6,45	6	6,06
	TT/TT/CC	0	0,00	2	3,23	2	2,02
	TC/CC/CC	5	13,51	5	8,06	10	10,10
	TC/CT/CC	5	13,51	6	9,68	11	11,11
	TC/TT/CC	6	16,22	5	8,06	11	11,11
	CC/CC/CC	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	CC/CT/CC	2	5,41	0	0,00	2	2,02
	CC/TT/CC	0	0,00	2	3,23	2	2,02
	TT/CC/CG	3	8,11	7	11,29	10	10,10
	TT/CT/CG	1	2,70	1	1,61	2	2,02
	TT/TT/CG	0	0,00	1	1,61	1	1,01
	TC/CC/CG	1	2,70	1	1,61	2	2,02
	TC/CT/CG	2	5,41	1	1,61	3	3,03
	TC/TT/CG	0	0,00	2	3,23	2	2,02
	CC/CC/CG	0	0,00	1	1,61	1	1,01
	CC/CT/CG	1	2,70	0	0,00	1	1,01
	CC/TT/CG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TT/CC/GG	1	2,70	1	1,61	2	2,02
	TT/CT/GG	1	2,70	8	12,90	9	9,09
	TT/TT/GG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TC/CC/GG	2	5,41	3	4,84	5	5,05
	TC/CT/GG	2	5,41	0	0,00	2	2,02
	TC/TT/GG	1	2,70	2	3,23	3	3,03
	CC/CC/GG	0	0,00	1	1,61	1	1,01
	CC/CT/GG	2	5,41	2	3,23	4	4,04
CC/TT/GG	0	0,00	1	1,61	1	1,01	

Таблиця 4

Частота розповсюдження комбінацій генотипів eNOS/CD14/PNPLA3 в осіб групи порівняння

Комбінації за генами	Комбінації генотипів	Клінічно здорові особи		Пацієнти з ГХ		Загальна група порівняння	
		n=21	%	n=10	%	n=31	%
1	2	3	4	5	6	7	8
	TT/CC/CC	1	4,76	1	10,00	2	6,45
	TT/CT/CC	2	9,52	1	10,00	3	9,68
	TT/TT/CC	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TC/CC/CC	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TC/CT/CC	4	19,05	1	10,00	5	16,13

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>eNOS/CD14/ PNPLA3</i>	TC/TT/CC	5	23,81	0	0,00	5	16,13
	CC/CC/CC	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	CC/CT/CC	1	4,76	0	0,00	1	3,23
	CC/TT/CC	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TT/CC/CG	2	9,52	0	0,00	2	6,45
	TT/CT/CG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TT/TT/CG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TC/CC/CG	1	4,76	0	0,00	1	3,23
	TC/CT/CG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TC/TT/CG	0	0,00	1	10,00	1	3,23
	CC/CC/CG	1	4,76	1	10,00	2	6,45
	CC/CT/CG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	CC/TT/CG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TT/CC/GG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	TT/CT/GG	1	4,76	0	0,00	1	3,23
	TT/TT/GG	0	0,00	2	20,00	2	6,45
	TC/CC/GG	0	0,00	1	10,00	1	3,23
	TC/CT/GG	3	14,29	0	0,00	3	9,68
	TC/TT/GG	0	0,00	1	10,00	1	3,23
	CC/CC/GG	0	0,00	0	0,00	0	0,00
CC/CT/GG	0	0,00	1	10,00	1	3,23	
CC/TT/GG	0	0,00	0	0,00	0	0,00	

компенсаторним впливом гетерозиготності за двома іншими генами. Загалом, серед усіх обстежених осіб не виявлено взагалі двох комбінацій за дослідженими генами *eNOS/CD14/PNPLA3*: *CC/CC/CC* та *CC/TT/CG*.

Висновок

Отже, при розрахунку розповсюдження всіх варіантів комбінацій генотипів у осіб, залучених до проведення дослідження, встановлено, що комбінації генотипів *TC/CT* за генами *eNOS/CD14* та *TC/CT/GG* за генами *eNOS/CD14/PNPLA3* значуще знижують ризик циротичного ураження печінки, у тому числі й у випадку тривалого зловживання алкоголем.

Список літератури

- Alyavi AL, Sobirova GN, Karimov MM. Association of rs738409 Polymorphism in the PNPLA3 Gene with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *IJBM* [Internet]. 2014[cited 2019 May 23];4(4 Suppl 1):S8-S11. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/45a6/62bd573631bf16d3859d8632cbebd25d753.pdf>
- Basyte-Bacevice V, Skieceviciene J, Valantiene I, Sumskiene J, Petrenkiene V, Kondrackiene J, et al. TM6SF2 and MBOAT7 Gene Variants in Liver Fibrosis and Cirrhosis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019[cited 2019 May 25];20(6):E1277. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/6/1277/htm> doi:

10.3390/ijms20061277

- Beaudoin JJ, Long N, Liangpunsakul S, Puri P, Kamath PS, Shah V, et al. TREAT Consortium. An exploratory genome-wide analysis of genetic risk for alcoholic hepatitis. *Scand J Gastroenterol*. 2017;52(11):1263-9. doi: 10.1080/00365521.2017.1359664

- Булатова ИА, Щекотова АП, Кривцов АВ, Щекотов ВВ, Насибуллина НИ, Суздальцева КН, и др. Метаболические нарушения и полиморфизмы генов β_2 -адренергического рецептора и аполипротеинов В при хроническом гепатите С и неалкогольной жировой болезни печени. *Клиническая медицина*. 2015; 93(1):35-41.

- Khaki-Khatibi F, Yaghoubi AR, Ghojzadeh M. Association between T-786C polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and level of the vessel dilation factor in patients with coronary artery disease. *MBRC*. 2012;1(1):1-7. doi: 10.22099/MBRC.2012.198

- Liu M, Dou Y, Sun R, Zhang Y, Liu Y. Molecular mechanisms for alcoholic hepatitis based on analysis of gene expression profile. *Hepat Mon* [Internet]. 2015[cited 2019 May 25];15(5):e27336. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451276/pdf/hepatmon-15-05-27336.pdf> doi: 10.5812/hepatmon.15(5)2015.27336

- Liu Y, Chen SH, Jin X, Li YM. Analysis of differentially expressed genes and microRNAs in alcoholic liver disease. *Int J Mol Med*. 2013 Mar;31(3):547-54. doi: 10.3892/ijmm.2013.1243

- Meffert PJ, Repp KD, Völzke H, Weiss FU, Homuth G, Kühn JP, et al. The PNPLA3 SNP rs738409:G allele is associated with

Клінічна та експериментальна патологія. 2019. Т.18, №2 (68)

increased liver disease-associated mortality but reduced overall mortality in a population-based cohort. *J Hepatol.* 2018;68(4): 858-60. doi: 10.1016/j.jhep.2017.11.038

9. Roy N, Mukhopadhyay I, Das K, Pandit P, Majumder PP, Santra A, et al. Genetic variants of TNF α , IL10, IL1 β , CTLA4 and TGF β 1 modulate the indices of alcohol-induced liver injury in East Indian population. *Gene.* 2012;509(1):178-88. doi: 10.1016/j.gene.2012.07.077

10. Severson TJ, Besur S, Bonkovsky HL. Genetic factors that affect nonalcoholic fatty liver disease: A systematic clinical review. *World J Gastroenterol.* 2016;22(29):6742-56. doi: 10.3748/wjg.v22.i29.6742

11. Temple SEL, Cheong KY, Almeida CM, Price P, Waterer GW. Polymorphisms in lymphotoxin alpha and CD14 genes influence TNF α production induced by Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Genes Immun.* 2003;4(4):283-8. doi: 10.1038/sj.gene.6363963

References

1. Alyavi AL, Sobirova GN, Karimov MM. Association of rs738409 Polymorphism in the PNPLA3 Gene with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *IJBM [Internet].* 2014[cited 2019 May 23];4(4 Suppl 1):S8-S11. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/45a6/62bd573631bf16d3859d8632cbebd75d753.pdf>

2. Basyte-Bacevice V, Skieceviciene J, Valantiene I, Sumskiene J, Petrenkiene V, Kondrackiene J, et al. TM6SF2 and MBOAT7 Gene Variants in Liver Fibrosis and Cirrhosis. *Int J Mol Sci [Internet].* 2019[cited 2019 May 25];20(6):E1277. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/6/1277/html> doi: 10.3390/ijms20061277

3. Beaudoin JJ, Long N, Liangpunsakul S, Puri P, Kamath PS, Shah V, et al. TREAT Consortium. An exploratory genome-wide analysis of genetic risk for alcoholic hepatitis. *Scand J Gastroenterol.* 2017;52(11):1263-9. doi: 10.1080/00365521.2017.1359664

4. Bulatova IA, Shchekotova AP, Krivtsov AV, Shchekotov VV, Nasibullina NI, Suzdal'tseva KN, i dr. Metabolicheskie narusheniya i polimorfizmy genov α -adrenergicheskogo retseptora i apolipoproteinov V pri khronicheskom gepatite S i nealkogol'noy

zhirovoy bolezni pecheni [Metabolic disorder and polymorphism of the genes encoding for beta-2-adrenergic receptor and apolipoproteins B in chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty liver diseases]. *Clinical Medicine (Russian Journal).* 2015;93(1):35-41. (in Russian)

5. Khaki-Khatibi F, Yaghoubi AR, Ghojzadeh M. Association between T-786C polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and level of the vessel dilation factor in patients with coronary artery disease. *MBRC.* 2012;1(1):1-7. doi: 10.22099/MBRC.2012.198

6. Liu M, Dou Y, Sun R, Zhang Y, Liu Y. Molecular mechanisms for alcoholic hepatitis based on analysis of gene expression profile. *Hepat Mon [Internet].* 2015[cited 2019 May 25];15(5):e27336. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451276/pdf/hepatmon-15-05-27336.pdf> doi: 10.5812/hepatmon.15(5)2015.27336

7. Liu Y, Chen SH, Jin X, Li YM. Analysis of differentially expressed genes and microRNAs in alcoholic liver disease. *Int J Mol Med.* 2013 Mar;31(3):547-54. doi: 10.3892/ijmm.2013.1243

8. Meffert PJ, Repp KD, Völzke H, Weiss FU, Homuth G, Kühn JP, et al. The PNPLA3 SNP rs738409:G allele is associated with increased liver disease-associated mortality but reduced overall mortality in a population-based cohort. *J Hepatol.* 2018;68(4): 858-60. doi: 10.1016/j.jhep.2017.11.038

9. Roy N, Mukhopadhyay I, Das K, Pandit P, Majumder PP, Santra A, et al. Genetic variants of TNF α , IL10, IL1 β , CTLA4 and TGF β 1 modulate the indices of alcohol-induced liver injury in East Indian population. *Gene.* 2012;509(1):178-88. doi: 10.1016/j.gene.2012.07.077

10. Severson TJ, Besur S, Bonkovsky HL. Genetic factors that affect nonalcoholic fatty liver disease: A systematic clinical review. *World J Gastroenterol.* 2016;22(29):6742-56. doi: 10.3748/wjg.v22.i29.6742

11. Temple SEL, Cheong KY, Almeida CM, Price P, Waterer GW. Polymorphisms in lymphotoxin alpha and CD14 genes influence TNF α production induced by Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Genes Immun.* 2003;4(4):283-8. doi: 10.1038/sj.gene.6363963

Відомості про авторів:

Молодцов В. Є. - медичний директор КНП Миколаївської міської ради "Міська лікарня № 1"

Росоха З. І. - директор ДЗ "Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України"

Федів О. І. - завідувач кафедри внутрішньої медицини та інфекційних хвороб ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", Чернівці

Сведения об авторах:

Молодцов В. Е. - медицинский директор КНП Николаевского городского совета "Городская больница № 1"

Росоха С. И. - директор ГУ "Референс-центр по молекулярной диагностике МЗ Украины"

Федив А. И. - заведующий кафедрой внутренней медицины и инфекционных болезней ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет", Черновцы

Information about authors:

Molodtsov V. E. - Medical Director of the KNP Mykolaivskya Miskoya for the sake of "Mrs. likarnya number 1"

Rossokha Z. I. - Director of the Center for Reference Testing of Molecular Diagnostics of the Ministry of Health of Ukraine

Fediv O. I. - Head of the Department of Internal Medicine and Infectious Illness of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Стаття надійшла до редакції 22.04.2019

Рецензент – доц. І.В. Ластівка

© В.Є. Молодцов, З.І. Россоха, О.І. Федів, 2019