

**Відомості про автора:**

**Савицька Любов Миколаївна** — аспірант кафедри нефрології та нирково-замісної терапії Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9; тел.: (044) 521-85-99.

УДК616.36-001.12-036.8-092: 575.174.015.3.

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ  
ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА TNF (G308A)  
В ИСХОДАХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ**

**Е. Н. Усыченко, В. А. Гудзь, Е. М. Усыченко**

**Одесский национальный медицинский университет,  
г. Одесса**

**Введение.** Полиморфизм ряда генов цитокинов оказывает влияние на процессы фиброгенеза и прогрессирование хронических вирусных гепатитов.

**Целью** настоящей работы является изучение связи полиморфного маркера G308A гена TNF $\alpha$  с его количественным содержанием и степенью фиброза печени у больных различными хроническими гепатитами (ХГС, ХГВ, ХГВ+С).

**Материалы и методы.** Были обследовано 172 больных, определен полиморфизм гена TNF $\alpha$  (амплификация ДНК) и содержание этого цитокина в крови (фотометрический способ). Для оценки взаимосвязи показателей применен коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

**Результаты.** Возможно, генотип GG TNF $\alpha$  является протективным для пациентов с различными вирусными гепатитами, а генотипы GA и AA TNF $\alpha$  — профиброгенным для пациентов с ХГВ, ХГВ+С и ХГС соответственно, так как у носителей этого генотипа выявлена большая степень фиброза, чем у носителей гомозиготного генотипа GG.

**Выводы.** Возможно, на скорость прогрессирования фиброза оказывает влияние не только качественное содержание TNF $\alpha$ , но и определенный генотип.

**Ключевые слова:** хронический гепатит С, хронический гепатит В, хронический гепатит В+С, цитокиновый профиль, полиморфизм генов цитокинов, фиброз печени.

**Введение.** В последние годы установлено, что цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов межклеточного взаимодействия, которые участвуют в регуляции защитных реакций организма в ответ на патоген, а также осуществляют связь между иммунной, эндокринной, кроветворной и другими системами. В связи с этим цитокины выделены в самостоятельную систему регуляции гомеостаза [4, 6].

Изучение иммунорегуляторных цитокинов при ХГВ представляет особую значимость, так как механизмы иммунологического реагирования влияют на течение и исход заболевания, а развивающиеся метаболические процессы являются основными факторами, которые регулируют иммунный ответ на антиген [2, 8]. Тяжесть течения хронических вирусных гепатитов определяется степенью выраженности фиброза и развитием цирроза печени. Однако, до сих пор не имеется четкого представления о причинах, которые приводят к разной скорости формирования фиброза печени у больных хроническими вирусными гепатитами.

В литературе имеются сведения о том, что полиморфизм ряда генов цитокинов оказывает влияние на процессы фиброгенеза и прогрессирование хронических вирусных гепатитов [11, 7, 1].

В исследованиях ряда авторов выявлена ассоциация полиморфных вариантов TNF $\alpha$  (G308A) со стадией фиброза печени, а также связь гена TNF $\alpha$  с уровнем TNF $\alpha$  в сыворотке крови [5, 12].

Установлено, что увеличение концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ) в сыворотке крови, что позволяет использовать эти цитокины в качестве маркеров прогрессирования заболевания в цирроз печени [5, 9].

Однако, результаты изучения ассоциации генетических маркеров у больных хроническими вирусными гепатитами нередко носят противоречивый характер. Кроме того, исследования полиморфизма TNF $\alpha$  в большей степени проводилось у больных ХГС.

Показано влияние полиморфизма гена TNF $\alpha$  на клиренс или прогрессирование HBV-инфекции [11]. Ряд исследователей отмечает влияние полиморфизма в промоторной части гена TNF $\alpha$  на развитие гепатокарциномы у больных ХГВ [13]. При хронических гепатитах

смешанной вирусной этиологии (HBV+HCV) исследования полиморфизма генов цитокинов носят единичный характер.

Таким образом, представляется актуальным дальнейшее изучение полиморфизма генов цитокинов, в частности, TNF $\alpha$  для уточнения их влияния на течение и исходы хронических вирусных гепатитов.

**Целью настоящей работы** является изучение связи полиморфного маркера G308A гена TNF $\alpha$  с его количественным содержанием и степенью фиброза печени у больных различными хроническими гепатитами (ХГС, ХГВ, ХГВ+С).

**Материалы и методы исследования.** Были обследованы 41 больной хроническим гепатитом В, 31 больной с гепатитом В+С, 100 больных хроническим гепатитом С. Все они — жители Одессы и Одесской области. Средний возраст обследованных пациентов составил  $39 \pm 1,47$  лет. Количество женщин, включенных в исследование, было 75 (43,6%), мужчин — 97 (56,4%). Длительность хронической стадии заболевания не превышала 10 лет. ВИЧ-инфицированные пациенты, употребляющие алкоголь и наркотические вещества, были исключены из пилотного проекта.

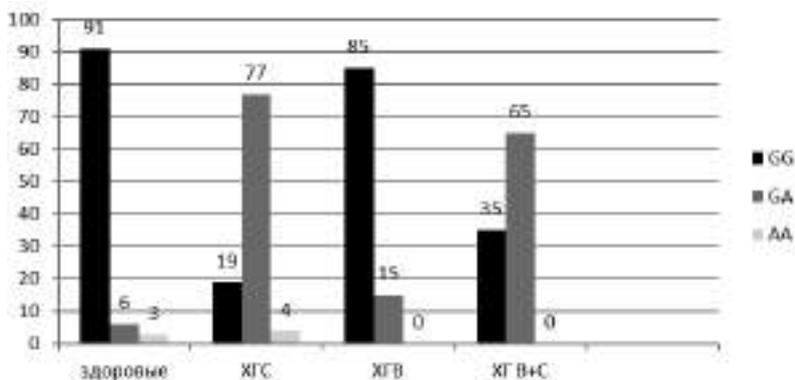
Для подтверждения диагноза методом ELISA выявлены традиционные серологические маркеры (антигены HBeAg и HBsAg, антитела аHBe; аHCV суммарные и IgM). С помощью полимеразной цепной реакции установлено количественное содержание DNA HBV и RNA HCV.

Методика определения аллельного полиморфизма генов цитокинов описана в наших предыдущих работах [10, 3].

Определение концентрации цитокина TNF $\alpha$  в сыворотке крови осуществляли методом твердофазного ИФА-анализа с применением наборов реагентов в биологических жидкостях человека (производитель ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Оценка результатов проводилась фотометрическим способом (иммуоферментный микропланшетный анализатор «Stat Fax-2100», США).

Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке в программах Microsoft Excel и Statistica.

**Результаты.** Частота встречаемости различных полиморфизмов TNF $\alpha$  у больных хроническими гепатитами и здоровых лиц существенно отличается. Результаты представлены на рисунке 1.



**Рис. 1. Распределение частот генотипов TNF $\alpha$  у больных гепатитами и здоровых лиц.**

Как видно из представленного рисунка, у здоровых лиц преобладает гомозиготный генотип GG (91%), частота встречаемости других генотипов GA и AA незначительна (6% и 3% соответственно).

У больных хроническим гепатитом С преобладает гетерозиготный генотип GA (77%). Частота встречаемости гомозиготных генотипов AA и GG составила 4% и 19% соответственно.

Частота встречаемости гомозиготного генотипа GG у больных ХГВ выше в сравнении с другими аллельными вариантами. Нормальный гомозиготный генотип GG встречается у 85% пациентов, гетерозиготный генотип GA — у 15%. Мутантный гомозиготный вариант AA у пациентов с хроническим гепатитом В обнаружен не был.

У больных с хроническим гепатитом В+С распределение частот генотипов TNF $\alpha$  было сходным с группой больных с хроническим гепатитом С. Гомозиготный генотип GG выявлен у 35% пациентов. Гетерозиготный вариант GA доминировал — обнаружен у 65% пациентов с хроническим гепатитом В+С. Мутантный гомозиготный вариант AA в этой группе больных не выявлен.

При изучении цитокинового профиля у здоровых лиц и пациентов с хроническими гепатитами были выявлены значительные колебания концентрации TNF $\alpha$ . У здоровых людей концентрация TNF $\alpha$  варьировала от 0 до 6 пг/мл, среднее значение составило  $0,5 \pm 0,05$  пг/мл.

Для оценки цитокинового профиля и оценки его взаимосвязи с генотипами TNF $\alpha$  пациенты были распределены на 3 группы в со-

ответствии с определенным вариантом исследуемого полиморфного маркера G308A гена TNF $\alpha$  (табл. 1).

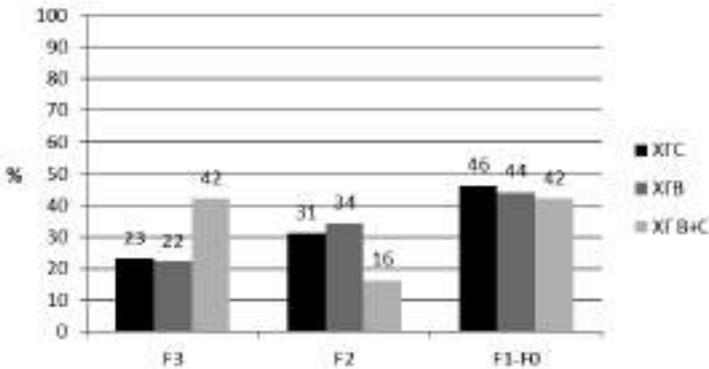
Таблица 1.

**Концентрация TNF $\alpha$  в крови больных различными гепатитами в зависимости от аллельного полиморфизма гена G308A.**

Ген	Генотип	ХГС n=100	ХГВ n=41	ХГ В+С n=31
TNF $\alpha$	GG	11,30 $\pm$ 0,07 пг/мл	2,57 $\pm$ 0,11 пг/мл	1,52 $\pm$ 0,03 пг/мл
	GA	16,64 $\pm$ 0,05 пг/мл	6,02 $\pm$ 0,08 пг/мл	4,20 $\pm$ 0,19 пг/мл
	AA	19,68 $\pm$ 0,08 пг/мл	—	—

Для оценки взаимосвязи выявленных параметров иммуногенетического профиля и выраженности морфологических изменений всем пациентам был проведен Fibrotest.

Fibrotest представляет собой экспертную систему биохимических показателей крови, разработанную французскими гепатологами компании BioPredictive. Эта комплексная система оценки является неинвазивным методом диагностики заболеваний печеночной ткани, которая включает диагностику фиброзного поражения, некрвоспалительной активности в ткани печени. При проведении Fibrotest используются математические формулы, которые проверяют каждый параметр (АлАт, ГГТП, общий билирубин, аполипопротеин А-1, гаптоглобин, альфа-2-макроглобулин). Алгоритм также включает в себя переменные возраста, веса, роста, пола.



**Рис. 2. Распределение больных ХГС, ХГВ, ХГВ+С по степени фиброза печени.**

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Как следует из рисунка 2, количество больных с минимальной степенью фиброза печени было практически одинаковым в группах больных ХГС, ХГВ и ХГВ+С. Количество больных со степенью фиброза F2 в группе больных ХГ В+С было меньшим (16%), чем у больных ХГС и ХГВ (31% и 34% соответственно). Количество больных со степенью фиброза F3 в группе больных с ХГ В+С (42%) практически в 2 раза превышала количество таких пациентов с ХГВ (22%) и ХГС (23).

Для оценки взаимосвязи фиброзного процесса в печени с генотипами TNF $\alpha$  пациенты были распределены на 3 группы в соответствии с определенным вариантом исследуемого полиморфного маркера G308A гена TNF $\alpha$  (рис. 3–4).

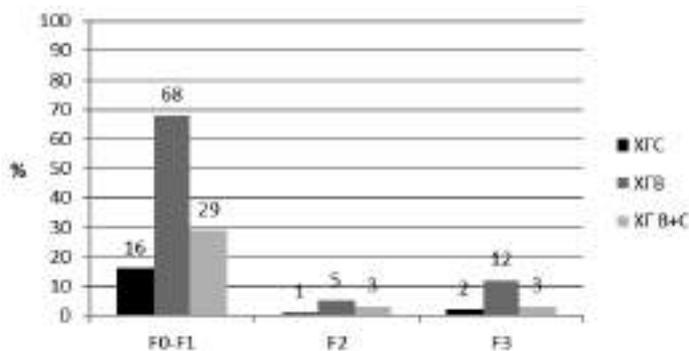


Рис. 3. Процентное соотношение больных ХГС, ХГВ и ХГВ+С носителей генотипа GG с различной степенью фиброза.

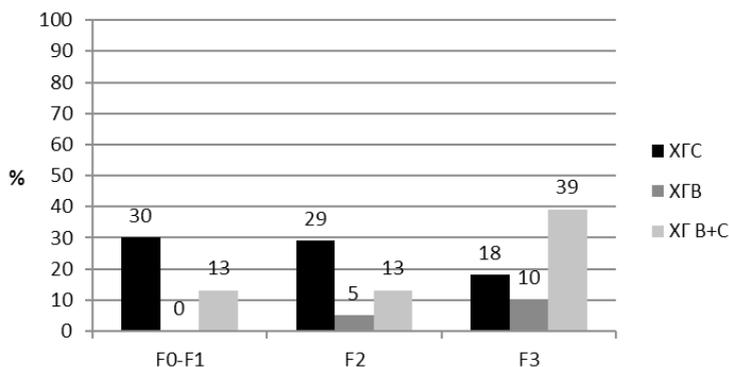


Рис. 4. Процентное соотношение больных ХГС, ХГВ и ХГВ+С носителей генотипа GA с различной степенью фиброза.

Для оценки взаимосвязи непараметрических (полиморфного маркера G308A гена TNF $\alpha$ , стадия фиброза печени) и параметрических (концентрация цитокина TNF $\alpha$  в крови пациента) данных был применен коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Установлено наличие следующих закономерностей:

- умеренная отрицательная (обратная) связь между степенью фиброза и генотипами TNF $\alpha$  у больных ХГС,  $p < 0,01$  (меньшая степень фиброза отмечается у носителей генотипа GG, большая степень фиброза — у носителей генотипа AA);
- умеренная отрицательная (обратная) связь между степенью фиброза и генотипами TNF $\alpha$  у больных ХГВ,  $p < 0,01$  (меньшая степень фиброза отмечается у носителей генотипа GG, большая степень фиброза — у носителей генотипа GA);
- умеренная отрицательная (обратная) связь между степенью фиброза и генотипами TNF $\alpha$  у больных ХГВ+С,  $p < 0,01$  (меньшая степень фиброза отмечается у носителей генотипа GG, большая степень фиброза — у носителей генотипа GA).

**Выводы.** В результате проведенных пилотных исследований можно предположить, что генотип GG TNF $\alpha$  является протективным для пациентов с различными вирусными гепатитами, а генотипы GA и AA TNF $\alpha$  — профиброгенным для пациентов с ХГВ, ХГВ+С и ХГС соответственно, так как у носителей этого генотипа выявлена большая степень фиброза, чем у носителей гомозиготного генотипа GG. Возможно, на скорость прогрессирования фиброза оказывает влияние не только качественное содержание TNF $\alpha$ , но и определенный генотип.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ассоциация полиморфных маркеров генов иммунной системы с количественными признаками, патогенетически значимыми для хронического вирусного гепатита / Гончарова И. А., Белобородова Е. В., Фрейдин М. Б. [и др.] // Молекулярная биология. — 2008. — Т. 42, № 2. — С. 242–246.
2. Ивашкин В. Т. Иммунная система и повреждения печени при хроническом гепатитах В и С / В. Т. Ивашкин // РЖГГК. — 2009. — № 6. — С. 4–10.
3. К. М. Усиченко, О. М. Усиченко, Ю. І. Бажора. Аналіз асоціації поліморфізму генів цитокінів IL-10, IL-4, TNF із субпопуляційним складом лімфоцитів периферичної крові у хворих на ХГВ залежно від ступеня фіброзу печінки. // Одеський медичний журнал. — № 6. — 2017. — С. 15–19.
4. Кетлинский С. А. Цитокины. / Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. — СПб: ФОЛИАНТ, 2008. — С. 550.
5. Клинико-морфологические особенности течения хронических вирусных гепатитов в зависимости от иммуногенетического статуса больных / Белобородова Э. И., Дунаева Л. Е., Белобородова Е. В. [и др.] // РЖГГК. — 2007. — № 7. — С. 46–50.

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

6. Полиморфизм одиночных нуклеотидов в генах цитокинов и их рецепторов: биологический эффект и методы идентификации / Д. Д. Абрамов, И. А. Кофнади, К. В. Уткин [и др.] // Иммунология.— 2011.— № 5.— С. 275–278.
7. Прогностическое значение комбинации аллельных вариантов генов цитокинов и гемохроматоза у больных хроническим гепатитом С / Самоходская Л. М., Игнатова Т. М., Абдуллаев С. М. [и др.] // РЖГГК.— 2007.— № 2.— С. 50–56.
8. Семененко Т. А. Хронический гепатит В и проблема персистенции вируса с позиций иммунопатогенеза заболевания / Т. А. Семененко // Журнал микробиологии.— 2009.— № 4.— С. 33–39.
9. Спектр цитокинов в сыворотке крови больных хроническим гепатитом С на различных стадиях заболевания / В. Ю. Никитин, И. А. Сухина, В. Н. Цыган [и др.] // Медицинская иммунология.— 2007.— Т. 9, № 2–3.— С. 236–237.
10. Усыченко Е. Н. Генетический профиль у пациентов с хроническим гепатитом В и С / Усыченко Е. Н., Усыченко Е. М., Бажора Ю. И. // Вестник Витебского государственного медицинского университета.— 2016.— Том 15, № 3 (15).— С. 47–53.
11. Gao B. Liver natural killer and natural killer T cells: immunobiology and emerging roles in liver diseases / B. Gao, S. Radaeva, O. Park // J Leukoc Biol.— 2009.— V. 86, № 3.— P. 513–528.
12. Hajjeer A. H. Influence of TNF-alfa gene polymorphisms on TNF-alfa production and disease / Hajjeer A. H., Hutchinson I. V. // Human Immunology.— 2001.— Vol. 62.— P. 1191–1199.
13. Tumor necrosis factor gene polymorphisms and clearance or progression of hepatitis B virus infection / Niro G. A., Fontana R., Gioffreda D. [et al.] // Liver int.— 2005.— Vol 25, № 6.— P. 1175–1181.
14. Tumor necrosis factor-alpha promoter gene polymorphism affects the occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B / Danbi Lee, Y.-H. Chung, J. A. Kim [et al.] // Journal of Hepatology.— 2010.— P. 223.

## Патогенетичне значення поліморфізму гену TNF (G308a) в наслідках вірусних гепатитів

*К. М. Усиченко, В. А. Гудзь, О. М. Усиченко*

**Одеський національний медичний університет, м. Одеса**

**Вступ.** Поліморфізм деяких генів цитокинів впливає на процеси фіброгенезу і прогресування хронічних вірусних гепатитів.

**Метою** цієї роботи є вивчення зв'язку поліморфного маркера G308A гену TNF $\alpha$  з його кількісним вмістом і ступенем фіброзу печінки у хворих на різні хронічні гепатити (ХГС, ХГВ, ХГВ+С).

**Матеріали та методи.** Було обстежено 172 хворих, визначено поліморфізм гену TNF $\alpha$  (ампліфікація ДНК) і вміст цього цитокіну у крові (фотометричний метод). Для оцінки взаємозв'язку показників застосовано коефіцієнт рангової кореляції Спірмена.

**Результати.** Можливо, генотип GG TNF $\alpha$  є протективним для пацієнтів з різними вірусними гепатитами, а генотипи GA і AA TNF $\alpha$  — профіброгеним для пацієнтів з ХГВ, ХГВ+С і ХГС відповідно, так як у носіїв цього генотипу виявлена велика ступінь фіброзу, ніж у носіїв гомозиготного генотипу GG.

**Висновки.** Можливо, на швидкість прогресування фіброзу впливає не тільки якісний зміст TNF $\alpha$ , а й певний генотип.

**Ключові слова:** хронічний гепатит С, хронічний гепатит В, хронічний гепатит В+С, цитокіновий профіль, поліморфізм генів цитокінів, фіброз печінки.

## **Pathogenetic value of TNF gene (G308A) polymorphism in outcomes of viral hepatitis**

*K. M. Usychenko, V. A. Hudz, O. M. Usychenko*

**Odesa National Medical University, Odesa**

**Introduction.** The polymorphism of a number of cytokine genes affects the processes of fibrogenesis and the progression of chronic viral hepatitis.

**The purpose** of this work is to study the relationship of the polymorphic marker G308A of the TNF $\alpha$  gene with its quantitative content and the degree of liver fibrosis in patients with various chronic hepatitis (CHC, CHB, CHB + C).

**Materials and methods.** One hundred and seventy two patients were examined, the TNF $\alpha$  gene polymorphism (DNA amplification) and the content of this cytokine in the blood (photometric method) were determined. To assess the relationship of indicators, the Spearman rank correlation coefficient was applied.

**Results.** The GG TNF $\alpha$  genotype may be protective for patients with various viral hepatitis, whereas the GA and AA genotypes of TNF $\alpha$  are profibrogenic for patients with CHB, CHB + C and CHC, respectively, since carriers of these genotype have a higher degree of fibrosis than carriers of the homozygous genotype GG.

**Conclusions.** Not only the qualitative content of TNF $\alpha$ , but also a certain genotype may affect the rate of fibrosis progression.

**Key words:** chronic hepatitis C, chronic hepatitis B, chronic hepatitis B + C, cytokine profile, cytokine gene polymorphism, liver fibrosis.

### ***Відомості про авторів:***

***Усиченко Катерина Миколаївна*** — кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри інфекційних хвороб Одеського національного медичного університету. Адреса: м. Одеса, пров. Валіховський, 2.

***Гудзь Валентин Андрійович*** — кандидат медичних наук, асистент кафедри інфекційних хвороб дитячого віку Одеського на-

ціонального медичного університету. Адреса: м. Одеса, пров. Валіховський, 2.

**Усиченко Олена Михайлівна** — кандидат медичних наук, доцент кафедри інфекційних хвороб Одеського національного медичного університету. Адреса: м. Одеса, пров. Валіховський, 2.

УДК: 616.517: 616.1/8: 616.85.

## РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ МЕДИЧНИХ МАРШРУТІВ ПРИ ПСОРІАЗІ: РОЗРОБКА ПАЦІЄНТ- ОРІЄНТОВАНОЇ СТРАТЕГІЇ ІНТЕГРОВАНОГО ВЕДЕННЯ ХВОРИХ НА ПЕРВИННОМУ РІВНІ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ

*Л. В. Черкашина*

Харківська медична академія післядипломної освіти,  
м. Харків

**Вступ.** Розвиток загальної практики-сімейної медицини, визначає потребу в пацієнт-орієнтованій стратегії тривалого ведення хворих.

**Мета дослідження** — вивчення медичних маршрутів при псоріазі.

**Матеріали і методи.** Виконано експертний аналіз складності медичних маршрутів та адекватності діагностики серед 110 хворих.

**Результати і висновки.** Аналіз складності медичних маршрутів хворих на псоріаз виявив, що у  $(30,9 \pm 4,4)\%$  закінчених випадків надання допомоги виконано на одному організаційному рівні та лише у  $(5,4 \pm 2,1)\%$  — на первинному. Визначено потребу удосконалення підготовки лікарів з питань тривалого ведення хворих.

**Ключові слова:** загальна практика-сімейна медицина, хронічні дерматози, медичні маршрути, пацієнт-орієнтована стратегія.

**Вступ.** Сучасні тенденції розвитку загальної практики-сімейної медицини (ЗПСМ), як наукової спеціальності та практичної діяльності [1–4], визначають потребу у розробці простих та доступних засобів діагностики та прогнозування загостреного перебігу хронічних дерматозів (ХД) з використанням лікарем ЗПСМ клініко-анамнестичних (КАЗ), клініко-лабораторних (КЛЗ) та клініко-інструментальних (КІЗ) заходів. Особливої актуальності набуває ця проблема взв'яз-