

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ β_2 -АДРЕНЕРГИЧЕСКОГО РЕЦЕПТОРА И АПОЛИПОПРОТЕИНА В ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С И НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Булатова И.А.¹, Щекотова А.П.¹, Кривцов А.В.², Щекотов В.В.¹,
Насибуллина Н.И.¹, Суздальцева К.Н.³, Жижилев Е.В.⁴

¹ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, 614090 Пермь; ²ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, 614000 Пермь; ³ГАУЗ Пермского края «Городская клиническая больница № 3», 614000 Пермь; ⁴ООО «Поликлиника «Медлайф», 614090 Пермь

Для корреспонденции: Булатова Ирина Анатольевна — канд. мед. наук, доцент каф. клин. лаб. диагностики ФПК и ППС;
e-mail: bula.1977@mail.ru

Цель исследования – оценить взаимосвязь метаболических нарушений и полиморфных вариантов генов β_2 -адренергического рецептора — ADRB2 (rs1042713) и аполипопротеина В — ApoB (rs5742904) у больных хроническим гепатитом С (ХГС) в зависимости от генотипа вируса и у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП) на фоне метаболического синдрома (МС).

Материал и методы. Обследовано 96 больных ХГС – 51 пациент с генотипом 1 и 2 вируса гепатита С (HCV) и 45 пациентов с генотипом 3, 70 пациентов с НАЖБП на фоне МС и 51 здоровый донор (контрольная группа). Полиморфизм генов исследовали методом полимеразной цепной реакции (ЗАО «Синтол», Москва) на амплификаторе Real-time CFX-96 Bio-Rad Laboratories, Inc. (США).

Результаты. У больных ХГС независимо от генотипа выявлены гипертриглицеридемия, повышение индекса атерогенности и уровня С-пептида. Гиперлептинемия наблюдалась преимущественно при генотипе 3, гиперинсулинемия и инсулинорезистентность – при генотипе 1 и 2. У больных ХГС показатель вирусемии положительно коррелировал с уровнем лептина ($p = 0,021$) и индексом НОМА-IR ($p = 0,022$), что указывает на вирусную активацию механизмов стеатогенеза и инсулинорезистентности. Выработка лептина при ХГС взаимосвязана с активацией фиброза печени по индексу эластичности печени при фиброэластографии ($p = 0,22$). Практически у всех пациентов с НАЖБП выявлены нарушения липидного и углеводного обмена. Поражение печени при МС в 30% наблюдений сопровождалось лабораторными признаками стеатогепатита.

У больных ХГС выявлено достоверное повышение частоты минорного аллеля А гена ADRB2 (rs1042713) до 40% ($p = 0,04$) по сравнению с показателем в контрольной группе, а патологической гомозиготы А/А — до 22% ($p = 0,04$). Аллель А при ХГС имел связь с гиперлептинемией ($p = 0,019$). У больных НАЖБП также чаще встречается аллель А – у 41% по сравнению с показателем в контрольной группе ($p = 0,02$); при этом в 55% наблюдений преобладают гетерозиготы А/Г ($p = 0,005$). Выявлена взаимосвязь аллеля А и гиперинсулинемии ($p = 0,036$), индекса массы тела ($p = 0,033$) и выработки С-пептида ($p = 0,038$) у больных НАЖБП. Различий частоты генотипов и аллелей гена ApoB (rs5742904) у больных обеих групп и здоровых доноров не обнаружено.

Заключение. Таким образом, полиморфизм гена ADRB2 (rs1042713) ассоциирован с повышенным риском развития метаболических нарушений как при ХГС, так и в большей степени при НАЖБП на фоне МС, что усугубляет тяжесть поражения печени. Дислипидемия и инсулинорезистентность у больных ХГС стимулируются вирусной инфекцией.

Ключевые слова: хронический гепатит С; неалкогольная жировая болезнь печени; метаболический синдром; дислипидемия; лептин; инсулинорезистентность; полиморфизм генов ADRB2 (rs1042713) и ApoB (rs5742904).

Для цитирования: Клин. мед. 2015; 93 (1): 35—41.

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

Bulatova I.A.¹, Shchekotova A.P.¹, Krivtsov A.V.², Shchekotov V.V.¹, Nasibullina N.I.¹, Suzdal'tseva K.N.³, Zhizhilev E.V.⁴

¹E.A. Vagner Perm Medical Academy, Perm,; ²Federal Research Centre of Medico-Prophylactic Technologies for Health Risk Management, Perm; ³City Clinical Hospital No 3, Perm; ⁴“Medlife” Polyclinic, Perm, Russia

Correspondence to: Irina A. Bulatova — MD, PhD; e-mail: bula.1977@mail.ru

The aim of the study was to evaluate the relationship between metabolic disorders and polymorphic variants of the genes encoding for beta-2-adrenergic receptor (ADRB2 (rs1042713) and apolipoproteins B (ApoB(rs5742904) in patients with chronic hepatitis C (CHC) depending on virus genotype and in patients with non-alcoholic fatty liver diseases (NAFLD) and concomitant metabolic syndrome (MS).

Materials and methods. The study included 96 patients with CHC (51 with genotype 1 or 2 of hepatitis virus and 45 with genotype 3), 70 patients with NAFLD and MS, 51 healthy donors (controls). Gene polymorphism was studied by PCR (Sintol, Moscow) with a Real-time CFX-96 amplifier (Bio-Rad Lab. Inc., USA).

Results. CHC patients regardless of genotype had hypertriglyceridemia with increased atherogenicity index and C-peptide level. Hyperleptinemia was most frequently associated with genotype 3, hyperinsulinemia and insulin resistance with genotypes 1 and 2. The viremia level positively correlated with leptin level ($p=0.021$) and HOMA-IR index ($p=0.022$) which suggests virus-induced inactivation of mechanisms of steatogenesis and insulin resistance. Leptin production in CHC was associated with activation of liver fibrosis as appears from elasticity index measured by fibroelastography ($p=0.22$). Almost all patients with NAFLD had disturbances of lipid and carbohydrate metabolism. Hepatic lesions in 30% of the patients with MS were accompanied by laboratory signs of steatohepatitis. Patients with CHC showed an increased frequency of minor A allele of the *ADRB2* (*rs1042713*) gene (up to 40%; $p=0.04$) and pathological A/A homozygote (22%; $p=0.04$). The occurrence of A allele was associated with hyperleptinemia ($p=0.019$). In NAFLD patients, the occurrence of A allele was higher than in controls (41%; $p=0.02$) with 55% of the case being A/G heterozygotes ($p=0.005$). The occurrence of A allele was related to hyperinsulinism ($p=0.036$), BMI ($p=0.0330$), and C-peptide production ($p=0.038$). No difference between the frequency of genotypes and *ApoB*(*rs5742904*) gene alleles in the patients of both groups and controls was documented. It is concluded that *ADRB2* (*rs1042713*) gene polymorphism is associated with an increased risk of metabolic disorders in CHC and especially NAFLD with MS that aggravates liver disturbances. Dyslipidemia and insulin resistance in CHC patients is stimulated by viral infection.

Key words: chronic hepatitis C; non-alcoholic fatty liver diseases; metabolic syndrome; dyslipidemia; leptin; insulin resistance; *ADRB2* (*rs1042713*) and *ApoB*(*rs5742904*) gene polymorphism.

Citation: Klin. med. 2015; 93 (1): 35—41. (In Russian)

Заболевания печени являются широко распространенной патологией. Проблема сочетания вирусного гепатита и метаболических повреждений печени лишь в последние годы начинает осознаваться как имеющая существенное клиническое и терапевтическое значение. Так, описана важная роль в прогрессировании хронического гепатита С (ХГС) стеатоза печени, который, по разным данным, выявляется в 30—70% биоптатов печени и на 30% уменьшает эффективность противовирусной терапии, в то время как в общей популяции частота стеатоза печени составляет 10% [1, 2]. Сопутствующие метаболические нарушения у пациентов рассматриваются в качестве основных причин «метаболического» стеатоза печени при ХГС, однако у значительной части больных ХГС при отсутствии ожирения и сахарного диабета выявляется жировое поражение гепатоцитов, что позволяет предполагать роль вируса в развитии стеатоза печени при ХГС. Описан ряд морфологических особенностей «вирусного» стеатоза печени, отличающего его от «метаболического» и «алкогольного» [3]. В литературе представлены данные о корреляции выраженности стеатоза с вирусной нагрузкой и стадией фиброза печени при инфицировании вирусом гепатита С (HCV) генотипа 3 [4, 5]. В исследовании Н. Ratton и соавт. [6] степень стеатоза коррелировала с выраженностью фиброза у больных, инфицированных HCV генотипа 1, а устойчивый вирусологический ответ был достоверно ниже у инфицированных HCV генотипа 1 с исходным стеатозом. При этом различия между группами пролеченных пациентов с HCV генотипа 3 и стеатозом и без стеатоза оказались недостоверными. По данным I. Nickman и соавт. [7], у тучных пациентов с ХГС повышен уровень инсулина и лептина в сыворотке крови. Гиперинсулинемия и инсулинорезистентность, оцениваемая по индексу HOMA-IR, взаимосвязаны со стадией фиброза при ХГС [4, 7]. У 20—80% больных ХГС и стеатозом печени находят признаки гиперлипидемии, чаще в виде гипертриглицеридемии [8]. Вместе с тем в литературе встречаются возражения против доминирующей роли вируса в развитии жирового поражения гепатоцитов при ХГС, а механизмы, посредством

которых HCV индуцирует стеатоз печени, остаются во многом неясными.

Риск развития неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) у пациентов с метаболическим синдромом (МС) возрастает в 4,6 раза, а прогрессирование фиброза печени с развитием цирроза отмечается у 20—40% больных с морфологически доказанным неалкогольным стеатогепатитом. Патогенетической основой МС является инсулинорезистентность; при этом приоритетность тех или иных критериев при установлении диагноза остается предметом дискуссий [9, 10]. В связи с этим представляет интерес изучение патогенетических особенностей поражения печени при МС, а также выяснение механизмов развития стеатоза при МС и ХГС.

Предрасположенность к стеатозу печени может быть обусловлена генетическими факторами, в частности полиморфизмом генов β_2 -адренергического рецептора (*ADRB2*) и аполипопротеина В (*ApoB*), кодирующим компоненты системы метаболизма липидов. Катехоламины играют важную роль в активизации липолиза, а β_2 -адренергические рецепторы присутствуют на адипоцитах и клетках печени. Это дает основание предположить, что полиморфизм гена *ADRB2* может иметь значение при заболеваниях печени и ожирении, в том числе при НАЖБП на фоне МС. Известно, что нуклеотидный полиморфизм гена *ADRB2* с функционально значимыми заменами в кодонах 16 и 27, в частности *Gly16Arg* (*rs1042713*) и *Clu27Gln* (*rs1042714*), оказывает влияние на механизм естественного функционирования β_2 -адренергического рецептора [11]. В работе J. Dallongeville и соавт. [12] показано, что генотип 16Arg/Arg достоверно взаимосвязан с развитием МС у мужчин. Согласно полученным в других исследованиях данным, распространенность мутации гена *ADRB2* в европейской популяции составляет около 50%, а присутствие варианта 16Gly ассоциировано с быстрым увеличением массы тела и инсулинорезистентностью [13]. Взаимосвязь полиморфных вариантов гена *ApoB* с показателями функционального состояния печени, липидного и углеводного обмена при ХГС и НАЖБП на фоне МС не описана.

Цель исследования — оценить взаимосвязь метаболических нарушений и полиморфных вариантов генов *ADRB2* (*rs1042713*) и *ApoB* (*rs5742904*) у больных ХГС в зависимости от генотипа вируса и у пациентов с НАЖБП на фоне МС.

Материал и методы

Обследовано 96 пациентов (50 женщин и 46 мужчин; средний возраст $38,3 \pm 10,4$ года) с ХГС в фазе реактивации, 70 пациентов (39 женщин и 31 мужчина; средний возраст $48,4 \pm 12,7$ года) с МС и жировым поражением печени. Контрольную группу сопоставимую по полу и возрасту с группами больных, составил 51 практически здоровый донор без заболеваний гепатобилиарной системы и МС. Этиологическую верификацию диагноза ХГС осуществляли путем качественного и количественного определения в крови у пациентов РНК HCV с помощью полимеразной цепной реакции, а также серологических маркеров HCV. По генотипу вируса пациенты с ХГС разделились следующим образом: генотип 1 выявлен у 52% больных, генотип 2 — у 6%, генотип 3 — у 42%. Стадию фиброза печени у больных ХГС оценивали методом фиброэластографии на аппарате Fibroscan-502 Echosens (Франция).

Для формирования группы пациентов с МС и НАЖБП использовали критерии, разработанные в рамках проводимой экспертами Национальной образовательной программы США Adult Treatment Panel III [9]. Наличие жирового поражения печени у больных с МС оценивали с помощью ультразвукового исследования и компьютерной томографии: при ультразвуковом исследовании у всех пациентов отмечено повышение эхогенности печени, преимущественно диффузного характера. У всех пациентов вычисляли индекс массы тела (ИМТ). При окружности талии более 80 см у женщин и более 94 см у мужчин устанавливали диагноз висцерального ожирения [9]. Для исключения хронической алкогольной интоксикации применяли опросник CAGE: уточняли объем, крепость и частоту употребления алкогольных напитков. Для поражения печени значимым считали употребление более 50 г этанола в сутки для мужчин и более 30 г этанола в сутки для женщин [14].

Исследование уровня аланин- и аспартатамино-трансферазы (АЛТ и АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), глюкозы и липидного профиля, включающего триглицериды (ТГ), общий холестерин (ОХ), липопротеины высокой плотности (ЛПВП) и липопротеины низкой плотности (ЛПНП) проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Architect-4000 (США). Липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) рассчитывали как $TG/2,2$, а индекс атерогенности — по формуле $(ХС - ЛПВП)/ЛПВП$. Концентрацию лептина в сыворотке крови определяли с помощью набора DSL (США), инсулина — с помощью набора MONOBIND (США) методом иммуноферментного анализа на аппарате Stat-Fax-2100 у 50 больных ХГС, 40 пациентов с МС и у 20 практически здоровых доноров. Уровень С-пептида в сыворотке

крови исследовали методом иммунохемилюминисцентного анализа с помощью набора С-РЕPTID (Siemens, Германия) на анализаторе Immulait-1000 (Германия) у 50 больных ХГС, 40 пациентов с МС и 20 практически здоровых доноров. Выраженность инсулинорезистентности оценивали по индексу HOMA-IR (HomioStasis Model Assessment), значение которого более 2,3 рассматривали как признак инсулинорезистентности [7, 10].

Для выявления полиморфных вариантов генов *ADRB2* (*rs1042713*) и *ApoB* (*rs5742904*) использовали аллель-специфическую полимеразную цепную реакцию по методике ЗАО «Синтол» (Москва) на амплификаторе Real-timeCFX-96Bio-RadLaboratories, Inc. (США). Для определения генотипа у 96 пациентов с ХГС, 30 больных МС и НАЖБП и 51 здорового донора проводили выделение ДНК из цельной венозной крови, предварительно стабилизированной этилендиаминтетрауксусной кислотой.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft). Проверку распределения результатов оценивали с помощью критерия Колмогорова—Смирнова. Для описания полученных количественных признаков данные представляли в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го перцентилей. Так как распределение показателей отклонялось от нормального, для оценки значимости различий показателей в группах использовали непараметрический критерий Манна—Уитни. Для описания соотношения частот генотипов и аллелей генов использовали равновесие Харди—Вайнберга. Исследуемые группы находились в равновесном (устойчивом) состоянии по частоте генотипов изученного гена ($p > 0,05$). Различия в двух популяциях рассчитывали по отношению шансов (ОШ) с использованием подхода «случай — контроль» для разных моделей наследования — аддитивной, общей, мультипликативной, доминантной и рецессивной — и считали достоверными при $p < 0,05$. Количественную оценку линейной связи между двумя независимыми величинами осуществляли с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Значимость различий между выборками и взаимосвязи показателей считали достоверной при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У больных ХГС отмечен большой разброс показателей вирусемии; при этом уровень вирусной нагрузки у 70% больных был высоким — более $2 \cdot 10^6$ копий/мл, у 30% — низким — менее $2 \cdot 10^6$ копий/мл. Показатель эластичности печени, по данным фиброэластографии, составил 6,80 (от 3,5 до 63,9) кПа. Стадия фиброза F0 выявлена у 40 больных, F1 — у 20, F2 — у 17, F3 — у 10, F4 — у 9. В группе больных ХГС в фазе реактивации на основании исследования биохимических показателей были выявлены синдромы цитолиза и холестаза (табл. 1). Большая выраженность цитолиза отмечалась у пациентов с генотипом 3 в сравнении с больными с генотипом 1 и 2 ($p = 0,01$). ИМТ у больных ХГС не имел

достоверных различий с показателями в контрольной группе, хотя у 14% обследованных отмечалось превышение нормального значения ИМТ, что соответствовало избыточной массе тела, а у 5% пациентов наблюдались признаки абдоминального ожирения. При исследовании липидного спектра сыворотки крови у 40% пациентов с ХГС независимо от генотипа вируса был диагностирован синдром дислипидемии в виде гипертриглицеридемии ($p = 0,001$) и повышения индекса атерогенности ($p = 0,001$), что свидетельствует о повышении атерогенного риска и согласуется с данными литературы [8].

При оценке объективного статуса у всех пациентов с МС выявлены признаки центрального (абдоминального) ожирения, а ИМТ значимо превышал показатель в контрольной группе ($p < 0,001$). При исследовании биохимических показателей у больных выявляли нарушения функциональных печеночных проб. Цитолиз был менее выраженным, чем при ХГС; при этом у 30% пациентов повышенный уровень трансаминаз в сыворотке крови позволил охарактеризовать поражение печени как стеатогепатит. У больных с НАЖБП были повышены показатели холестаза, особенно уровень ЩФ ($p < 0,001$). При исследовании липидного спектра крови выявлена атерогенная дислипидемия: гиперхолестеринемия, повышение уровня ЛПНП, ЛПОНП и индекса атерогенности, снижение уровня ЛПВП, а также гипертриглицеридемия (см. табл. 1).

Концентрация лептина была повышена в сыворотке крови у 60% больных с НАЖБП по сравнению с показателем у здоровых доноров ($p = 0,001$) и у 13% больных ХГС, преимущественно с генотипом 3 ($p = 0,04$) и повышенным ИМТ. Показатель гликемии у больных ХГС был в пределах нормальных значений, а при НАЖБП

достоверно превышал таковой в контрольной группе ($p < 0,001$). У 56% больных ХГС с генотипом 1 и 2 и у 95% пациентов с МС отмечены признаки гиперинсулинемии и инсулинорезистентности (по значению индекса НОМА-IR). Повышение продукции инсулина отмечено преимущественно при HCV генотипа 1 и 2 у больных ХГС и сочеталось с возрастанием инсулинорезистентности. При инфекции HCV генотипа 3 на фоне повышения уровня С-пептида показатель инсулинорезистентности в среднем не имел достоверных различий с таковым в контрольной группе. Возможно, эти нарушения связаны с функциональной неполноценностью гепатоцитов в отношении депонирования инсулина при его базальной секреции. Уровень С-пептида при ХГС был повышен у 25% обследованных независимо от генотипа HCV ($p_1 = 0,04$, $p_2 = 0,02$). У пациентов с МС выявлено еще более значимое повышение концентрации инсулина ($p < 0,001$). Повышение уровня С-пептида отмечено у 14% больных с МС ($p = 0,02$) и было сопоставимо с показателями у больных ХГС.

Таким образом, в целом изменения показателей функциональных печеночных тестов, липидного и углеводного обмена в обеих группах пациентов были сходными; при этом выраженность метаболических нарушений и холестаза была более значимой при НАЖБП, а синдром цитолиза гепатоцитов – при ХГС.

При исследовании однонуклеотидной замены в гене *ADRB2* (*rs1042713*) распространенность гомозигот по аллелю *G* (*GG*) достоверно различалась и составила в контрольной группе 51%, у больных ХГС — 41% ($\chi^2 = 3,98$; $p = 0,04$), у пациентов с МС и НАЖБП — 31% ($\chi^2 = 4,58$; $p = 0,03$; табл. 2). Встречаемость патологических гомозигот *A/A* у здоровых доноров составила 12%, у больных ХГС – 22% ($\chi^2 = 3,15$, $p = 0,04$), у пациентов с

Таблица 1. Функциональные печеночные тесты и метаболические показатели у больных ХГС с генотипом 1, 2 и 3 и пациентов с НАЖБП на фоне МС [Me (25%; 75%)]

Показатель	Контрольная группа	ХГС		НАЖБП
		генотип 1 и 2	генотип 3	
АЛТ, Ед/л	15 (12—19,05)	40,5 (28—70)*	68 (44—105,8)**	29 (20,9-46,7)***
АСТ, Ед/л	20 (18—24,4)	35 (28—51)*	31 (23—56)**	24,2 (18—31)***
ГГТП, Ед/л	15,3 (12—20)	30(30—44)*	29 (23—47)**	35,5 (23—50)***
ЩФ, Ед/л	56 (49—70)	62 (48—77)	65 (54—76)	76 (54—122)***
ИМТ, кг/м ²	23,2 (21,2—26,8)	24 (21—27)	22,9 (21—25,5)	34,9 (30—38)***
ОХ, ммоль/л	4,51 (3,9—5,2)	4,46 (3,9—5,17)	4,5 (3,9—5,2)	5,62 (4,7—6,2)***
ТГ, ммоль/л	0,8 (0,72—1,1)	1,13 (0,86—1,54)*	1,03 (0,82—1,66)**	1,84 (1,26—2,44)***
ЛПВП, ммоль/л	1,54 (1,38—1,7)	1,37 (1,07—1,68)	1,34 (1,01; 1,76)	1,23 (1,07—1,36)***
ЛПНП, ммоль/л	2,81 (2,28—3,36)	2,73 (2,23—3,04)	2,5 (2,05—2,94)	3,34 (2,71—4,15)***
ЛПОНП, ммоль/л	0,37 (0,32—0,58)	0,55 (0,39—0,7)	0,46 (0,37—0,75)	0,89 (0,67—1,3)***
Лептин, нг/мл	1,8 (1,2—2,8)	2,6 (2,0—3,9)	4,35 (2,6—6,5)**	9,05 (6,35—14,4)***
Глюкоза, ммоль/л	4,6 (4,1—5,2)	4,3 (4,09—4,94)	4,49 (3,38—5,76)	5,6 (5,01—6,04)***
Инсулин, мкМЕ/мл	7,65 (5,8—7,8)	8,60 (6,4—13)*	7,8 (6,3—9,8)	13,9 (9,3—20,2)***
С-пептид, нг/мл	1,23 (0,86—2,65)	2,67 (1,69—3,71)*	3,69 (2,21—4,69)**	2,78 (1,95—3,7)***
НОМА-IR	1,6 (1,4—1,7)	1,91 (1,5—2,62)*	1,7 (1,2—2,32)	3,5 (2,45—5)***

Примечание. Достоверные различия показателей: * – у больных с HCV генотипа 1, 2 и в контрольной группе; ** – у больных с HCV генотипа 3 и в контрольной группе; *** – у пациентов с НАЖБП и в контрольной группе.

Таблица 2. Распространенность генотипов и аллелей гена β_2 -адренергического рецептора (в%) у больных ХГС, пациентов с МС и здоровых доноров

Группы	Генотипы			Аллели	
	A/A	A/G	G/G	A	G
ХГС (n = 96)	22*	37	41*	40*	60*
Генотип HCV:					
1, 2 (n = 51)	26	36	38	43	57
3 (n = 45)	20	38	42	39	61
МС (n = 30)	14	55**	31**	41**	59**
Контрольная группа (n = 51)	12	36	52	30	70

Примечание. Достоверные различия показателей: * – у больных ХГС и в контрольной группе, ** – у пациентов с НАЖБП и в контрольной группе.

НАЖБП на фоне МС — 14% ($\chi^2 = 2,26, p = 0,13$). Гетерозиготы A/G в контрольной группе выявлены у 36% обследованных, в группе больных ХГС – в 37% ($\chi^2 = 2,27, p = 0,13$), при МС гетерозиготы встречались чаще — у 55% ($\chi^2 = 8,04, p = 0,005$).

Выявлены также различия соотношения частоты аллелей изучаемого маркера в исследуемых группах. Частота минорного аллеля A у больных превышала таковую в контрольной группе и составляла 40% при ХГС ($\chi^2 = 3,29, p = 0,04$) и 41% при НАЖБП ($\chi^2 = 5,48, p = 0,02$) при 30% в контрольной группе.

При изучении распространенности генотипов и соотношения частоты аллелей изучаемого маркера в популяциях больных ХГС с разными генотипами частота патологических гомозигот A/A у больных с HCV генотипа 3 составила 20%, с HCV генотипа 1 и 2 – 26% ($p = 0,15$), гетерозиготы A/G встречались почти с одинаковой частотой – 38 и 36% соответственно ($p = 0,2$). Распространенность минорного аллеля A у больных с HCV генотипа 1, 2 была выше, чем в контрольной группе, и составляла 43% ($p = 0,005$), но не имела достоверных различий с показателями у пациентов с HCV генотипа 3, у которых составляла 39% ($p = 0,15$).

Таким образом, в ходе исследования установлено статистически значимое различие частоты генотипов и аллелей гена *ADRB2* (*rs1042713*) у здоровых доноров и больных обеих исследуемых групп: большая частота минорного аллеля A в виде патологических гомозигот A/A регистрировалась у больных ХГС по рецессивной модели наследования, а у больных с МС и НАЖБП наблюдалось преобладание гетерозигот A/G. Статистически достоверного различия частоты генотипов и аллелей гена *ADRB2*

(*rs1042713*) у больных с HCV генотипов 1, 2 и 3 не отмечено.

Исследование однонуклеотидной замены в гене *ApoB* (*rs5742904*) не выявило статистически значимого различия частоты генотипов и аллелей в исследуемых группах: и у больных, и у здоровых доноров в 100% случаев регистрировали генотип GG и мажорный аллель G.

При проведении корреляционного анализа у больных ХГС выявлена достоверная взаимосвязь маркеров цитолиза гепатоцитов, метаболических показателей, виремии и минорного аллеля A гена *ADRB2* (*rs1042713*). В частности, ИМТ коррелировал с активностью АЛТ, уровнем ТГ, лептина, инсулина, индексом НОМА-IR, а с уровнем ЛПВП имел обратную связь (табл. 3). Уровень лептина продемонстрировал достоверную корреляционную связь с показателями липидограммы (ЩФ и ЛПНП), уровнем С-пептида и индексом НОМА-IR, а уровень инсулина – с ЛПНП и показателем инсулинорезистентности, что свидетельствует о системности метаболических сдвигов при ХГС. Инсулинорезистентность и уровень лептина положительно коррелировали с показателем вирусной нагрузки, что указывает на усугубление метаболических нарушений в фазе реактивации и косвенно подтверждает вторичный характер этих нарушений на фоне вирусной инфекции. Прямая корреляционная связь концентрации лептина и показателя эластичности печени свидетельствует об ассоциации стеатоза и фиброза печени при ХГС, что подтверждает риск прогрессирования заболевания при развитии

Таблица 3. Взаимосвязь исследуемых показателей у больных ХГС НАЖБП на фоне МС

Показатель	ХГС		Показатель	НАЖБП	
	r_1	p_1		r_2	p_2
ИМТ и АЛТ	0,22	0,044	ИМТ и АЛТ	0,34	0,015
ИМТ и ТГ	0,30	0,004	ИМТ и лептин	0,44	0,009
ИМТ и ЛПВП	-0,22	0,042	ИМТ и С-пептид	0,40	0,025
ИМТ и лептин	0,38	0,018	ИМТ и инсулин	0,45	0,006
ИМТ и инсулин	0,34	0,015	ИМТ и НОМА-IR	0,57	< 0,001
ИМТ и НОМА-IR	0,33	0,021	Лептин и ОХ	0,30	0,046
Лептин и ЩФ	0,32	0,022	Лептин и ЛПНП	0,31	0,047
Лептин и ОХ	0,33	0,021	Лептин и С-пептид	0,57	0,002
Лептин и ЛПНП	0,46	0,003	С-пептид и НОМА-IR	0,39	0,042
Лептин и С-пептид	0,53	0,003	Инсулин и ЛПНП	0,30	0,044
Лептин и НОМА-IR	0,44	0,003	Инсулин и ЛПОНП	0,31	0,047
Лептин и уровень вирусной нагрузки	0,33	0,021	Инсулин и С-пептид	0,57	0,002
Лептин и индекс эластичности печени	0,324	0,022	НОМА-IR и глюкоза	0,45	0,011
Инсулин и ЛПНП	0,33	0,020	НОМА-IR и ЛПНП	0,34	0,034
Инсулин и НОМА-IR	0,92	< 0,001	Аллель риска A гена <i>ADRB2</i> и ИМТ	0,34	0,033
НОМА-IR и уровень вирусной нагрузки	0,32	0,022	Аллель риска A гена <i>ADRB2</i> и С-пептид	0,38	0,038
Аллель A гена <i>ADRB2</i> и лептин	0,38	0,019	Аллель A гена <i>ADRB2</i> и инсулин	0,39	0,036

метаболических нарушений и согласуется с данными литературы [4, 7]. Достоверная корреляционная связь минорного аллеля *A* гена *ADRB2* (*rs1042713*) и выработки лептина указывает на возможность влияния полиморфных вариантов указанного гена на выраженность метаболических нарушений при ХГС (см. табл. 3).

Таким образом, показатель виремии при ХГС взаимосвязан с нарушениями липидного и углеводного обмена. Наличие метаболических нарушений на фоне гепатита является фактором усугубления тяжести поражения гепатоцитов и прогрессирования развития соединительной ткани в печени. Можно предположить, что дислипидемия и инсулинорезистентность у больных ХГС стимулируются вирусной инфекцией, особенно у лиц с генетической предрасположенностью к развитию метаболических нарушений.

Корреляционный анализ в группах больных с МС и НАЖБП выявил достоверную взаимосвязь всех метаболических показателей между собой, а также корреляцию ИМТ и тяжести поражения печени, оцениваемой по повышению концентрации биохимического маркера цитолиза – АЛТ. Аллель *A* гена *ADRB2* (*rs1042713*) продемонстрировал прямую взаимосвязь с ИМТ, уровнем С-пептида и инсулина, что свидетельствует об ассоциации мутации в указанном гене с развитием метаболических нарушений и усугублением поражения печени при НАЖБП на фоне МС (см. табл. 3).

Таким образом, полиморфизм гена *ADRB2* (*rs1042713*) ассоциирован с повышенным риском развития метаболических нарушений как при ХГС, так и (в большей степени) при НАЖБП на фоне МС.

Выводы

1. У 40% больных хроническим гепатитом С выявлены метаболические нарушения в виде гипертриглицеридемии, повышения индекса атерогенности, гиперлептинемии, гиперинсулинемии и показателя инсулинорезистентности, ассоциированные с выраженностью цитолиза и холестаза, уровнем вирусной нагрузки и выраженностью фиброза.

2. Нарушения липидного и углеводного обмена при хроническом гепатите С и неалкогольной жировой болезни печени имеют однонаправленный характер, хотя меньше выражены у больных гепатитом.

3. Установлена большая частота минорного аллеля *A* гена *ADRB2* (*rs1042713*) по сравнению с показателем у здоровых доноров как у больных хроническим гепатитом С, так и у больных неалкогольной жировой болезнью печени на фоне МС; при этом у больных хроническим гепатитом С чаще встречались патологические гомозиготы *A/A*, а при неалкогольной жировой болезни печени было увеличено количество гетерозигот *A/G*.

4. При хроническом гепатите С с генотипами вируса 1 и 2 чаще выявлялась гиперинсулинемия и инсулинорезистентность, при генотипе 3 – повышение выработки лептина. Статистически достоверных различий частоты генотипов и аллелей гена *ADRB2* (*rs1042713*) при генотипах 1, 2 и 3 не выявлено.

5. Минорный аллель *A* гена *ADRB2* (*rs1042713*) при хроническом гепатите С ассоциирован с гиперлептинемией, а при неалкогольной жировой болезни печени выявлена связь с индексом массы тела, гиперинсулинемией и выработкой С-пептида, что показывает возможное влияние мутации на развитие метаболических нарушений и стеатоза печени.

Не выявлено носительства минорного аллеля и различий частоты генотипов и аллелей гена *ApoB* (*rs5742904*) у пациентов с хроническим гепатитом С, неалкогольной жировой болезнью печени на фоне метаболического синдрома и здоровых жителей Пермского края.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдурахманов Д.Т. Стеатоз печени при хроническом гепатите С: механизмы развития и роль в прогрессировании поражений печени. *Клиническая гепатология*. 2005; 1: 25–8.
2. Целиковский А.В., Пritулина Ю.Г., Астапченко Д.С., Шенцова В.В., Криворучко И.В. Влияние стеатоза печени на эффективность комбинированной противовирусной терапии хронического гепатита С. *Современные проблемы науки и образования*. 2012; 6: URL: www.science-education.ru/106-7387
3. Brunt E.M. Nonalcoholicsteatohepatitis. *Semin. Liver Dis.* 2004; 24: 3–20.
4. Muzzi A., Leonardo G., Rubbia-Brandt L. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients. *J. Hepatol.* 2005; 42: 41–6.
5. Westin J., Norlinder H., Lagging M. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients. *J. Hepatol.* 2002; 37: 837–42.
6. Patton H.M., Patel K., Behling C. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. *J. Hepatol.* 2004; 40: 484–90.
7. Hickman I.J., Powell E.E., Prinse J.B. In overweight patients with chronic hepatitis C, circulating insulin is associated with hepatic fibrosis: implications for therapy. *J. Hepatol.* 2003; 39: 1042–8.
8. Буеверов А.О. Стеатоз печени при хроническом гепатите С: нужно ли вносить изменения в стандартные схемы терапии? *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии*. 2005; 2: 31–6.
9. Grundy S.M., Brewer H.B.Jr., Cleeman J.I. Definition of metabolic syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute.

American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation*. 2004; 109: 433–8.

10. Подымова С.Д. Жировой гепатоз, неалкогольный стеатогепатит. Клинико-морфологические особенности. Прогноз. Лечение. *Русский медицинский журнал*. 2005; 2: 61–7.
11. Brodde O.E. Beta1-and beta2-adrenoceptor polymorphisms and cardiovascular diseases. *Fundam Clin Pharmacol.* 2008; 22(2): 107–25.
12. Dallongeville J., Helbecque N., Cottel D., Amouyel P., Meirhaeghe A. The Gly16→Arg16 and Gln27→Glu27 polymorphisms of beta2-adrenergic receptor are associated with metabolic syndrome in men. *J. Clin. Endocr.* 2003; 88(10): 4862–6.
13. Masuo K., Katsuya T., Fu Y., Rakugi H., Ogihara T., Tuck M.L. Beta2-and beta3-adrenergic receptor polymorphisms are related to the onset of weight gain and blood pressure elevation over 5 years. *Circulation*. 2005; 111(25): 3429–34.
14. Огурцов П.П. Алкогольная болезнь печени и алкогольный «орнамент». *Гепатологический форум*. 2005; 4: 2–7.

REFERENCES

1. Abdurakhmanov D.T. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: mechanisms of development and the role in the progression of liver disease. *Klinicheskaya gepatologiya*. 2005; 1: 25–8. (in Russian)
2. Tselikovskiy A.V., Pritulina Yu.G., Astapchenko D.S., Shentsova V.V., Krivoruchko I.V. Influence of hepatic steatosis on the efficacy of combination antiviral therapy for chronic hepatitis C. *Sovremennye problem nauki i obrazovaniya*. 2012; 6: URL: www.science-education.ru/106-7387. (in Russian)
3. Brunt E.M. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin. Liver Dis.* 2004; 24: 3–20.

4. Muzzi A., Leonardo G., Rubbia-Brandt L. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients. *J. Hepatol.* 2005; 42: 41—6.
5. Westin J., Norlinder H., Lagging M. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients. *J. Hepatol.* 2002; 37: 837—42.
6. Patton H.M., Patel K., Behling C. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. *J. Hepatol.* 2004; 40: 484—90.
7. Hickman I.J., Powell E.E., Prins J.B. In overweight patients with chronic hepatitis C, circulating insulin is associated with hepatic fibrosis: implications for therapy. *J. Hepatol.* 2003; 39: 1042—8.
8. Bueverov A.O. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: you need to make changes to the standard treatment regimen? *Klinicheskie perspektivy gastroenterologii, gepatologii.* 2005; 2: 31—6. (in Russian)
9. Grandy S.M., Brewer H.B.Jr., Cleeman J.I. Definition of metabolic syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute. American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation.* 2004; 109: 433—8.
10. Podymova S.D. Steatosis, non-alcoholic steatohepatitis. Clinical and morphological features Forecast. Treatment. *Russkij medicinskij zhurnal.* 2005; 2: 61—7.
11. Brodde O.E. Beta1-and beta2-adrenoceptor polymorphisms and cardiovascular diseases. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2008; 22(2): 107—25.
12. Dallongeville J., Helbecque N., Cottel D., Amouyel P., Meirhaeghe A. The Gly16→Arg16 and Gln27→Glu27 polymorphisms of beta2-adrenergic receptor are associated with metabolic syndrome in men. *J. Clin. Endocr.* 2003; 88(10): 4862—6.
13. Masuo K., Katsuya T., Fu Y., Rakugi H., Ogihara T., Tuck M.L. Beta2-and beta3-adrenergic receptor polymorphisms are related to the onset of weight gain and blood pressure elevation over 5 years. *Circulation.* 2005; 111(25): 3429—34.
14. Ogurtsov P.P. Alcoholic liver and alcoholic «ornament». *Gepatologicheskij forum.* 2005; 4: 2—7. (in Russian)

Поступила (received) 09.06.14

© ВИЗЕЛЬ А.А., ВИЗЕЛЬ И.Ю., 2015
УДК 615.355.036:616-002.182].036.8

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОТРЕКСАТА ПРИ САРКОИДОЗЕ (по данным контролируемого проспективного исследования)

Визель А.А., Визель И.Ю.

ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 420012 Казань

Для корреспонденции: Визель Александр Андреевич — д-р мед. наук, проф., зав. каф. физиопульмонологии; e-mail: lordara@inbox.ru

В проспективном наблюдательном исследовании проведена оценка эффективности и безопасности монотерапии метотрексатом у 63 больных саркоидозом, у которых предшествующая терапия не позволила достичь контроля над заболеванием. Метотрексат применяли 1 раз в неделю в дозе 5—20 мг. У 54% пациентов отмечено улучшение состояния, у 63,2% улучшились показатели спирограммы и у 54% — лучевая картина. Метотрексат продемонстрировал хороший профиль безопасности. Нежелательные явления стали причиной его отмены только в 12,6% случаев. Результаты работы подтвердили, что метотрексат более чем в половине случаев может быть относительно безопасной альтернативой системной стероидной терапии.

Ключевые слова: саркоидоз; лечение; метотрексат.

Для цитирования: Клини. мед. 2015; 93 (1): 41—46.

THE USE OF METHOTREXATE FOR THE TREATMENT OF SARCOIDOSIS (DATA FROM A CONTROLLED PROSPECTIVE STUDY)

Vizel A.A., Vzel I. Yu.

Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Correspondence to: Alexandr A. Vizel' — MD, PhD, DSc, prof; e-mail: lordara@inbox.ru

We estimated the effectiveness and safety of methotrexate monotherapy of sarcoidosis in 63 patients refractory to the previous treatment. Methotrexate was given weekly at a dose of 5-20 mg. 54% of the patients reported improvement of their condition. Parameters of spirogram and the ray picture improved in 63.2 and 54% of the cases respectively. Methotrexate proved safe and had to be discontinued only in 12.6% of the patients. It is concluded that methotrexate can be used at least in half of the cases as a safe alternative to systemic steroid therapy.

Key words: sarcoidosis; treatment; methotrexate.

Citation: Klin. med. 2015; 93 (1): 41—46. (In Russian)

Саркоидоз — заболевание, имеющее известные клинические признаки и определенную морфологическую картину эпителиоидно-клеточного гранулематоза. Этиология заболевания до сих пор не известна и, следовательно, нет этиотропного лечения [1]. Препаратами первого выбора при саркоидозе являются глюкокортикоиды системного действия (ГКС), подавляющие гранулематозное воспаление [2]. Одним из факторов, останавливающих клиницистов при назначении стартовой гормональной терапии, является то обстоятельство, что у многих больных, которым были назначены ГКС, трудно их отменить даже через 2 года после нача-

ла терапии. Кроме того, описаны случаи рефрактерности к ГКС и прогрессирования заболевания, несмотря на лечение. Таким больным показана альтернативная терапия [3].

Метотрексат — структурный антагонист ферментов, связанных с фолиевой кислотой. Молекулярный механизм действия метотрексата состоит в ингибировании фермента дигидрофолатредуктазы. Влияние метотрексата на течение воспалительных заболеваний раскрыто лишь частично и основано, вероятно, на противовоспалительных, иммуномодулирующих и антипролиферативных свойствах препарата. Метотрексат