

На правах рукописи

Бычков Вячеслав Алексеевич

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РОЛИ
СИСТЕМЫ ИНТЕРФЕРОНА В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО
ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С**

14.03.03 - патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Томск-2011

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

Рязанцева Наталья Владимировна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

Агафонов Владимир Иванович

доктор медицинский наук,
профессор

Кологривова Елена Николаевна

Ведущая организация: Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера Сибирского отделения РАМН.

Защита состоится «__» _____ 2011 года в __ часов __ мин. на заседании диссертационного совета Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по адресу: 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, д. 2

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета

Автореферат разослан «__» _____ 2011 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета



И.В. Петрова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Вирусный гепатит С признан одной из серьезных медико-социальных проблем в связи с широким распространением среди трудоспособного населения, прогрессивным течением и высокой смертностью [Онищенко Г.Г., 2003]. До настоящего времени не разработана вакцина против вируса гепатита С (HCV – hepatitis C virus), а эффективность противовирусной терапии при распространенном генотипе 1b HCV не превышает 55% [Ивашкин В.Т., 2008; Hoffman H.R., 2009]. Отличительной особенностью HCV-инфекции является латентное, малосимптомное течение. Вместе с тем заболевание постепенно прогрессирует с дальнейшим развитием цирроза печени и/или печеночноклеточной карциномы.

Рассматривая проблему развития хронического вирусного гепатита С на молекулярном и клеточном уровнях, исследователи получили множество фактов в пользу ведущего значения иммуноопосредованного повреждения печени. Было показано, что нормальное функционирование иммунной системы строится на балансе Th1- и Th2-лимфоцитов, основанном, в первую очередь, на согласованной продукции их регуляторных цитокинов [Корочкина О.В., 2003; Хаитов Р.М. и соавт., 2009]. Выявлено, что несбалансированность продукции цитокинов Th-1 и Th-2 типа играет значимую роль в иммунопатогенезе хронизации и прогрессирования HCV-инфекции [Рязанцева Н.В. и соавт., 2005; Наследникова И.О. и соавт., 2006].

Развитие инфекционного процесса определяется как свойствами возбудителя, так и индивидуальными особенностями организма человека, являющихся, в свою очередь, отражением его генетической структуры. В настоящее время установлен факт влияния генетических особенностей индивида на восприимчивость и устойчивость к той или иной инфекции [Симбирцев А.С., Громова А.Ю., 2005; Пузырев В.П., 2006; Glass W.G. et al., 2006; Рязанцева Н.В. и соавт., 2008; Vezali E. et al., 2011]

Одну из ключевых ролей в регуляции противовирусного иммунного ответа играет система интерферона, в которую входят сами интерфероны (α , β и γ) и продукты индуцируемых ими генов (протеинкиназа R (PKR), 2',5'-олигоденилатсинтетаза (2',5'-OAS)). Интерфероны способны подавлять репродукцию вирусов, воздействуя на транскрипцию их геномов. Синтез интерферон-индуцируемых белков запускает каскад реакций, который приводит к разрушению одноцепочечных РНК и подавлению синтеза белка в зараженной клетке [Justesen J. et al., 2000; Silverman R.H. et al., 2007].

Современные методы исследования позволяют находить иммуногенетические маркеры заболевания и выявлять ассоциации между структурой определенных кластеров генов и развитием болезни. Так, к иммуногенетическим маркерам вирусного гепатита С относят гены интерлейкинов (*TNFA*, *IL1B*, *IL4RA*, *IL6*, *IL10*), хемокинов (*CCR5*, *RANTES*), системы интерферона (*PKR*, *OAS1,3*, *IFNG*) [Ortiz V. et al., 2002; Knapp S. et al., 2003]. Однако в настоящее время недостаточно изучено воздействие полиморфизма генов системы интерферона на характер течения заболевания, отсутствует единая точка зрения относительно влияния генетических факторов, детерминирующих функционирование иммунной системы, на степень воспалительного процесса и фиброзирование печени. Накопленные в указанном аспекте фактические данные носят весьма противоречивый характер: так, по

результатам одних авторов, у европеоидов показана ассоциация однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) в 3'-нетранслируемой области гена *OAS1* с исходом вирусного гепатита С [Knapp S. et al., 2003]. Согласно данным других исследователей, полиморфные варианты гена *OAS1* не ассоциированы с исходом гепатита С [Бархаш А.В. и соавт., 2006].

Кроме того, в настоящее время усилия исследователей сосредоточены на оценке комплексного влияния генов на предрасположенность организма человека к патологическим процессам. В случае мультифакториальных заболеваний наиболее опасным является именно сочетание неблагоприятных аллелей нескольких генов. Показано, что комбинированный эффект полиморфизмов существенно увеличивает риск развития осложнений, таких как фиброз печени при хронической HCV-инфекции [Richardson M.M. et al., 2005].

Таким образом, изучение роли интерферон-индуцируемых генов *OAS1*, *OAS3* и *PKR*, а также генов интерферона *IFNA17* и *IFNG* в иммунном ответе при хроническом вирусном гепатите С является весьма актуальным, поскольку полученные результаты могут служить основой для разработки новых методов прогнозирования клинического течения, а также способов профилактики и иммунокоррекции данной патологии.

Цель исследования: установить роль полиморфизма генов *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* в патогенезе хронического вирусного гепатита С у лиц, проживающих на территории Томской области; оценить совместное влияние полиморфных вариантов генов системы интерферона на предрасположенность к развитию хронического вирусного гепатита С.

Задачи исследования:

1. Дать сравнительный анализ характера распределения полиморфных вариантов генов системы интерферона *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* у больных хроническим вирусным гепатитом С и здоровых доноров (европеоидов, проживающих на территории Томской области).
2. Оценить взаимосвязь полиморфизма генов *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* с выраженностью воспалительного процесса в печени при хроническом вирусном гепатите С.
3. Установить характер ассоциации полиморфных вариантов генов *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* с особенностями прогрессирования фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С.
4. Провести анализ взаимодействий генов системы интерферона в формировании предрасположенности к развитию хронического вирусного гепатита С.

Научная новизна. Впервые изучена ассоциация распределения частот полиморфных аллелей комплекса генов системы интерферона (*OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG*) с активностью воспалительного процесса и прогрессированием фиброза печени при хроническом вирусном гепатите С.

Установлена связь между предрасположенностью к HCV-инфекции и носительством генотипов А/А гена *OAS1*, С/С гена *OAS3*, G/G гена *PKR*, G/G гена *IFNA17* и Т/Т гена *IFNG*.

Посредством анализа особенностей клинико-морфологической картины заболевания в зависимости от носительства полиморфных маркеров исследованных генов, впервые выявлены ассоциации между активностью воспалительного процесса в печени и полиморфизмами *OAS1*, *PKR* и *IFNA17*. Впервые установлена взаимосвязь между прогрессированием фиброза печени и носительством большими HCV-инфекцией полиморфизма +1314C/T гена *OAS3* и +244A/G гена *PKR*.

Впервые составлена прогнозная модель предрасположенности к хроническому вирусному гепатиту С на основе полиморфных вариантов генов системы интерферона и доказана целесообразность их комплексного исследования, повышающего процент прогноза течения хронического вирусного гепатита С до 88,8%.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты проведенного исследования позволили выявить ДНК-маркеры вовлеченности системы интерферона в патогенез HCV-инфекции, что позволяет в дальнейшем индивидуализировать тактику ведения больных хроническим вирусным гепатитом С. Идентификация полиморфизмов -1A/G гена *OAS1*, +1314C/T гена *OAS3*, +244A/G гена *PKR*, 551G/T гена *IFNA17* и +874A/T гена *IFNG* позволяет судить о наличии у пациентов предрасположенности к развитию хронического вирусного гепатита С и прогнозировать характер течения заболевания.

Полученные фундаментальные знания могут быть использованы для разработки новых подходов к патогенетически обоснованной терапии и своевременной профилактики развития хронического вирусного гепатита С.

Внедрение. Основные положения и выводы диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры фундаментальных основ клинической медицины (по дисциплине «Клиническая лабораторная диагностика» в разделе «Диагностика инфекционных заболеваний», по дисциплине «Молекулярные основы патологии» в разделе «Молекулярно-генетические основы предрасположенности организма к инфекционным заболеваниям») и кафедры патофизиологии (в разделах «Роль наследственности в патологии» и «Патофизиология печени») ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. У больных хроническим вирусным гепатитом С (европеоидов, проживающих на территории Томской области) частота встречаемости генотипа A/A и аллеля А гена *OAS1*, генотипа C/C гена *OAS3*, генотипа G/G и аллеля G гена *PKR*, генотипа G/G гена *IFNA17*, а также генотипа T/T и аллеля Т гена *IFNG* выше по сравнению с таковыми у здоровых доноров.

2. Выраженность активности воспаления в печени у больных хроническим гепатитом С сопряжена с носительством генотипа A/A и аллеля А гена *OAS1*, генотипа G/G и аллеля G гена *PKR*, а также генотипа G/T гена *IFNA17*.

3. Степень выраженности фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С ассоциирована с увеличением частоты встречаемости генотипа C/C гена *OAS3* и генотипа G/G и аллеля G гена *PKR*.

4. Учет совместного влияния полиморфизма генов *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* на предрасположенность к хроническому вирусному гепатиту С улучшает качество прогнозирования развития и течения заболевания.

Апробация работы. Результаты исследования были доложены и обсуждены на IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов» (Новосибирск, 2009), II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Вопросы патогенеза типовых патологических процессов" (Новосибирск, 2010), XVI межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2010).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 работ, в том числе 4 – в журналах, рекомендованных ВАК для публикации материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации. Текст диссертации изложен на 127 страницах и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов, выводы и список литературы, состоящий из 61 отечественных и 134 иностранных работ. Работа проиллюстрирована 4 рисунками и 18 таблицами.

Личный вклад автора. Анализ данных литературы по теме диссертации, планирование исследования, выделение ДНК, подбор праймеров, амплификация исследуемых генов, рестрикция амплификатов со специфическими рестриктазами, детекция результатов, статистический анализ результатов, написание диссертации выполнены лично автором.

Исследование выполнено в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (проект «Разработка технологической платформы молекулярной диагностики и лечения социально значимых заболеваний и подготовка на ее основе научно-исследовательских кадров для молекулярной медицины», ГК № 02.740.11.0311; проект «Разработка и внедрение методов долгосрочного прогноза научно-технологического развития в области молекулярной медицины для аналитического обеспечения реализации государственной политики в сфере инновационного развития экономики, ГК № 16.740.11.0360).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика обследованных

Работа основана на клинико-лабораторном обследовании 98 пациентов с диагнозом хронический вирусный гепатит С в возрасте от 18 до 56 лет (56 мужчин и 42 женщины), а также сопоставимых по возрасту 171 здоровых донора (98 мужчин и 73 женщины). Все обследованные – европеоиды, проживающие на территории Томской области.

Пациенты находились на диспансерном учете или стационарном лечении в отделении гастроэнтерологии ОГУЗ «Областная клиническая больница» г. Томска (главный врач – М.Н. Заюков) и Клинической больницы № 81 ФГУЗ Федерального медико-биологического агентства г. Северска (главный врач – В.А. Воробьев). Группа здоровых доноров была набрана в донорском отделении ФГУП НПО «Микроген» Минздравсоцразвития РФ, филиал в г. Томск НПО «Вирион» (зав.

отделением – О.Н. Веснина). Набор обследованных осуществлялся в период 2007-2009 гг.

В анамнезе у большинства больных имели место донорство, гемотрансфузии, оперативные вмешательства, работа с препаратами крови, сексуальные контакты с больными хроническим вирусным гепатитом С. Для всех пациентов установлен приблизительный срок инфицирования, составлявший на момент обследования от 2 до 16 лет. У 80% пациентов длительность заболевания составляла от 8 до 12 лет. Никому из пациентов до обследования противовирусное лечение не проводилось.

Для сбора данных и их анализа была разработана «карта обследования больного», включавшая жалобы, анамнез пациента, результаты проведенных лабораторного, инструментального и морфологического обследований.

Диагноз хронического вирусного гепатита С устанавливался на основании комплекса данных клинико-лабораторного и инструментального обследований. У всех пациентов были определены срок и источник инфицирования, оценивались субъективные (жалобы) и объективные признаки (осмотр, данные общего и биохимического анализа крови, анализ показателей иммунного статуса, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, а также сцинтиграфическое исследование печени).

Этиологическая верификация диагноза проводилась качественным определением в крови у пациентов РНК HCV с помощью полимеразной цепной реакции, а также серологических маркеров HCV (анти-HCV IgM, анти-HCV IgG, IgG к структурным белкам HCV, IgG к неструктурным белкам NS-3, NS-4, NS-5).

С целью морфологической верификации диагноза и определения степени активности воспалительного процесса с использованием индекса гистологической активности (ИГА) А. Knodell (1981) и стадии фиброза по U. Desmet (1995) всем пациентам проводилась пункционная биопсия печени по G. Menghini (1958). Данная манипуляция осуществлялась только по показаниям лечащим врачом в условиях стационара. По данным морфологического анализа полученного биопсийного материала, выделяли слабую (4-8 баллов) и умеренную активность воспалительного процесса (более 9 баллов), а также I стадию (слабовыраженный перипортальный фиброз), II стадию (умеренный фиброз с портальными септами) и III стадию (выраженный) фиброза печени. В таблице 1 приведены данные об объеме исследования в соответствии с использованными методами.

Критериями исключения пациентов из исследования являлись: острые заболевания любой этиологии, обострения существующего хронического патологического процесса; гепатоцеллюлярная карцинома; сочетанная патология печени (алкогольная болезнь печени, цирроз любой этиологии, токсическое и аутоиммунное поражение печени и др.); наркомания и злоупотребление алкоголем на момент обследования и в анамнезе.

Все материалы по обследованию больных хроническим вирусным гепатитом С и здоровых доноров (протокол исследования, информационное согласие, информационный листок испытуемого) и возможных последствиях методов обследования (взятие крови из локтевой вены утром натощак) были представлены в этический комитет ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России. По

представленной документации замечаний не было, работа соответствовала требованиям этической экспертизы.

Таблица 1

Распределение обследованных лиц по использованным методам исследования

Использованный метод исследования	Количество больных HCV-инфекцией	Количество здоровых доноров
Выделение ДНК	98	171
Определение однонуклеотидных полиморфизмов генов системы интерферона: - <i>OAS1</i> (-1A/G) - <i>OAS3</i> (+1314C/T) - <i>PKR</i> (+244A/G) - <i>IFNA17</i> (551T/G) - <i>IFNG</i> (+874A/T)	98	171
Морфологическое исследование печени. Определение ИГА воспаления по Knodell: - ИГА воспаления 4-8 баллов - ИГА воспаления >9 баллов Определение стадии фиброза по Desmet: - I стадия фиброза - II стадия фиброза - III стадия фиброза	53 45 31 27 40	Не проводилось

Методы исследования

Для определения полиморфизмов генов системы интерферона *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* проводилось выделение ДНК из цельной венозной крови, предварительно стабилизированной ЭДТА, у больных HCV-инфекцией и здоровых доноров с использованием фенол-хлороформного метода [Маниатис Т.И. с соавт. 1984; Chmczynski P., Sacchi N., 1987]. Амплификацию генов осуществляли с помощью амплификатора «Герцик» с использованием соответствующих праймеров («СибЭнзим», Новосибирск) и при определенных температурных режимах (табл. 2).

Полиморфизм гена *OAS1* анализировали с помощью аллель-специфической ПЦР с использованием общего и двух аллель-специфических праймеров. ПЦР-продукт образовывался только в случае комплементарного соответствия 3'-концов праймеров к исследуемым аллелям ДНК. Гомозиготные или гетерозиготный генотипы для данного образца определяли по наличию или отсутствию на дорожке 3% агарозного геля продукта амплификации соответствующего размера после электрофореза. Для детекции полиморфизмов в генах *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* использовали специфические эндонуклеазы рестрикции. По наличию или отсутствию рестрикции делали заключение о характере полиморфизма.

**Характеристика исследованных полиморфизмов генов
OAS1, OAS3, PKR, IFNA17 и IFNG**

Полиморфизм	Структура праймера	Температура отжига (°C)	Фермент рестрикции
-1A/G гена <i>OAS1</i>	Аллель А: 5'-atc-atg-tgt-ctc-acc-ctt-tcg-a-3' Аллель G: 5'-gat-cat-gtg-tct-cac-cct-ttc-tg-3' Общий: 5'-cac-tgg-agc-cct-ttc-ccc-3'	62	нет
+1314C/T гена <i>OAS3</i>	5'-tgg-atg-ctc-agg-ttt-ggg-cc-3' 5'-cca-acc-tca-gct-cca-ttg-ctg-ta-3'	63	Taq I
+244A/G гена <i>PKR</i>	5'-tta-aat-gct-gaa-gcc-atg-gaa-c3' 5'-gac-aaa-tac-ctg-gac-aaa-gag-ctc-3'	64	Bst F 5 I
551T/G гена <i>IFNA17</i>	5'-caa-tca-gga-tca-ttg-cca-tg-3' 5'-gct-ttg-gac-ttc-ccc-agg-3'	63	Ssp I
+874A/T гена <i>IFNG</i>	5'-gct-aaa-gaa-agt-att-ttc-aag-cta-3' 5'-ctt-aca-aca-caa-aat-cag-a-3'	55	Bgl II

Для определения полиморфных аллелей генов использовали анализ полиморфизма длины рестриктных фрагментов (ПДРФ). Амплификаты исследованных генов инкубировали при определенной температуре со специфическими рестриктазами («СибЭнзим», Новосибирск) (табл. 2).

Фрагменты рестрикции разделяли с помощью электрофореза для разделения рестрикционных фрагментов. Визуализация результатов ПЦР и ПДРФ осуществлялась с помощью системы гель-электрофореза в УФ-свете.

Результаты исследования обрабатывали с использованием стандартного пакета программ SPSS v.11.5. Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами использовали критерий χ^2 Пирсона с учетом поправки Йетиса (в случае объема выборки менее 10 человек). Обработка результатов генетических исследований осуществлялась с использованием критерия отношения шансов (OR) с расчетом для него 95% доверительного интервала [Флейс Д., 1989; Боровиков В.В., 2001]. Оценку межгенных взаимодействий проводили с помощью Log-регрессионного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа распространенности полиморфных вариантов гена *OAS1* у больных хроническим вирусным гепатитом С

Одно из важных мест среди интерферон-индуцируемых генов занимают гены *OAS*, отвечающие за синтез 2',5'-олигоаденилатсинтетазы – фермента, индуцирующего образование олигоаденилатов, активирующих РНКазу L, что приводит к деструкции вирусной и клеточной РНК. Олигоаденилатсинтетаза человека представлена тремя изоферментами, кодируемыми разными генами, но обладающими сходной ферментативной активностью: *OAS-1*, *OAS-2* и *OAS-3* [Mogensen T.H., Paludan S., 2001].

Результаты анализа встречаемости полиморфных аллелей гена *OAS1* у здоровых доноров и больных хронической HCV-инфекцией выявили достоверное ($p < 0,05$) различие частот генотипов и аллелей. Так, у больных HCV-инфекцией частота встречаемости генотипа A/A (70,4%) была статистически значимо выше, а генотипа A/G (19,4%) – ниже, по сравнению с контролем (48,5% и 33,9%, соответственно). Аллель A у больных встречался достоверно чаще (79,6%), а аллель G – достоверно реже (20,4%) по сравнению с группой контроля (табл. 3). Было сделано заключение, что наибольшему риску развития гепатита С подвержены лица-носители гомозиготного варианта A/A полиморфизма -1A/G гена *OAS1* (OR=2,52) и аллеля A (OR=2,12) (табл. 3).

Таблица 3

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма -1A/G гена *OAS1* (% (абс.)) среди здоровых доноров и больных HCV-инфекцией

Показатель	Здоровые доноры N=171	Больные HCV N=98	χ^2	p	OR знач. (95% CI)
A/A	48,5% (83)	70,4% (69)	11,25	0,0008	2,52 (1,49-4,27)
A/G	33,9% (58)	19,4% (19)	5,75	0,0165	0,47 (0,26-0,85)
G/G	17,6% (30)	10,2% (10)	0,88	0,3492	0,53 (0,25-1,15)
A	65,5% (112)	79,6% (78)	5,31	0,0213	2,12 (1,40-3,21)
G	34,5% (59)	20,4% (20)			0,47 (0,31-0,71)

Примечание: здесь и в табл. 4-7 χ^2 – критерий Пирсона для сравнения частот генотипов и аллелей генов с учетом поправки Йетиса; p – достоверность различий показателей по сравнению с их значениями у здоровых доноров; OR – критерий отношения шансов с 95% доверительным интервалом

Исследованный полиморфизм -1A/G гена *OAS1* располагается в сайте альтернативного сплайсинга. Каждому генотипу соответствует свой вариант мРНК и свой белковый продукт. Различные по аминокислотной структуре варианты могут проявлять неодинаковую ферментативную активность и по-разному реализовывать свое противовирусное действие. Действительно, L.L. Field et al. [2005] показали, что генотип A/A данного полиморфизма ассоциирован со сниженной базальной активностью фермента OAS-1. Таким образом, подтверждено значение ОНП -1A/A гена *OAS1* в патогенезе хронического вирусного гепатита С.

При изучении полиморфизма -1A/G гена *OAS1* в зависимости от степени активности воспаления выявлено, что генотип A/A и аллель A достоверно чаще встречались у пациентов с ИГА воспаления более 9 баллов (A/A – 91,1% и A – 95,6%) ($p < 0,05$), чем у больных хроническим вирусным гепатитом С с ИГА 4-8 балла (A/A – 52,8% и A – 68,0%), поэтому генотип A/A (OR = 9,15) и аллель A (OR = 8,03) были определены как рискованные в отношении выраженного воспаления в ткани печени. Как известно, OAS-1 непосредственно не участвует в воспалительном процессе, а катализирует образование олигоаденилатов, активирующих два фермента: РНКазу L, направленную на деструкцию РНК вируса, и фосфодиэстеразу, регулирующую внутриклеточную концентрацию олигоаденилатов. Вероятно, существует иной функционально значимый полиморфизм среди генов человека, находящийся в неравновесии по сцеплению с ОНП -1A/G гена *OAS1* и оказывающий

влияние на степень воспаления. Отсутствие каких-либо научных данных говорит о том, что влияние *OAS1* на течение и исход HCV инфекции нуждается в дальнейших исследованиях. При оценке распределения аллелей и генотипов полиморфизма -1A/G гена *OAS1* у больных HCV-инфекцией в зависимости от степени фиброза печени были получены статистически не достоверные различия ($p>0,05$).

Таким образом, у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С гомозиготный генотип A/A и аллель A полиморфизма -1A/G гена *OAS1* являются рисковыми при данном заболевании и сопряжены с умеренным воспалительным процессом в паренхиме печени.

Результаты анализа распространенности полиморфных вариантов гена *OAS3* у больных хроническим вирусным гепатитом С

OAS-3 обладает сходным ферментативным действием, поскольку содержит три повторяющихся домена, гомологичных домену *OAS-1*.

В нашем исследовании анализ полиморфизма +1314C/T гена *OAS3* выявил, что генотип C/C встречался достоверно чаще у больных хронической HCV-инфекцией (80,6%), чем у здоровых доноров (65,5%) (OR=2,19), а генотип C/T – достоверно реже (11,2% против 30,4%). Достоверных различий в распределении аллелей гена *OAS3* не обнаружено (табл. 4).

Исследованный полиморфизм локализован в кодирующей области гена *OAS3*, однако замена цитизина на тимин в экзоне не приводит к замене аминокислоты в ферменте вследствие такого свойства генетического кода как избыточность. Подобные синонимичные замены в экзонах могут оказывать влияние на транскрипцию, сплайсинг, транспорт мРНК, ее стабильность и трансляцию [Chamary J.V. et al., 2006; Goumer P., 2007], что может нарушать контрансляционный фолдинг белка и его дальнейшую работу. А.В. Бархаш и соавт. [2006] изучили влияние полиморфизма +1314C/T гена *OAS3* на восприимчивость человека к вирусу клещевого энцефалита, родственного HCV. Было обнаружено достоверное увеличение частоты гомозигот T/T по ОНП гена *OAS3* у больных с поражением центральной нервной системы по сравнению с больными лихорадочной формой, что позволило рассматривать данный ОНП в качестве одного из генетических маркеров восприимчивости к вирусу клещевого энцефалита.

Таблица 4

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма +1314C/T гена *OAS3* (% (абс.)) среди здоровых доноров и больных HCV-инфекцией

Показатель	Здоровые доноры N=171	Больные HCV N=98	χ^2	p	OR знач. (95% CI)
C/C	65,5% (112)	80,6% (79)	6,20	0,0128	2,19 (1,21-3,96)
C/T	30,4% (52)	11,2% (11)	11,74	0,0006	0,29 (0,14-0,59)
T/T	4,1% (7)	8,2% (8)	1,26	0,2611	2,08 (0,73-5,93)
C	80,7% (138)	86,2% (84)	0,77	0,3815	1,50 (0,92-2,44)
T	19,3% (33)	13,8% (14)			0,67 (0,41-1,09)

Можно предположить, что при инфицировании вирусом гепатита С сниженный уровень олигоаденилатов приводит к недостаточной активации рибонуклеазы L, что влечет за собой неполную деградацию вирусной РНК в клетке и, как следствие, нарушение реализации противовирусного эффекта. Таким образом, подтверждена значимость полиморфизма +1314С/Т гена *OAS3* в патогенезе хронического вирусного гепатита С.

В нашей работе не было выявлено статистически значимых различий частоты встречаемости генотипа С/С в зависимости от степени воспалительного процесса в печени, но показано увеличение частоты встречаемости генотипа Т/Т (15,6%) и снижение частоты встречаемости генотипа С/Т (2,2%) у пациентов с умеренным воспалением в печени по сравнению с низкой активностью (1,9% и 18,9%, соответственно). Частоты аллелей различались не значимо ($p > 0,05$). При анализе частоты встречаемости полиморфных вариантов ОНП +1314С/Т гена *OAS3* пациенты со II и III стадиями фиброза печени из-за немногочисленности индивидов с аллелем Т в этих группах были объединены. При анализе данных нам не удалось выявить достоверных различий в распределении аллелей ОНП +1314С/Т. Исследование распространенности генотипов показало, что у больных с I стадией фиброза печени генотип С/С встречался в 61,3% случаев, С/Т – в 25,8% случаев, Т/Т – в 12,9% случаев; у больных со II и III стадиями фиброза генотипы встречались, соответственно, в 89,6; 4,5 и 5,9% случаев.

Таким образом, было обнаружено, что риск развития выраженного фиброза печени повышен в случае генотипа С/С (OR=5,41). При анализе литературы не было обнаружено работ об ассоциации полиморфизма +1314С/Т гена *OAS3* с развитием фиброза печени. Вероятно, генотип С/С снижает противовирусную защиту, приводит к созданию благоприятных условий для размножения HCV, что, видимо, может сказываться на скорости развития фиброза.

Результаты анализа распространенности полиморфных вариантов гена *PKR* у больных хроническим вирусным гепатитом С

Другим механизмом противовирусного действия системы интерферона является активация фермента протеинкиназы R, являющимся триггерным ферментом и влияющим на проапоптотическую активность, контроль клеточного роста и дифференцировку [García M.A. et al., 2006]. PKR фосфорилирует фактор инициации трансляции eIF2, что приводит к подавлению синтеза белка в клетке и нарушению сборки вирусных частиц.

При исследовании ОНП +244 А/Г гена *PKR* показано, что у здоровых доноров аллель А встречался достоверно чаще (75,4% случаев), чем у больных (58,7%) (OR=0,46), а аллель G, наоборот, чаще у больных (41,3%), чем у здоровых (24,6%) (OR=2,16) (табл. 5). Выявлено, что частота встречаемости генотипа А/А у больных HCV-инфекцией (46,9%) была ниже, чем в группе контроля (64,9%), а встречаемость генотипов А/Г и G/G, соответственно, выше (23,5% и 29,6% против 21,1% и 14,0%); при этом статистически значимые ($p < 0,05$) различия были показаны для генотипов А/А и G/G. Полученные данные свидетельствуют о наличии рискованных свойств у генотипа G/G (OR=2,57) (табл. 5).

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма +244A/G гена *PKR* (% (абс.)) среди здоровых доноров и больных HCV-инфекцией

Показатель	Здоровые доноры N=171	Больные HCV N=98	χ^2	p	OR знач. (95% CI)
A/A	64,9% (111)	46,9% (46)	7,56	0,0060	0,48 (0,29-0,79)
A/G	21,1% (36)	23,5 % (23)	0,09	0,7582	1,15 (0,63-2,08)
G/G	14,0% (24)	29,6% (29)	8,57	0,0034	2,57 (1,40-4,75)
A	75,4% (129)	58,7% (57,5)	7,34	0,0068	0,46 (0,32-0,67)
G	24,6% (42)	41,3% (40,5)			2,16 (1,49-3,15)

В ходе изучения научной литературы нам не удалось найти работ, посвященных изучению влияния полиморфизма +244A/G гена *PKR* на активность фермента и/или его продукцию. Данный полиморфизм находится во 2-м интроне гена *PKR*, а известно, что нуклеотидные замены, затрагивающие интронные последовательности гена, могут приводить к изменению структуры энхансеров, аттенуаторов и/или сайленсеров [Bidwell J.P., 1998], что будет сказываться на продукции фермента. Можно предположить, что его недостаточное образование способствует распространению вирусной инфекции. Интересно, что одним из механизмов ускользания HCV из-под иммунного контроля является именно его воздействие на протеинкиназу R [He Y. et al., 2001].

При изучении распределения аллелей и генотипов полиморфизма +244A/G гена *PKR* в зависимости от активности воспаления в печени были получены достоверные различия ($p < 0,05$). Частоты встречаемости аллелей А и G у больных с ИГА воспаления 4-8 и более 9 баллов составили 70,8 и 29,2%; 44,5 и 55,5% соответственно. Распределение генотипов оказалось таковым: у больных с ИГА воспаления 4-8 генотип А/А выявлялся в 58,5% случаев, А/Г – в 24,5%, G/G – в 17,0%; у больных с ИГА более 9 баллов – 33,3; 22,2 и 44,5%, соответственно. Показана ассоциация аллеля G (OR=3,02) и генотипа G/G (OR=2,79) с умеренным воспалением паренхимы печени при хроническом вирусном гепатите С, а аллеля А (OR=0,33) и генотипа А/А (OR=0,35) – со слабым. Нами было предположено, что генотип G/G способен влиять на продукцию протеинкиназы R. При пониженном образовании фермента гепатоцит не сможет препятствовать сборке вирусных частиц и адекватно изменять экспрессию генов, следовательно, будет снижена эффективность других механизмов противовирусной защиты, что способствует быстрому распространению инфекции и активации воспалительного процесса в печени.

При оценке значения полиморфизма +244A/G гена *PKR* в развитии фиброза печени были получены достоверные различия частот встречаемости вариантных аллелей и генотипов у больных хроническим вирусным гепатитом С. Так, частоты встречаемости аллелей А и G у больных с I, II и III стадиями фиброза составили 75,8 и 24,2%; 85,2 и 14,8%; 27,5 и 72,5% соответственно. Распределение генотипов оказалось следующим: у больных с I стадией фиброза генотип А/А выявлялся в 58,0% случаев, А/Г – в 35,5%, G/G – в 6,5%; у больных со II стадией встречаемость генотипов составила 70,4; 29,6 и 0%, соответственно; у больных с III стадией – 22,5;

10,0 и 67,5%, соответственно. Было показано, что развитие фиброза при хроническом вирусном гепатите С ассоциировано с аллелем G (OR=10,11) и генотипом G/G (OR=58,2) исследуемого полиморфизма. Нами было обнаружено, что генотип G/G приводит к активации воспаления в паренхиме печени, а это, в свою очередь, является предпосылкой для развития фиброза. Кроме того, одним из вероятных механизмов воздействия PKR на процесс воспаления может быть активация ядерного фактора NF-κB [De Lucca F.L. et al., 2002], обладающего антиапоптотическим действием и влияющего на процессы пролиферации. Таким образом, показано, что генотип G/G ОНП +244A/G гена *PKR* достоверно чаще встречался у больных по сравнению со здоровыми донорами и ассоциирован с активностью воспаления в печени и степенью фиброза, что говорит о несомненной значимости изучаемого ОНП в патогенезе хронического вирусного гепатита С.

Результаты анализа распространенности полиморфных вариантов гена *IFNA17* у больных хроническим вирусным гепатитом С

Интерферон-α является ключевым фактором противовирусной защиты организма при вирусной инфекции, запускающий внутриклеточные сигнальные пути. Препараты IFN-α лежат в основе всех современных схем лечения HCV-инфекции [Блохина Н.П., Цурикова Н.Н., 2002; Vezali E. et al., 2011]. Таким образом, участие продукта гена *IFNA17* в патогенезе хронического вирусного гепатита С не подлежит сомнению.

Оценка распределения частот аллелей и генотипов гена ОНП 551 T/G гена *IFNA17* выявила достоверное различие частот генотипов G/G и G/T и аллелей в исследованных группах ($p < 0,05$). Было показано, что наибольшему риску развития гепатита С подвержены лица-носители гомозиготного варианта G/G полиморфизма 551 T/G гена *IFNA17* (OR=4,76) и аллеля G (OR=1,96), а наименьшему риску – лица, гетерозиготные по генотипу G/T (OR=0,29) и с аллелем T (OR=0,21) (табл. 6).

Таблица 6

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма 551 T/G гена *IFNA17* (% (абс.)) среди здоровых доноров и больных HCV-инфекцией

Показатель	Здоровые доноры N=171	Больные HCV N=98	χ^2	p	OR знач. (95% CI)
G/G	14,6% (25)	44,9% (44)	28,38	0,0001	4,76 (2.66-8.51)
G/T	49,7% (85)	22,4% (22)	18,2	0,0001	0,29 (0.17-0.51)
T/T	35,7% (61)	32,7% (32)	0,14	0,7130	0,87 (0.52-1.48)
G	39,2% (67)	56,1% (55)	6,55	0,0105	1,96 (1.37-2.80)
T	60,8% (104)	43,9% (43)			0,51 (0.36-0.73)

H. Nakashima et al. [2005] было показано, что полиморфизм 551 T/G гена *IFNA17* расположен в кодирующей части гена и приводит к замене изолейцина в 184 позиции на аргинин. По нашим данным, такая замена увеличивает риск развития заболевания практически в 5 раз (OR=4,76). Это позволяет сделать предположение о том, что белок IFN-α с аргинином в 184 положении отличается сниженной

способностью запускать внутриклеточные механизмы защиты от вирусной агрессии. Интересно, что в исследовании I. Golovleva et al. [1996] была показана ассоциация полиморфизма IFN- α (I184R) с другим значимым полиморфизмом гена интерферона-альфа – 60T/A гена *IFNA10*, приводящего к образованию стоп-кодона (C20X), что также могло оказывать влияние на трансляцию или экспрессию гена *IFNA17*.

При изучении распределения аллелей G и T ОНП 551 T/G в зависимости от степени активности воспаления не выявлено достоверных различий в частоте их встречаемости в сравниваемых группах больных. При исследовании генотипов обнаружено, что генотип G/G у пациентов со слабым воспалением встречался достоверно чаще (58,5%) по сравнению с пациентами с умеренным воспалением в печени (28,9%) (OR=3,29). При оценке распределения аллелей и генотипов полиморфизма 551T/G гена *IFNA17* у больных HCV-инфекцией в зависимости от степени фиброза печени были получены статистически не значимые различия ($p>0,05$).

Таким образом, рисковый по предрасположенности генотип G/G полиморфизма 551 T/G гена *IFNA17* оказался сопряжен со слабым воспалением печени. Нами было предположено, что генотип G/G способствует созданию благоприятных условий для развития HCV. По данным литературы, с развитием выраженного воспаления ассоциированы полиморфизмы генов, таких как *CCR5-delta32*, *RANTES*, [Hellier S. et al., 2003], *IL10* [Yee L.J. et al., 2001], *IL18* [Bouzgarrou N. et al., 2008] и др., кодирующих функциональные цитокины и ферменты. Генотип G/G, видимо, играет второстепенную роль в развитии воспалительного процесса, поскольку в нашем исследовании практически 60% носителей данного генотипа имели ИГА воспаления 4-8 баллов. Это может быть связано с тем, что основной функцией интерферонов является инициация неспецифической противовирусной защиты клеток, реализуемой через активацию транскрипции интерферон-индуцируемых генов.

Результаты анализа распространенности полиморфных вариантов гена *IFNG* у больных хроническим вирусным гепатитом С

Как известно, IFN- γ обладает обширным иммуномодулирующим действием: направляет развитие иммунного ответа по Th1-пути, усиливает экспрессию молекул МНС II, способствует презентации вирусных антигенов Th-лимфоцитам, усиливает активность макрофагов и натуральных киллеров [Нестерова И.В., 2004].

При исследовании распределения аллелей и генотипов ОНП +874 A/T гена *IFNG* в нашей работе (табл. 7) были выявлено, что аллель А достоверно чаще встречался у здоровых доноров (48,0% случаев), чем у больных (31,6%) (OR=0,5), а аллель Т, наоборот, чаще у больных (68,4%), чем у здоровых (52,0%) (OR=1,99). Частота встречаемости генотипа А/Т у больных HCV-инфекцией (53,1%) была ниже, а генотипа Т/Т (41,8%) – выше ($p<0,05$) по сравнению с группой контроля (83,0 и 10,6%, соответственно).

Полученные данные выявили рисковые свойства аллеля Т (OR=1,99) и генотипа Т/Т (OR=6,11), что подтверждается результатами других исследователей. Так, в работе С.У. Dai [2006] пациенты с Т-аллелем имели достоверно больший уровень

цирроза печени, чем пациенты с А-аллелем. Изучаемый нами полиморфизм +874 А/Т располагается в первом интроне гена *IFNG*. Возможное влияние ОНП интронов на продукцию белка было предложено выше: пациенты с генотипом Т/Т, предположительно, обладали сниженным уровнем продукции IFN- γ . Известно, что сайт начала трансляции совпадает с предположительным сайтом связывания NF-kB, что также может сказываться на секреции IFN- γ [Matos G.I. et al., 2007].

Таблица 7

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма +874А/Т гена *IFNG* (% (абс.)) среди здоровых доноров и больных HCV-инфекцией

Показатель	Здоровые доноры N=171	Больные HCV N=98	χ^2	p	OR знач. (95% CI)
А/А	6,4% (11)	5,1% (5)	0,03	0,8601	0,78 (0,26-2,32)
А/Т	83,0% (142)	53,1 % (52)	26,38	0,0001	0,23 (0,13-0,41)
Т/Т	10,6% (18)	41,8 % (41)	33,86	0,0001	6,11(3,25-11,50)
А	48,0% (82)	31,6% (31)	6,16	0,0131	0,5 (0,35-0,73)
Т	52,0% (89)	68,4% (67)			1,99 (1,38-2,88)

При оценке значения полиморфизма +874А/Т гена *IFNG* в развитии воспаления и фиброза в паренхиме печени не было получено статистически достоверных различий частот встречаемости вариантных аллелей и генотипов гена у больных HCV-инфекцией ($p > 0,05$). Возможно, это связано с тем, что эффекты IFN- γ проявляются на первых этапах контакта с вирусом. Для каждого больного период времени, в течение которого развивается воспаление и фиброз печени, индивидуален, и, видимо, предопределен генетически. Так, фиброгенез – комплексный процесс, вызванный рядом параллельно действующих факторов, таких как окислительный стресс, воспаление, стеатоз. По данным литературы, генетические вариации, влияющие на развитие фиброза, как правило, возникают в различных точках именно этих процессов [Hellier S. et al., 2003; Richardson M.M. et al., 2005].

Анализ межгенных взаимодействий в формировании предрасположенности к развитию хронического вирусного гепатита С

Стоит отметить, что наиболее опасным для возникновения многих болезней является сочетание нескольких неблагоприятных аллелей генов с аддитивным эффектом. М.М. Richardson et al. [2005] на примере изучения профибротических полиморфизмов при хроническом вирусном гепатите С доказали, что комбинированный эффект полиморфизмов существенно увеличивает риск прогрессирования фиброза.

Для оценки совместного влияния полиморфизмов генов *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* на предрасположенность к HCV-инфекции нами использовался метод логистической регрессии (табл. 8).

Анализ результатов исследования показал, что наибольший вклад в развитие предрасположенности вносит полиморфизм 551Т/Г гена *IFNA17*, видимо, потому,

что IFN- α является пусковым фактором, ответственным за включение всех последующих внутриклеточных механизмов защиты от вируса. Второе, третье и четвертое места принадлежат ОНП генов *OAS1*, *PKR* и *IFNG*, чьи белковые продукты отвечают за непосредственную реализацию противовирусного действия и играют важную роль в патогенезе хронического вирусного гепатита С (рис. 1). Наименьший вклад в развитие предрасположенности принадлежит полиморфизму гена *OAS3*.

Таким образом, было показано, что гены системы интерферона *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* оказывают влияние на предрасположенность и характер течения хронического вирусного гепатита С. Полиморфизмы в этих генов могут служить ДНК-маркерами хронического вирусного гепатита С. Вместе с тем комплексное изучение генов улучшает качество прогнозирования предрасположенности.

Таблица 8

Анализ вклада изученных полиморфизмов генов системы интерферона в предрасположенность к хроническому вирусному гепатиту С

Шаг	Включенные в модель гены	χ^2	p	-2LL	NRS, %	ОПС, %
1	<i>IFNG</i> .	27,139	<0,001	325,713	13,1	72,1
2	<i>IFNG</i> ; <i>IFNA17</i> .	110,616	<0,001	242,236	46,1	81,4
3	<i>IFNG</i> ; <i>IFNA17</i> ; <i>PKR</i> .	151,937	<0,001	200,915	59,1	80,3
4	<i>IFNG</i> ; <i>IFNA17</i> ; <i>PKR</i> ; <i>OAS1</i> .	216,502	<0,001	136,350	75,7	88,5
5	<i>IFNG</i> ; <i>IFNA17</i> ; <i>PKR</i> ; <i>OAS1</i> ; <i>OAS3</i> .	221,566	<0,001	131,286	76,8	88,8

Примечание: χ^2 – критерий сравнения частоты встречаемости гена у больных вирусным гепатитом С и здоровых доноров; p – достоверность различий показателей между сравниваемыми группами; -2LL(-2 Log Likelihood) – показатель качества приближения регрессионной модели; NRS (Nagelkerke R Square) – показатель, указывающий на ту часть дисперсии, которую можно объяснить с помощью Log-регрессии; ОПС (Overall Percentage Correct) – процент верных прогнозов данной моделью.

Учитывая важную роль системы интерферона в иммунопатогенезе персистентных вирусных инфекций, дальнейшее углубленное изучение молекулярно-генетических механизмов функционирования системы интерферона позволит обнаружить новые подходы в предупреждении и коррекции иммунопатологических расстройств.

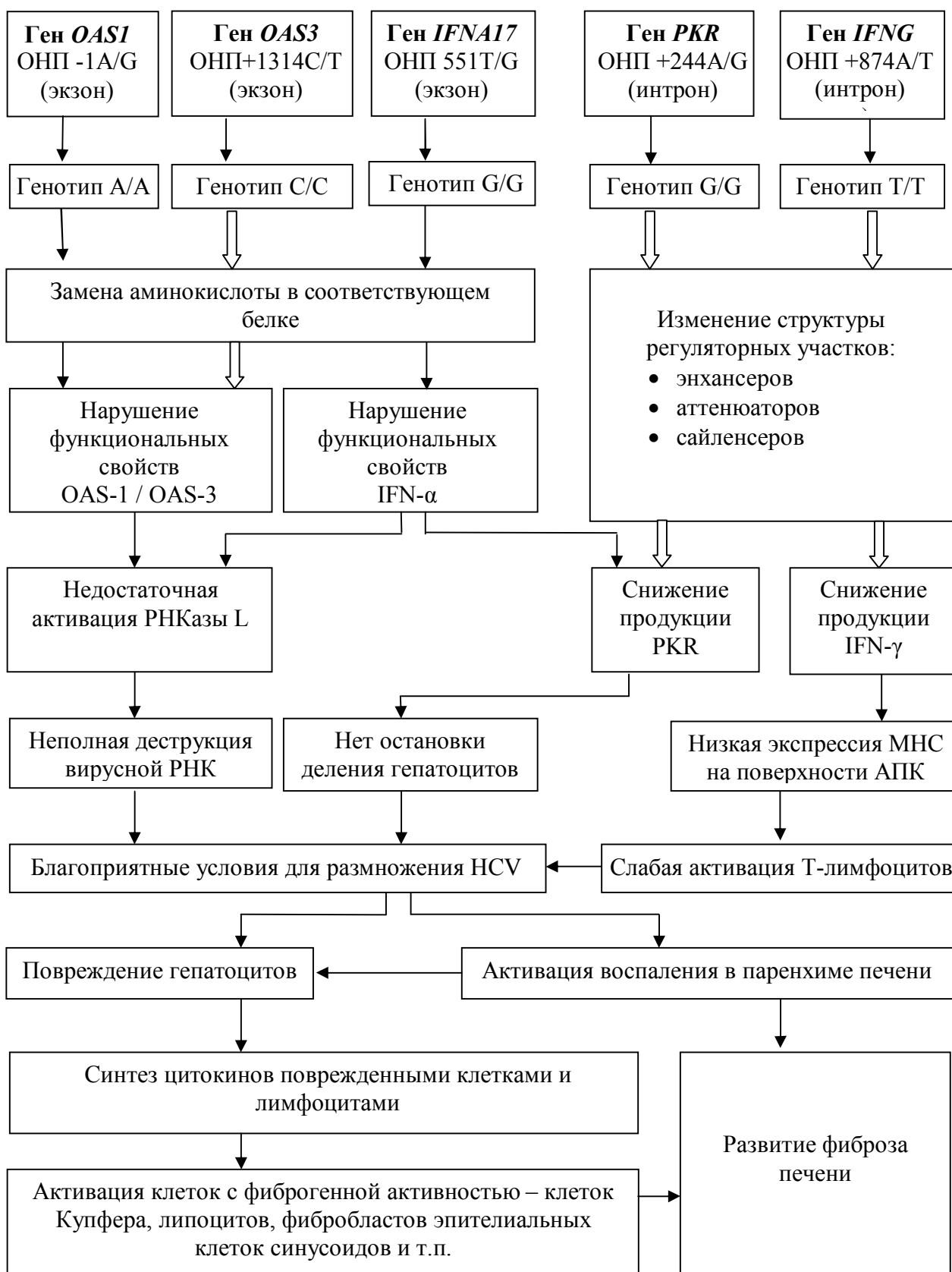


Рис. 1. Значение полиморфных вариантов генов *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG* в патогенезе хронического вирусного гепатита С (по данным Bidwell J.P., 1998; Field L.L. et al., 2005; Nakashima H. et al., 2005; Dai C.Y. et al., 2006; Gouyer P., 2007 и собственных исследований). Примечание: \Rightarrow – предполагаемый механизм влияния генетической информации на уровень белкового продукта.

ВЫВОДЫ

1. Полиморфные варианты генов системы интерферона -1A/G гена *OAS1*, +1314C/T гена *OAS3*, +244A/G гена *PKR*, 551G/T гена *IFNA17* и +874A/T гена *IFNG* играют роль в патогенезе хронического вирусного гепатита С, поскольку частоты встречаемости определенных аллельных вариантов у больных с HCV-инфекцией (европеоидов, проживающих на территории Томской области) статистически значимо превышают таковые у здоровых доноров.

2. Среди больных хроническим вирусным гепатитом С гомозиготный генотип А/А и аллель А полиморфизма -1A/G гена *OAS1* встречаются достоверно чаще по сравнению со здоровыми донорами и сопряжены с умеренным воспалительным процессом в паренхиме печени у больных хроническим вирусным гепатитом С.

3. Гомозиготный генотип С/С полиморфизма +1314 С/Т гена *OAS3* встречается достоверно чаще у больных хроническим вирусным гепатитом С по сравнению со здоровыми донорами и сопряжен с развитием фиброза печени.

4. Гомозиготный генотип G/G и аллель G полиморфизма +244 A/G гена *PKR* встречаются чаще среди больных хроническим вирусным гепатитом С по сравнению со здоровыми донорами, а также ассоциированы с умеренным воспалением и развитием фиброза печени.

5. Для больных хроническим вирусным гепатитом С характерна более высокая встречаемость гомозиготного варианта G/G полиморфизма 551 T/G гена *IFNA17* по сравнению со здоровыми донорами. Генотип G/T сопряжен с усилением активности воспаления в паренхиме печени среди больных HCV-инфекцией.

6. Среди пациентов с хроническим вирусным гепатитом С гомозиготный генотип T/T и аллель T полиморфизма +874A/T гена *IFNG* встречаются чаще по сравнению со здоровыми донорами.

7. Комплексное исследование полиморфизма генов системы интерферона (*OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* и *IFNG*) улучшает качество прогнозной модели и увеличивает процент верных прогнозов течения хронического вирусного гепатита С с 72,1% (при учете 1 гена) до 88,8% (при учете 5 генов).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Функциональная значимость полиморфизма генов *APOE* и *SOD2* в формировании HCV-инфекции / Н.А. Семенова, Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, А.И. Дмитриева, О.Е. Чечина, В.А. Бычков, И.П. Моисеенко // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – №3. – С. 64-68.

2. Ассоциация полиморфизма интерферон-индуцируемых генов человека *PKR*, *OAS1* и *OAS3* со структурными изменениями печени при хроническом вирусном гепатите С / В.А. Бычков, Н.А. Семенова, Л.А. Клепцова, В.Д. Якушина // Сборник тезисов IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов», 27-29 октября 2009 г, С. 41, Новосибирск, Россия.

3. Роль полиморфизма гена супероксиддисмутазы второго типа в развитии хронического вирусного гепатита С / Н.А. Семенова, В.А. Бычков // Сборник тезисов IV международной

научной конференции молодых ученых-медиков 2010, 25-26 февраля, Курск, Россия. – Т. 3, С.146-148.

4. Роль полиморфизма гена HFE в развитии хронического вирусного гепатита С / Н.А. Семенова, Н.В. Рязанцева, В.А. Бычков // Сборник тезисов II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Вопросы патогенеза типовых патологических процессов", 18-19 марта 2010 г., С. 314-318, Новосибирск, Россия.

5. Влияние аллельного полиморфизма +244A/G гена PKR на структурные изменения печени при хронической HCV-инфекции / В.А. Бычков, Н.А. Семенова, Л.А. Клепцова // Сборник тезисов XVI межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии», 21-22 апреля 2010 г., С. 41-43, Санкт-Петербург, Россия.

6. Роль полиморфизма гена IL6-174C/G в развитии хронической HCV-инфекции / Н.А. Семенова, Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, В.А. Бычков, О.Е. Чечина // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – №5. – С. 93-97.

7. Роль полиморфизма генов Apo, SOD и HFE в развитии хронического вирусного гепатита С / Н.А. Семенова, Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, В.А. Бычков, А.И. Дмитриева, О.Е. Чечина // Молекулярная медицина. - 2010. – №5. - С. 56-62.

8. Ассоциация полиморфизмов генов системы интерферона OAS1, OAS3, PKR и хронического вирусного гепатита С / В.А. Бычков, Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, Н.А. Семенова, Л.А. Клепцова, В.Д. Якушина // Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 93-100.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АПК – антигенпрезентирующая клетка;
ИГА – индекс гистологической активности;
ПДРФ – анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов;
ПЦР - полимеразная цепная реакция;
ОНП – однонуклеотидный полиморфизм;
HCV - вирус гепатита С;
OAS – олигоденилатсинтетаза;
PKR – протеинкиназа R;
IFN – интерферон.

Тираж – 100 экз.
Изготовлено в ООО «НИП»
г. Томск, ул. Советская, 47, тел.: 53-14-70