

9. Metz M, Vadasz Z, Kocatürk E, Giménez-Arnau AM. Omalizumab Updosing in Chronic Spontaneous Urticaria: an Overview of Real-World Evidence. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2020;59(1):38-45.

doi: <https://doi.org/10.1007/s12016-020-08794-6>

10. Maurer M, Weller K, Bindslev-Jensen C, et al. Unmet clinical needs in chronic spontaneous urticaria. A GA2LEN task force report. *Allergy.* 2011;66(3):317-30. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2010.02496.x>

11. Lacour JP, Khemis A, Giordano-Labadie F, et al. The burden of chronic spontaneous urticaria: unsatisfactory treatment and healthcare resource utilization in France (the ASSURE-CSU study). *Eur J Dermatol.* 2018;28(6):795-802.

doi: <https://doi.org/10.1684/ejd.2018.3446>

12. Hawro T, Ohanyan T, Schoepke N, et al. The Urticaria Activity Score-Validity, Reliability, and Respon-

siveness. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2018;6(4):1185-90.e1. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2017.10.001>

13. Botto N, Raffi J, Trivedi M, Ramirez F, Allen IE, Chren MM. Validating a Quality-of-Life Instrument for Allergic Contact Dermatitis. *Dermatitis.* 2019;30(5):300-5. doi: <https://doi.org/10.1097/DER.0000000000000515>

14. Immunoglobulin E (IgE), Individual Quant [Internet]. [cited 2023 Apr 02]. Available from: https://www.healthcare.uiowa.edu/path_handbook/rhandbook/test1094.html

15. Pagano M, Gauvreau K, Mattie H. Principles of Biostatistics. CRC Press; 2022. 735 p.

16. Agache I, Rocha C, Pereira A, et al. Efficacy and safety of treatment with omalizumab for chronic spontaneous urticaria: A systematic review for the EAACI Biologicals Guidelines. *Allergy.* 2021;76:59-70. doi: <https://doi.org/10.1111/all.14547>

Стаття надійшла до редакції
26.05.2023



УДК 616.36-002.17-037-07:57.088.7

<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.3.288931>

К.М. Усиченко 

ВИКОРИСТАННЯ ГЕНЕТИЧНИХ МАРКЕРІВ ЯК МОЖЛИВІСТЬ ПРОГНОЗУВАННЯ ШВИДКОСТІ ПРОГРЕСУВАННЯ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ В

Одеський національний медичний університет
пров. Валіховський, 2, Одеса, 65082, Україна
Odesa National Medical University
Valikhovsky Lane, 2, Odessa, 65082, Ukraine
e-mail: usichenko2006@gmail.com

Цитування: Медичні перспективи. 2023. Т. 28, № 3. С. 45-54

Cited: Medicni perspektivi. 2023;28(3):45-54

Ключові слова: хронічний гепатит В, фіброз печінки, прогноз, алельний поліморфізм генів цитокінів SMAD 7 (rs4939827), TNFα (rs1800620), IL-10 (rs1800896), IL-4 (rs2243250), протифібротична терапія, біцикллол
Key words: chronic hepatitis B, liver fibrosis, prognosis, allelic polymorphism of cytokine genes SMAD 7 (rs4939827), TNFα (rs1800620), IL-10 (rs1800896), IL-4 (rs2243250), antifibrotic therapy, bicyclol

Реферат. Використання генетичних маркерів як можливість прогнозування швидкості прогресування фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит В. Усиченко К.М. За останніми оцінками ВООЗ, хронічна інфекція вірусу гепатиту В є однією з основних причин смерті та інвалідності пацієнтів з інфекційними захворюваннями. У світі щорічно реєструється від 780 тис. до 1 млн смертей унаслідок цирозу печінки та

гепатоцелюлярної карциноми. Патогенетичні особливості перебігу та результатів хронічного гепатиту В визначаються імунологічними, генетичними факторами хазяїна, а також молекулярно-біологічною структурою вірусу. Мета дослідження — вивчити взаємодію поліморфних локусів генів цитокінів SMAD 7 (rs4939827), TNF α (rs1800620), IL-10 (rs1800896), IL-4 (rs2243250) та ступінь структурних змін печінки на основі неінвазивної методики Fibrotest у хворих на хронічний гепатит В у рамках пошуку можливих предикторів схильності до швидкого прогресування фіброзу печінки. Обстежено 82 хворих на хронічний гепатит В. Оцінку морфологічних змін (стадію фіброзу) проводили методом неінвазивної діагностики FibroScan, який є альтернативою пункційній біопсії печінки. Припускають, що гомозиготні алелі CC IL-4 (rs2243250), GG TNF α (rs1800620), член сімейства CC SMAD 7 (rs4939827) мають протекторну дію на перебіг хронічного гепатиту В, оскільки ці варіанти алельного поліморфізму генів цитокінів виявлялися переважно у хворих на ХГВ зі ступенем фіброзу F0-F1. Гетерозиготні генотипи CT IL-4 (rs2243250) та GA TNF α (rs1800620), мутантний гомозиготний TT сімейства SMAD 7 (rs4939827) мають профіброзну дію на перебіг хронічного гепатиту В, оскільки виявляються переважно у хворих на хронічний гепатит В зі ступенем фіброзу F3. Установлений зв'язок між стадією фіброзу печінки за шкалою METAVIR та поліморфізмом генів цитокінів SMAD 7 (rs4939827), TNF α (rs1800620) та IL-4 (rs2243250) дав змогу створити прогностичну шкалу для оцінки індивідуального ризику швидкого прогресування фіброзу печінки. Запропонована шкала завдяки комплексній оцінці поліморфізму алелей генів цитокінів та стадії фіброзу печінки за шкалою METAVIR дає змогу провести індивідуальну оцінку ризику прогресування хронічного гепатиту та, можливо, скласти індивідуальний план лікування для пацієнта. Кодування досліджуваних поліморфізмів і подальший підрахунок можуть бути автоматизованими, що не вимагає значних фінансових вкладень. Доведено можливість прогностичної шкали на прикладі групи пацієнтів, які отримували антифіброзний засіб «Біциклोल», порівняно з контрольною групою.

Abstract. The using of genetic markers as a possibility of predicting the rate of progress of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. Usychenko K.M. According to recent WHO estimates, chronic HBV infection is one of the leading causes of death and disability in patients with infectious diseases. From 780 thousand to 1 million deaths are annually recorded in the world as a result of cirrhosis of the liver and hepatocellular carcinoma. Pathogenetic features of the course and outcomes of chronic hepatitis B are determined by the immunological, genetic factors of the host, as well as the molecular biological structure of the virus. The aim of the work was to study the interaction of polymorphic loci of the cytokine genes SMAD 7 (rs4939827), TNF α (rs1800620), IL-10 (rs1800896), IL-4 (rs2243250) and the degree of structural changes in the liver based on the non-invasive Fibrotest technique in patients with chronic hepatitis B as part of a search for possible predictors of predisposition to the rapid progression of liver fibrosis. The study included 82 patients with chronic hepatitis B. Assessment of morphological changes (stage of fibrosis) was carried out by the method of non-invasive diagnosis of FibroScan, which is an alternative to puncture biopsy of the liver. It has been suggested that homozygous alleles CC IL-4 (rs2243250), GG TNF α (rs1800620), CC SMAD family member 7 (rs4939827) have a protective effect on the course of chronic hepatitis B, as these variants of allelic polymorphism of cytokine genes were found mainly in patients with CHB with a degree of fibrosis F0-F1. The heterozygous genotypes CT IL-4 (rs2243250) and GA TNF α (rs1800620), the mutant homozygous TT SMAD family member 7 (rs4939827) have a profibrotic effect on the course of chronic hepatitis B, as they are found mainly in patients with chronic hepatitis B with degree of fibrosis F3. The established relationship between the liver fibrosis stage according to the METAVIR scale and the polymorphism of the cytokine genes SMAD 7 (rs4939827), TNF α (rs1800620) and IL-4 (rs2243250) made it possible to create a prognostic scale for assessing the individual risk of rapid progression of liver fibrosis. The proposed scale, due to a comprehensive assessment of the polymorphism of cytokine gene alleles and the stage of liver fibrosis using the METAVIR scale, makes it possible to carry out an individual assessment of the risk of progression of chronic hepatitis and, possibly, draw up a personalized treatment plan for the patient. Coding of the studied polymorphisms and subsequent counting can be automated, which does not require significant financial investments. The possibilities of the prognostic scale are proven on the example of a group of patients who received the antifibrotic agent bicyclol in comparison with the control group.

Хронічний гепатит В (ХГВ) є однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем сучасної медицини внаслідок значної поширеності та великого ризику розвитку цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми [1, 2, 3]. За останніми оцінками ВООЗ, хронічна інфекція, спричинена вірусом гепатиту В (HBV), є однією з основних причин смерті та інвалідизації хворих з інфекційною патологією. Щорічно у світі реєструється близько 1 мільйона нових випадків інфікування цим вірусом [4].

На теперішній час продовжується вивчення механізмів хронізації вірусного гепатиту В. Патогенетичні особливості перебігу та наслідків ХГВ визначаються імунологічними, генетичними факторами хазяїна, а також молекулярно-біологічною структурою вірусу. У регуляції імунної відповіді найважливішу роль відіграють цитокіни як медіатори міжклітинної взаємодії. Функціонування цитокінової мережі визначається багатьма чинниками, зокрема й генетичними. Молекулярною

основою функціонування цитокінів є поліморфізм генів цитокінів та його рецепторів [5, 6, 7].

В Україні доступні неінвазивні методи дослідження фібротичних змін печінкової тканини та пункційна біопсія дозволяють тільки встановити вже існуючий ступінь патологічних змін ураженого органа, але не є підставою для прогнозування подальшого фіброзоутворення. Проте важливим є не лише визначення ступеня вже існуючого фіброзу, а й можливості його подальшого прогресування. Встановлення швидкості фіброзоутворення печінкової тканини є необхідним для оцінки прогнозу захворювання, ефективності вже проведеної терапії, визначення нових фіброгенних впливів (інфікування іншими гепатотропними вірусами) при збільшенні цієї швидкості та своєчасного призначення проти-фібротичного лікування [8, 9].

Однак дані про поліморфізм генів цитокінів у хворих на ХГВ нечисленні й нерідко суперечливі, що, ймовірно, пов'язано з обстеженням певної популяції, а також з тим, що до групи дослідження включаються особи з ураженням різними гепатотропними вірусами [10, 11].

У зв'язку з цим актуальним завданням є пошук предикторів більш агресивного перебігу захворювання. За їх наявності показано негайне й тривале лікування хворих на хронічні вірусні гепатити, а в разі їх відсутності протівірусна терапія може бути відкладена.

Мета виконаного дослідження – вивчення протифібротичного впливу «Біциклोल» на підставі взаємовідносин поліморфних локусів генів цитокінів *SMAD 7 (rs4939827)*, *TNF α (rs1800620)*, *IL-10 (rs1800896)*, *IL-4 (rs2243250)* та ступеня фібротичних змін печінки як предикторів швидкого прогресування фіброзу печінки.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідження включали пацієнтів з підтвердженим (відповідно до клінічного протоколу) хронічним гепатитом В. Для цього використовували рутинні біохімічні показники (активність ферментів АлАт та АсАт, вміст загального білірубину та його фракцій) [12]. Методом полімеразної ланцюгової реакції у венозній крові пацієнтів визначали кількісно та якісно DNA HBV. Методом імуноферментного аналізу у всіх хворих визначені антигени HBsAg та HBeAg [3, 4].

Обстеження хворих проводилось при зверненні до гепатологічного центру, після завершення курсу протівірусного лікування та через 6 місяців після початку прийому протифібротичної терапії. Пацієнти з ХГВ отримували комбіновану схему лікування протягом 24 тижнів:

тенофовір (300 мг 1 раз на день) та пегільований інтерферон α -2а (180 мкг 1 раз на тиждень). Схема лікування призначена на підставі сучасних рекомендацій Європейської асоціації з вивчення хвороб печінки та національних клінічних рекомендацій [3, 4].

Для оцінки впливу на розвиток фібротичних змін печінки у хворих на хронічний гепатит В був застосований препарат «Біциклोल» (реєстраційне свідоцтво UA/1736/01/01 від 21.11.2019 наказ № 2374 від 28.10.2021). Препарат призначався за рекомендованою схемою 25 мг (1 таблетка) 3 рази на добу протягом 6 місяців. Цей препарат є гепатопротектором, його основна активна речовина сприяє зменшенню активності внутрішньоклітинних ферментів печінки при ураженнях різної етіології. Лікарський засіб пригнічує продукцію TNF α , уповільнює вираженість вільнорадикальних процесів у клітинах, гальмує апоптоз гепатоцитів, стимульований ФНПа та цитотоксичними Т-клітинами, що призводить до відновлення пошкоджень ядра та ДНК гепатоцитів. Особливої уваги заслуговує вплив цього лікарського засобу на цитокіновий профіль, а порушення гуморальної ланки значні та суттєві при всіх хронічних вірусних гепатитах. У роботах інших авторів саме цей препарат розглядається як протифібротичний, тому є доцільним включити його до комплексної терапії після завершення курсу протівірусного лікування за протоколом [13, 14].

Базисна терапія хворих на гепатит включала лікувально-охоронний режим, дієтичне харчування з обмеженням жирної, гострої та смаженої їжі, полівітамінні комплекси, гепатопротектори. Як гепатопротектори були призначені лікарські засоби із силімарином. За показанням застосовувалися спазмолітики, жовчогінні та ферментні препарати.

Після закінчення курсу протівірусного лікування для оцінки ефективності досліджуваного методу протифібротичної терапії хворі методом випадкового вибору були розподілені на дві групи. Групу I склали хворі (41 особа), які одержували базисну терапію та протифібротичний препарат («Біциклोल»). Хворі (також 41 особа) групи II приймали тільки базисну терапію.

Критеріями виключення з дослідження були наркоманія, алкоголізм, ВІЛ – позитивний статус.

Критеріями, за якими не залучали до відбору, були наявність інших вірусів гепатитів (А, С, D, E), інших чинників хронічних захворювань печінки, автоімунні хвороби, серед яких автоімунний гепатит, первинний біліарний холангіт, первинний склерозуючий холангіт; жовчокам'яна хвороба, хвороба Вільсона, гемохроматоз.

Серед пацієнтів (усього 82 особи) – 56 чоловіків та 26 жінок; переважали особи молодого та середнього віку. Контрольну групу склали 30 здорових добровольців – 15 чоловіків та 15 жінок, їхній середній вік становив $32 \pm 1,05$ року. За нашим підбором стосовно статі та віку обрані групи клінічного дослідження виявилися зіставними, включення пацієнтів до дослідження проводилося за зверненням їх за медичною допомогою.

У подальшому для більш точної оцінки результатів протифібротичної терапії з кожної групи хворих на ХГВ (I та II) були вибрані по 10 осіб зі ступенем фіброзу F1, F2 та F3, тобто кількість пацієнтів з певним ступенем фіброзу була однаковою. Зіставлення результатів лікування проводилося в групах Ia та IIa.

До груп I та II включали пацієнтів, що відповідали критеріям дослідження, у порядку звернення до гепатологічного центру.

Регламент проведеного проєкту схвалено етичним комітетом з біоетики Одеського національного медичного університету (протокол № 179 від 19.11.2010), дослідження проведені згідно з письмовою згодою учасників і відповідно до принципів біоетики, викладених у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» та «Загальній декларації про біоетику та права людини (ЮНЕСКО)». Усі пацієнти підписували інформовану згоду на участь у дослідженні. Усі прилади, використані для обстеження пацієнтів, були метрологічно атестовані.

Ступінь вираженості фібротичних змін печінки (стадія фіброзу) оцінювали за допомогою еластографії печінки FibroScan з використанням

шкали METAVIR. Дослідження ступеня фіброзу печінки проводилось до початку лікування, після завершення курсу противірусного лікування та через пів року після завершення курсу противірусного лікування [4].

Генотипування SNP-локусів проведено у всіх 82 пацієнтів з хронічним гепатитом В і всіх здорових добровольців. Усі обстежені пацієнти європеїдної раси та проживали в Одеському регіоні. З метою ідентифікації поліморфних алелів генів цитокінів SMAD 7 (rs4939827), TNF α (rs1800620), IL-10 (rs1800896), IL-4 (rs2243250) застосовували полімеразну ланцюгову реакцію. Ідентифікацію проводили на базі лабораторного комплексу "Німецький діагностичний центр Св. Павла" (Одеса, Україна).

Дані, отримані в дослідженні, обробляли за допомогою програми PSPP та відкритого програмного забезпечення LibreOffice MPL 2.0 (Mozilla Public License). Розподіл генотипів за дослідженими поліморфними локусами перевіряли за допомогою критерію χ^2 Пірсона. Частоти алелей і генотипів у групах порівнювали із застосуванням критерію χ^2 Пірсона з поправкою Йетса на безперервність при числі ступенів свободи рівному 1. Взаємозв'язок фібротичних змін у печінковій тканині та алельного поліморфізму досліджуваних генотипів оцінювали за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмена [15].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати вивчення поліморфізму генів цитокінів SMAD 7 (rs4939827), TNF α (rs1800620), IL-10 (rs1800896), IL-4 (rs2243250) представлені в таблицях 1-4.

Таблиця 1

Частота алелів цитокіну IL-4 (rs2243250) у пацієнтів з ХГВ та здорових обстежених

Алель	Пацієнти з ХГВ N=82	Частота (%)	Здорові особи N=30	Частота (%)	χ^2	Рівень значущості
TT	-	-	2	6,7	-	-
CT	32	39,02	2	6,7	9,59	p<0,01
CC	50	60,98	26	86,6	5,65	p<0,05

Гомозиготний мутантний алель TT IL-4 (rs2243250) виявлявся тільки в невеликій кількості здорових осіб та не був виявлений у жодного пацієнта з ХГВ. Гомозиготний нормальний алель CC IL-4 (rs2243250) відзначався як серед пацієнтів з ХГВ (61%), так і серед здорових осіб (88%) (p<0,05). Гетерозиготний алель CT IL-4

(rs2243250) переважав у пацієнтів з ХГВ (39%) порівняно з практично здоровими особами (6%) (p<0,05). Статистично достовірною різницею частоти алелів цитокіну IL-4 у здорових осіб та пацієнтів з ХГВ виявлена для генотипів CC IL-4 (rs2243250) (p<0,05) та CT IL-4 (rs2243250) (p<0,01).

Таблиця 2

Частота алелів цитокіну *IL-10 (rs1800896)* у пацієнтів з ХГВ та здорових обстежених

Алель	Пацієнти з ХГВ N=82	Частота (%)	Здорові особи N=30	Частота (%)	χ^2	Рівень значущості
AA	6	7,3	8	26,67	4,954	p<0,05
GA	50	60,0	8	26,67	8,197	p<0,005
GG	26	31,7	14	46,66	1,645	p<0,02

Гомозиготний мутантний алель *AA IL-10 (rs1800896)* переважав у практично здорових осіб (26%) порівняно з пацієнтами з ХГВ (8%). Гомозиготний нормальний алель *GG IL-10 (rs1800896)* практично однаково зустрічався як у здорових осіб, так і в пацієнтів з ХГВ. Гетерозиготний алель *GA IL-10 (rs1800896)* переважав у пацієнтів

з ХГВ (60%) порівняно з практично здоровими особами (26%). Статистично достовірною різницею частоти алелів цитокіну *IL-10* у здорових осіб та пацієнтів з ХГВ виявлена для генотипів *AA IL-10 (rs1800896)* (p<0,05) та *GA IL-10 (rs1800896)* (p<0,001).

Таблиця 3

Частота алелів цитокіну *TNFA (rs1800620)* у пацієнтів з ХГВ та здорових обстежених

Алель	Пацієнти з ХГВ N=82	Частота (%)	Здорові особи N=30	Частота (%)	χ^2	Рівень значущості
AA	-	-	1	3,3		
GA	12	14,36	2	6,7	1,1	p>0,05
GG	70	85,37	27	90,0	0,336	p>0,05

Гомозиготний мутантний алель *AA TNFA (rs1800620)* був виявлений тільки в здорових добровольців (3%), у досліджуваній групі пацієнтів з ХГВ такий алель не виявлений.

Статистично достовірної різниці частоти алелів *GG TNFA (rs1800620)* та *GA TNFA (rs1800620)* у здорових осіб та пацієнтів з ХГВ виявлено не було (p>0,05).

Таблиця 4

Частота алелів цитокіну *SMAD family member 7 (rs4939827)* у пацієнтів з ХГВ та здорових обстежених

Алель	Пацієнти з ХГВ N=82	Частота (%)	Здорові особи N=30	Частота (%)	χ^2	Рівень значущості
TT	18	21,96	9	30,0	0,80	p>0,1
CT	32	39,02	5	16,7	5,60	p<0,05
CC	32	39,02	16	53,3	1,77	p>0,5

Гетерозиготний алель *CT SMAD family member 7 (rs4939827)* переважав у пацієнтів з ХГВ (p<0,05). Статистично достовірної різниці частоти

алелів *TT SMAD family member 7 (rs4939827)* та *CC SMAD family member 7 (rs4939827)* у здорових осіб та пацієнтів з ХГВ виявлено не було (p>0,05).

Виявлені алельні поліморфізми досліджуваних генів у хворих на ХГВ та здорових обстежених суттєво відрізняються, що може свідчити про певний взаємозв'язок генетичних особливостей людини та розвитку хронічної хвороби печінки.

За результатами FibroScan, при первинному обстеженні серед пацієнтів з ХГВ переважали

особи з мінімальним ступенем фіброзу. Стадія F0-F1 діагностована в 41% (34 особи), F2 – у 34% (28 осіб), F3 – у 25% (20 осіб).

За результатами кореляційного аналізу встановлений взаємозв'язок певних алелів генів цитокінів та стадії фіброзу печінки (табл. 5).

Таблиця 5

Кореляційний взаємозв'язок між різними генотипами цитокінів та ступенем фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит В

	<i>IL-4 (rs2243250)</i>	<i>IL-10 (rs1800896)</i>	<i>TNFα (rs1800620)</i>	<i>SMAD family member 7 (rs4939827)</i>	ступінь фіброзу, F
<i>IL-4 (rs2243250)</i>	1	0,095	-0,663**	0,704**	0,735**
<i>IL-10 (rs1800896)</i>	0,095	1	-0,082	0,095	0,003
<i>TNFα (rs1800620)</i>	-0,663**	-0,082	1	-0,583**	-0,561**
<i>SMAD family member 7 (rs4939827)</i>	0,704**	0,095	-0,583**	1	0,947**
ступінь фіброзу, F	0,735**	0,003	-0,561**	0,947**	1

Примітка. ** – статистично значущий зв'язок (p<0,01).

При проведенні кореляційного аналізу в пацієнтів з ХГВ зі статистичною достовірністю (p<0,01) було встановлено:

- прямий помірний зв'язок між генотипами *IL-4 (rs2243250)* та стадією фіброзу F (у пацієнтів з ХГВ носіїв нормального гомозиготного алеля *CC IL-4 (rs2243250)* частіше відзначається ступінь фіброзу F0-F1);
- помірний зворотній зв'язок між генотипами *TNFα (rs1800620)* та стадією фіброзу F (у пацієнтів з ХГВ носіїв нормального гомозиготного алеля *GG TNFα (rs1800620)* частіше відзначається ступінь фіброзу F0-F1);
- сильний прямий зв'язок між генотипами *SMAD family member 7 (rs4939827)* та стадією фіброзу F (у пацієнтів з ХГВ носіїв нормального гомозиготного алеля *CC SMAD family member 7 (rs4939827)* частіше відзначається ступінь фіброзу F0-F1).

Таким чином, відзначається певний взаємозв'язок між різними генотипами цитокінів та ступенем фіброзу печінки в пацієнтів з хронічним гепатитом В.

У результаті проведеного дослідження зроблено припущення, що гомозиготні алелі *CC IL-4 (rs2243250)*, *GG TNFα (rs1800620)*, *CC SMAD family member 7 (rs4939827)* мають тенденцію до протективного впливу на перебіг хронічного

гепатиту В, оскільки ці варіанти алельного поліморфізму генів цитокінів виявлені переважно в пацієнтів з ХГВ зі ступенем фіброзу F0-F1. Гетерозиготні генотипи *CT IL-4 (rs2243250)* та *GA TNFα (rs1800620)*, мутантний гомозиготний генотип *TT SMAD family member 7 (rs4939827)* мають тенденцію до профібротичного впливу на перебіг ХГВ, оскільки вони виявлені в пацієнтів зі ступенем фіброзу F3.

Таким чином, встановлений взаємозв'язок стадії фіброзу печінки за шкалою METAVIR та поліморфізму генів цитокінів *SMAD 7 (rs4939827)*, *TNFα (rs1800620)* та *IL-4 (rs2243250)* дозволив зробити припущення про можливість створення прогностичної шкали для оцінки індивідуального ризику швидкого прогресування фіброзоутворення.

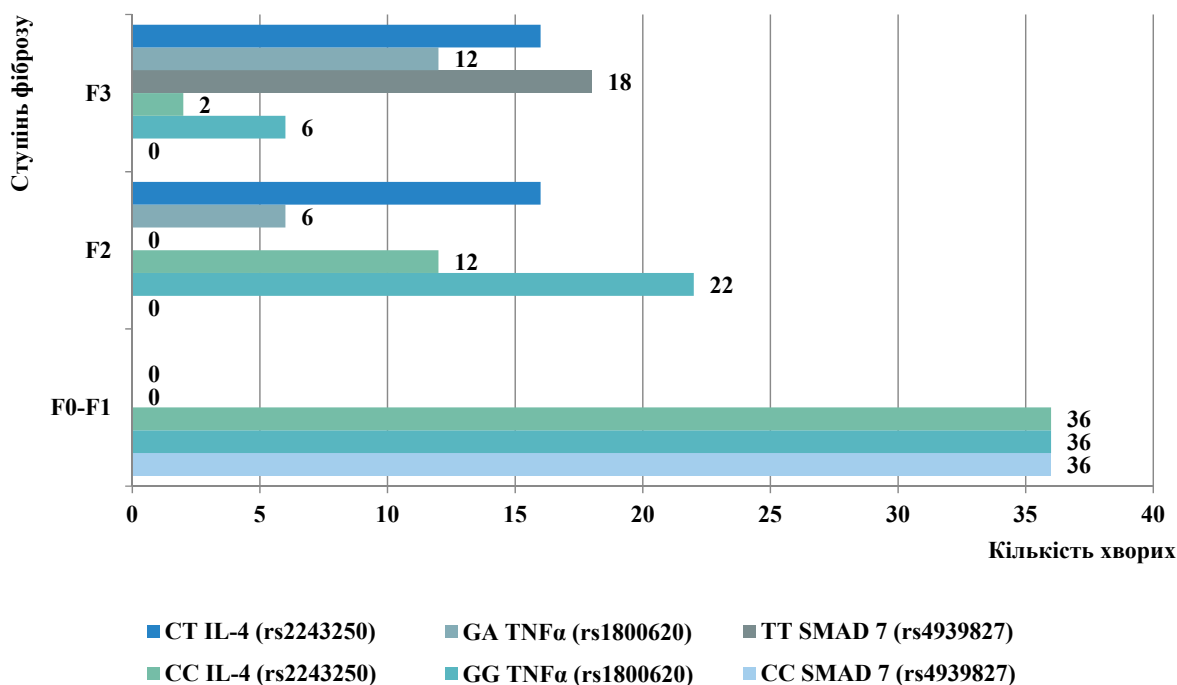
Для спрощення створення шкали алелі генів цитокінів *SMAD 7 (rs4939827)*, *TNFα (rs1800620)*, *IL-4 (rs2243250)*, оцінених як профібротичні, були закодовані як "-1" бал; алелі генів цитокінів *SMAD 7 (rs4939827)*, *TNFα (rs1800620)*, *IL-4 (rs2243250)*, описані як протективні, були закодовані як "+1" бал; надалі проведено підсумовування одержаних результатів. Найменша ймовірність розвитку фіброзу печінки F3 передбачається в пацієнтів з більшою сумою балів.

На наведеній нижче діаграмі сірим кольором представлені протективні алелі та чорним –



профібротичні. Відзначається переважання профібротичних алелів у пацієнтів з високим ступенем фіброзу та протективних – у пацієнтів з ХГВ з мінімальною стадією фіброзу (рис.).

Також можна запропонувати варіант індивідуального урахування предикторів можливого швидкого фіброзоутворення печінки (табл. 6).



Розподіл протективних та профібротичних алелів залежно від стадії фіброзу печінки в пацієнтів із ХГВ

Таблиця 6

Індивідуальний варіант прогностичної шкали

Хворий Ч.					
CC SMAD 7 (rs4939827)	GG TNFα (rs1800620)	CC IL-4 (rs2243250)	TT SMAD 7 (rs4939827)	GA TNFα (rs1800620)	CT IL-4 (rs2243250)
CC норма		CC норма		GA гетерозигота	
Сума балів				+2	
Ризик швидкого прогресування фіброзоутворення				низький	
Хворий Ф.					
CC SMAD 7 (rs4939827)	GG TNFα (rs1800620)	CC IL-4 (rs2243250)	TT SMAD 7 (rs4939827)	GA TNFα (rs1800620)	CT IL-4 (rs2243250)
			TT мутація	GA гетерозигота	CT гетерозигота
Сума балів				-3	
Ризик швидкого прогресування фіброзоутворення				високий	

Такий варіант індивідуальної можливості швидкого прогресування фіброзоутворення легко скласти та оцінити, він простий у використанні та достатньо інформативний.

Для зіставлення динаміки фіброзу печінки у хворих на ХГВ в I та II групах були вибрані по 10 осіб зі ступенем фіброзу F1, F2 та F3, тобто кількість пацієнтів з певним ступенем фіброзу була однаковою (таблиці 7-8).

У хворих на ХГВ в Ia групі, які не отримували протифібротичну терапію, спостерігалась негативна динаміка ступеня фіброзу печінки. За

результатами Fibroscan, у 4 осіб ступінь фіброзу залишився на рівні F0- F1 та в 4 осіб залишився на рівні F2. У всіх цих пацієнтів був виявлений низький ризик швидкого прогресування фіброзу печінки за запропонованою прогностичною шкалою («-3»). У більшості хворих спостерігалась негативна динаміка фібротичних змін у печінці – у 6 осіб спостерігалась трансформація ступеня фіброзу F0-1 в F-2, у 6 осіб – F2 в F3. У цих пацієнтів ризик швидкого прогресування фіброзу печінки був оцінений як високий за запропонованою прогностичною шкалою.

Таблиця 7

Динаміка фібротичних змін печінки у хворих на ХГВ (статистична достовірність динаміки в різних групах, p)

Кількість хворих з різним ступенем фіброзу	Пацієнти, що не отримали протифібротичну терапію, n=30			Пацієнти, що отримували «Біциклол», n=30		
	після закінчення протівірусної терапії	через 6 місяців	p	після закінчення протівірусної терапії	через 6 місяців	p
F0-F1	10	4	>0,05	10	12	<0,02
F2	10	10	>0,5	10	9	>0,5
F3	10	16	>0,1	10	9	>0,05

Таблиця 8

Динаміка фібротичних змін печінки у хворих на ХГВ (статистична достовірність динаміки в часі)

Хворі з різним ступенем фіброзу	Порівняння пацієнтів, які не отримували протифібротичну терапію		Порівняння пацієнтів, які отримували «Біциклол» залежно від часу		Порівняння між пацієнтами, які отримували та не отримували «Біциклол»	
	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p
F0-F1	3,35	>0,05	0,05	>0,5	5,45	<0,02
F2	–	>0,5	0,05	>0,5	0,05	>0,5
F3	2,44	>0,1	0,29	>0,5	3,36	>0,05

У пацієнтів IIa групи, які отримували препарат «Біциклол» як протифібротичний засіб, не спостерігалось швидких негативних морфологічних змін у печінці, що також підтверджувалося результатами Fibroscan. У 10 пацієнтів з мінімальним ступенем фіброзу після 6 місяців терапії ступінь фіброзу залишився F0-F1, у 8 осіб із середнім ступенем фіброзу після 3 місяців терапії ступінь фіброзу залишився F2, у 9 осіб з високим ступенем фіброзу після 3 місяців терапії ступінь

фіброзу залишився F3. У 2 осіб ступінь фіброзу знизився з F2 до F1-F0, в 1 особи ступінь фіброзу знизився з F3 до F2. У переважної більшості хворих на ХГВ зі стабільним рівнем фіброзу печінки був виявлений низький ризик швидкого прогресування фіброзу печінки за запропонованою прогностичною шкалою.

У літературі існують певні протиріччя щодо впливу поліморфізмів генів цитокінів на розвиток фібротичних процесів у печінковій тканині.

Найбільш близьким до заявленого рішення є спосіб прогнозування темпу прогресування фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С [16], який заснований на опитуванні пацієнта, визначенні рівня глюкози натщесерце, вмісту ANA методом ІФА, поліморфізмів -511С>Т гена IL-1 β , -1082 G>A гена IL-10, I/D гена АПФ методом рестрикційного аналізу продуктів ПЛР та прогнозуванні темпу прогресування фіброзотворення (ТПФ) за допомогою формули моделі логістичної регресії.

Проведена нами робота враховує більшу кількість поліморфізмів генів цитокінів (*SMAD 7* (*rs4939827*), *TNFA* (*rs1800620*), *IL-10* (*rs1800896*), *IL-4* (*rs2243250*)). Виявлені відмінності у хворих на хронічний гепатит В та здорових обстежених свідчать про наявність взаємозв'язку певних генетичних факторів та розвитку хронічного запального процесу в печінці.

Слід підкреслити, що етіотропне лікування хворих на хронічний гепатит В не завжди приводить до стабілізації або зворотнього розвитку фібротичних змін у печінковій тканині, особливо терапія за безінтерфероною схемою. Тобто протівірусні засоби не чинять суттєвого впливу на повне відновлення біохімічних процесів та попередження подальшого прогресу морфологічних змін печінки.

Усе вищезазначене спонукає до продовження пошуку нових терапевтичних стратегій, які пов'язані із впливом на процеси фіброгенезу. Лікувальна тактика, яка спрямована на ключові патогенетичні ланки, нерідко має вирішальне значення в терапії гепатитів вірусної етіології, особливо розвитку патологічного процесу на пізніх етапах. Саме тому призначення гепатопротектора з протифібротичним ефектом є доцільним у комплексному лікуванні таких хворих.

Запропонована шкала за рахунок комплексної оцінки поліморфізму алелів генів цитокінів та стадії фіброзу печінки за шкалою METAVIR дає

можливість з високим ступенем достовірності здійснити індивідуальну оцінку ризику прогресування хронічного гепатиту та, можливо, скласти персоналізований план терапії пацієнта. Кодування вивчених поліморфізмів та подальший підрахунок можуть бути автоматизовані, що не потребує значних фінансових витрат.

Використання індивідуальних прогностичних критеріїв дозволяє одразу призначити протифібротичну терапію хворим з високим ризиком прогресування фіброзу або відтермінувати використання таких ліків у разі низького ризику.

ВИСНОВКИ

1. Виявлені суттєві відмінності алельного поліморфізму генів у хворих на хронічний гепатит В та здорових обстежених.

2. Установлений взаємозв'язок певних поліморфізмів генів цитокінів та ступеня фіброзу печінкової тканини, на підставі цих зв'язків розроблена прогностична шкала.

3. Запропонована неінвазивна шкала була використана для оцінки результатів протифібротичної терапії препаратом «Біциклол»; у групі пацієнтів, яким призначали цей лікарський засіб, встановлене зменшення ступеня фіброзу.

4. Використання індивідуальної прогностичної шкали на підставі генетичних маркерів дозволяє оцінити індивідуальний ризик швидкого прогресування фіброзу печінки і своєчасно обґрунтувати необхідність раннього призначення протифібротичної терапії, навіть у пацієнтів з низьким ступенем фіброзу (стадія F0-F1).

Фінансування. Робота виконана в рамках науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб «Дослідження патологічних та імунологічних порушень у хворих на хронічні гепатити різної етіології та при TORCH-інфекціях» (№ 0108U01104). Проект не мав спонсорської підтримки.

Конфлікт інтересів. Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

- [Public Health Center. Viral hepatitis 2020. Report]. [Internet]. Kyiv; 2021 [cited 2022 Dec 12]. 24 p. Ukrainian. Available from: https://phc.org.ua/sites/default/files/users/user90/A4_zvit_gepatit1021_online_zamina.pdf
- Pashkov IV, Fedorova SF. [Immediate results of treatment with nucleotide/nucleoside analogues in patients with chronic hepatitis B]. *Mizhnarodnyi medychnyi zhurnal*. 2019;2(25):76-80. Ukrainian.
- Lytovka SL, Batsiura HV, Berezenko VS, Bidovanets OIu, Holubovska OA, Dyba MB, et al. [Viral hepatitis B evidence-based clinical guidelines]. [Internet]. 2020. [cited 2022 Dec 12]. 159 p. Ukrainian. Available from: https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/01/2021_48_49_kn_vgv.pdf
- European association for study of the liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatology*. 2017;67:370-98. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.021>
- Herasun BA, Herasun OB. [Mutations of hepatitis B virus]. *Hepatolohiia*. 2019;2:45-52. Ukrainian.

6. Afify SM, Hassan G, Osman A, et al. Metastasis of Cancer Stem Cells Developed in the Microenvironment of Hepatocellular Carcinoma. *Bioengineering* (Basel). 2019;6(3):E73. doi: <https://doi.org/10.3390/bioengineering6030073>
7. Calès P, Boursier J, Oberti F, et al. A 176 single blood test adjusted for different liver fibrosis targets improves fibrosis staging and especially cirrhosis diagnosis. *Hepatol Commun*. 2018;2(4):455-66. doi: <https://doi.org/10.1002/hep4.1161>
8. Moroz LV, Bondaruk IYu. [Diagnostic value of non-invasive markers of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis C]. *Hepatolohiia*. 2019;2(44):28-34. Ukrainian.
9. Karsdal MA, et al. Collagen biology and non-invasive biomarkers of liver fibrosis. *Liver Int*. 2020;40:736-50. doi: <https://doi.org/10.1111/liv.14390>
10. Usychenko EN, Usychenko EM. [Model of prediction of the progress of liver fibrosis on the basis of biochemical and genetic criteria in patients with chronic hepatitis C]. *Georgian medical news*. 2020;11(308):63-7. Russian.
11. Capelle C, Spit M, Dijke P. Current perspectives on inhibitory SMAD7 in health and disease. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2020;55(6):691-715. doi: <https://doi.org/10.1080/10409238.2020.1828260>
12. [Unified clinical protocol of primary, secondary (specialized), tertiary (highly specialized) medical care for viral hepatitis B in adults. Order of the Ministry of Health of Ukraine 2016 Jun 21 No. 613]. Kyiv; 2016. 46 p. Ukrainian.
13. Lioznov DA, Geivandova NI, Morozov VG, et al. [Evaluation of the effectiveness of the original hepatoprotective drug Bicyclol in patients with chronic viral hepatitis C]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*. 2014;6(104):14-7. Russian.
14. [New opportunities in the treatment of chronic hepatitis. Bicyclol – 15 years of effective therapy!] [Internet]. [cited 2022 Dec 12]. Ukrainian. Available from: http://bicyclol.com/wp-content/uploads/reprint_Bicyclol.indd_.pdf
15. Hurianov VH, Liakh YuYe, Parii VD, Korotkyi OV, Chalyi OV, Chalyi KO, et al. [Handbook of biostatistics. Analysis of medical research results in the EZR package (R–statistics)]. Kyiv: Vistka; 2018. 208 p. Ukrainian.
16. Moroz LV, Yatsyk IV, Ocheredko OM, Livshyts LA, Pampukha VM, inventors. [The method of predicting the rate of progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C]. Patent Ukrainy No. u201503954. 2015 Dec 10. Ukrainian.

Стаття надійшла до редакції
18.01.2023

