



УДК 616.36-002.12-085.246.9:575.174.015.3

В. В. Годован, К. В. Остапчук

## Асоціація поліморфізму CYP2E1\*6 гена CYP2E1 із ризиком розвитку та тяжкістю перебігу хронічного гепатиту С Одеський національний медичний університет

**Ключові слова:** гепатит С, генетична схильність до хвороби, поліморфізм генетичний.

Ефективність лікування хронічного гепатиту С залежить від генетичних особливостей пацієнтів. З метою аналізу асоціації поліморфізму CYP2E1\*6 із ризиком розвитку та тяжкістю перебігу хронічного гепатиту С у 77 хворих і 64 здорових донорів визначили частоту поліморфізму CYP2E1\*6 за допомогою молекулярно-генетичних методів. Здійснили ретроспективний аналіз історій хвороб. Не встановили асоціацію поліморфізму CYP2E1\*6 із ризиком розвитку хронічного гепатиту С. Хворі з генотипом CD частіше мали нормальний рівень аланін-амінотрансферази, ніж хворі з генотипом DD (55,6% проти 27,1%,  $p=0,026$ ). У хворих із генотипом DD частіше розвивався фіброз печінки різної стадії, ніж із генотипом CD (на 34,5%,  $p=0,009$ , OR 4,24, 95% CI 1,37–12,93). Це свідчить, що генотип DD гена CYP2E1 асоційований з тяжчим перебігом хронічного гепатиту С.

### Асоциация полиморфизма CYP2E1\*6 гена CYP2E1 с риском развития и тяжестью течения хронического гепатита С

В. В. Годован, Е. В. Остапчук

Эффективность лечения хронического гепатита С зависит от генетических особенностей пациентов. С целью анализа ассоциации полиморфизма CYP2E1\*6 с риском развития и тяжестью течения хронического гепатита С у 77 больных и 64 здоровых доноров определена частота полиморфизма CYP2E1\*6 с помощью молекулярно-генетических методов. Проведен ретроспективный анализ историй болезней. Не установили ассоциацию полиморфизма CYP2E1\*6 с риском развития хронического гепатита С. Больные с генотипом CD чаще имели нормальный уровень аланинаминотрансферазы, чем больные с генотипом DD (55,6% против 27,1%,  $p=0,026$ ). У больных с генотипом DD чаще развивался фиброз печени различной стадии, чем с генотипом CD (на 34,5%,  $p=0,009$ , OR 4,24, 95% CI 1,37–12,93). Это свидетельствует, что генотип DD гена CYP2E1 ассоциирован с более тяжелым течением хронического гепатита С.

**Ключевые слова:** гепатит С, хроническая предрасположенность к болезни, полиморфизм генетический.

*Запорожский медицинский журнал. – 2014. – №3 (84). – С. 67–70*

### Association of CYP2E1\*6 polymorphism of gene CYP2E1 with the risk and severity of chronic hepatitis C

V. V. Godovan, K. V. Ostapchuk

**Aim.** The effectiveness of treatment of chronic hepatitis C (CHC) depends on the genetic characteristics of the patients. The aim was to analyze the association of CYP2E1\*6 polymorphism with the risk of development and severity of CHC.

**Methods and results.** We determined the frequency of CYP2E1\*6 polymorphism in 77 patients with CHC and 64 healthy donors using molecular genetic methods. Case histories were retrospectively analyzed. We did not find association between CYP2E1\*6 polymorphism and the risk of CHC. The majority of patients with genotype CD had more frequently normal alanineaminotransferase levels than the patients with genotype DD (55,6% vs 27,1%,  $p=0,026$ ). Patients with genotype DD more often had different stages of liver fibrosis than the patients with genotype CD (34,5% greater,  $p=0,009$ , OR 4,24, 95% CI 1,37–12,93).

**Conclusion.** This indicates that the genotype DD of the gene CYP2E1 was associated with more severe course of CHC.

**Key words:** Hepatitis C virus, Disease Susceptibility, Genetic Polymorphism.

*Zaporozhye medical journal 2014; №3 (84): 67–70*

Хронічний гепатит С (ХГС) є однією з найважливіших проблем охорони здоров'я. Це пов'язано з великим поширенням захворювання, вираженим поліморфізмом клінічних проявів, високою частотою формування ускладнень [1]. Незважаючи на успіхи у вивченні патогенезу ХГС, діагностики та використання сучасних методів лікування, багато питань і нині залишаються не вирішеними. Ефективність стандартної терапії комбінацією пегінтерферону та рибавірину становить від 40 до 80% [2]. Цей показник значно залежить від особливостей збудника і генетичних особливостей інфікованої людини [2].

В умовах неухильного зростання частоти ХГС особливо важливою стає проблема підвищення результативності лікування. Відомо, що високе вірусне навантаження, «складні» генотипи вірусу (1b та 4), високий рівень аланінаміно-

трансферази (АлАТ) та розвиток фіброзу печінки значно ускладнюють терапію та погіршують прогноз ефективності лікування [1]. Також є повідомлення про різну відповідь на лікування за схемою пегінтерферон альфа з рибавірином у представників різних етнічних груп [3].

Можна припустити, що можливість прогнозування схильності до розвитку захворювання, тяжкості перебігу та розвитку ускладнень матиме велике значення під час добору індивідуальної та адекватнішої фармакотерапії ХГС й у покращенні якості життя хворих.

Сьогодні велике значення приділяється розвитку фармакогенетики та пошуку генетичних предикторів безпечності та ефективності лікування багатьох захворювань, зокрема ХГС. Наприклад, встановлено асоціацію певних поліморфізмів інтерлейкінів (*IL28B*) із розвитком стійкої вірусологічної



відповіді на противірусну терапію [4]. Не виключено також вплив поліморфізмів генів, що кодують ферменти I та II фаз метаболізму ксенобіотиків, на тяжкість перебігу та ефективність лікування. Один із ферментів I фази метаболізму ксенобіотиків – CYP2E1. Він бере участь у метаболізмі багатьох лікарських засобів, гормонів, токсинів і ксенобіотиків [5]. CYP2E1 переважно синтезується в печінці. У реакціях за наявності CYP2E1 завжди утворюються активні форми кисню, котрі можуть викликати перекисне окиснення ліпідів, пошкоджувати ДНК, стимулювати канцерогенез [6].

Один із генетичних поліморфізмів гена CYP2E1, який впливає на активність ферменту, визначено у 6-му інтроні гена (CYP2E1\*6). Це заміна T на A у позиції 7632, що призводить до зникнення сайту рестрикції для рестриктази DraI [7]. Аallel дикого типу позначають літерою D, мутантний алель – C. У популяції можливі 3 генотипи – DD, DC, CC. Мутантний алель асоційований із підвищеною транскрипцією гена CYP2E1 [5].

Дослідження, що здійснене у північно-східній Індії, показало асоціацію мутантного алелю C із ризиком розвитку захворювань печінки різної етіології (вірусної та токсичної) [8].

У спеціалізованій літературі відсутні дані щодо впливу поліморфізму гена CYP2E1 на тяжкість перебігу ХГС в Одеському регіоні. Отже, актуальним є вивчення асоціації поліморфізму CYP2E1\*6 із ризиком розвитку та тяжкістю перебігу ХГС у мешканців Одеського регіону для підбору найефективнішої фармакотерапії і поліпшення якості життя пацієнтів.

#### Мета роботи

Початковий аналіз асоціації поліморфізму CYP2E1\*6 із ризиком розвитку та тяжкістю перебігу ХГС.

#### Пацієнти і методи дослідження

Дослідження здійснили згідно з вимогами комісії з питань біоетики Одеського національного медичного університету (протокол №23 від 22.06.2012 р.). Обстежили 77 хворих на ХГС (55 чоловіків і 22 жінки віком від 22 до 63 років (середній вік – 38,9±14,5)), які перебували на лікуванні в Одеській клінічній інфекційній лікарні з 2009 по 2013 р. Усі пацієнти є жителями Одеського регіону. Виконали ретроспективний аналіз особливостей перебігу захворювання на підставі історій хвороб.

Контрольну групу сформували 64 здорових донори (20 жінок і 44 чоловіки, середній вік – 30 років), жителі Одеського регіону.

Геномну ДНК виділяли з венозної крові осіб, яких обстежували. Поліморфізм CYP2E1\*6 визначали за методикою S. Kato et al. (1992) [9]. Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі «Терцик» фірми «ДНК технологія» (Росія). У реакції використовували набір реактивів фірми «Литех» (Росія, Москва). Гомозигот за диким алелем позначали DD, гомозигот за мутантним алелем – CC, гетерозигот – CD.

Асоціацію поліморфізму CYP2E1\*6 із ризиком розвитку ХГС оцінювали порівнюючи частоту генотипів у хворих на ХГС та в контрольній групі.

Тяжкість перебігу у хворих із різними генотипами оцінювали до початку лікування за рівнем вірусного навантаження (вірусне навантаження <800,000 МО/мл вважали низьким, >800,000 МО/мл – високим), рівнями біохімічних показників сироватки крові – АлАТ, аспартатамінотрансферази (АсАТ) та загального білірубіну. Також аналізували вплив поліморфізму CYP2E1\*6 на розвиток фіброзу печінки у хворих до початку лікування за даними стандартного тесту FibroMax.

#### Результати та їх обговорення

Частоти генотипів за поліморфізмом CYP2E1\*6 у хворих на ХГС та в контрольній групі наведено у таблиці 1. Частоти як генотипів, так і алелей у двох групах суттєво не відрізнялись (p=0,832). Частота алелю C у хворих на ХГС становила 0,12, алелю D – 0,88; у контрольній групі – відповідно 0,11 і 0,89 (p=0,843).

Таблиця 1

#### Частота генотипів гена CYP2E1 (поліморфізм CYP2E1\*6) у хворих на ХГС та в контрольній групі

Генотип	Хворі на ХГС (n=77)	Здорові донори (контроль) (n=64)	p (у порівнянні хворих на ХГС і донорів)
CD	18 (23,4%)	14 (21,9%)	0,832
DD	59 (76,6%)	50 (78,1%)	

Поділ генотипів DD і CD у контрольній групі відповідав закону генетичної рівноваги Гарді-Вайнберга [10]. Згідно з формулою Гарді-Вайнберга ( $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ , де p – частота алелю C, q – частота алелю D), частоти генотипів у рівноважній популяції такі: CC – 1,2%, CD – 19,6%, DD – 79,2%. Поділ генотипів, який отримали у контрольній групі та у хворих на ХГС, суттєво не відрізнявся від теоретичних розрахунків – в обох групах превалював генотип DD (табл. 1).

Отже, відсутня асоціація ризику розвитку ХГС із поліморфізмом CYP2E1\*6.

Під час оцінювання тяжкості перебігу та прогнозування ефективності лікування велике значення має рівень вірусного навантаження, тому проаналізували цей показник. Серед хворих, яких обстежили, у 15 (45,5%) встановили низьке вірусне навантаження, у 18 (54,5%) – високе. Не виявили суттєвих відмінностей у рівні вірусного навантаження у хворих із генотипами CD і DD. Так, серед хворих із генотипом CD високе вірусне навантаження мали 5 пацієнтів (55,6%), а серед осіб із генотипом DD – 13 (54,2%, p=0,745).

Одним із показників цитолізу гепатоцитів і ступеня ураження печінки є рівень АлАТ у сироватці крові. Середній рівень цього показника у 77 обстежених із ХГС становив  $1,51 \pm 1,25$  ммоль/л/год. Серед них 26 пацієнтів (33,77 %) мали рівень АлАТ сироватки крові у межах здорових донорів (від 0,10 до 0,68 ммоль/л/год).

У хворих із генотипом CD середній рівень АлАТ сироватки крові був дещо нижчим у порівнянні з особами з генотипом DD (відповідно  $1,22 \pm 1,20$  та  $1,59 \pm 1,24$  ммоль/л/год, p=0,262). Статистично недостовірною різницею цього показника в досліджуваних групах може бути зумовлена його значною варіабельністю у різних осіб.



Серед 18 хворих із генотипом CD рівень АлАТ сироватки крові у межах здорових осіб мали 10 (55,6%) пацієнтів (рис. 1). Серед 59 хворих із генотипом DD нормальний рівень АлАТ сироватки крові визначили у 16 (27,1%). Отже, серед пацієнтів із генотипом DD до лікування достовірно значно менша частина осіб мали показники АлАТ сироватки крові у межах значень здорових донорів, ніж пацієнти з генотипом CD (на 28,5%,  $p=0,026$ ).

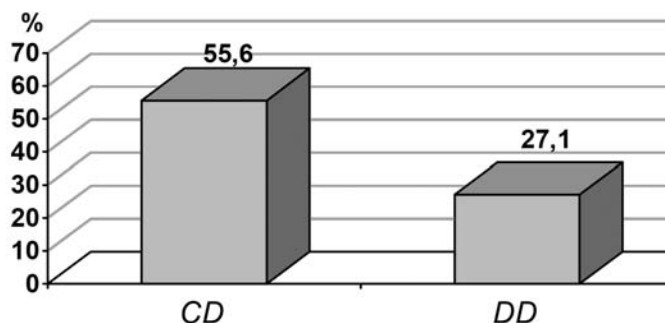


Рис. 1. Частота хворих із генотипами CD і DD із рівнем АлАТ сироватки крові у межах здорових донорів (достовірність між групами  $p=0,026$ ).

Аналіз активності іншого ферменту цитолізу – АсАТ і вмісту загального білірубину сироватки крові у хворих на ХГС встановив тенденцію до їх збільшення у пацієнтів із генотипом DD у порівнянні з особами з генотипом CD, але різниця була статистично недостовірною ( $p>0,05$ ). У хворих із генотипом DD середній рівень АсАТ сироватки крові становив  $0,94\pm 0,98$ , а з генотипом CD –  $0,68\pm 0,51$  ммоль/л×год ( $p=0,324$ ). Рівень загального білірубину сироватки крові у хворих із генотипом DD дорівнював  $19,35\pm 9,8$  проти  $16,24\pm 14,31$  мкмоль/л у пацієнтів із генотипом CD ( $p=0,453$ ).

Одним із важливих показників тяжкості перебігу, критеріїв підбору терапії та прогнозу її ефективності є стадія розвитку фіброзу печінки до початку лікування. Цей показник аналізували за даними стандартного тесту «FibroMax». У 31 (40,2%) пацієнта із ХГС відсутній фіброз печінки ( $F_0$  за шкалою Metavir), у 38 (49,4%) хворих визначали фіброз різної стадії ( $F_1$ - $F_3$ ), у 8 (10,4%) – цироз ( $F_4$ ).

Результати аналізу асоціації поліморфізму CYP2E1\*6 із розвитком фіброзу печінки наведено на рис. 2. Серед 18 хворих із генотипом CD фіброз різної стадії ( $F_1$ - $F_3$ ) мали 6 (33,3%) пацієнтів. У 12 (66,7%) фіброз відсутній ( $F_0$ ). У хворих цієї групи цироз печінки ( $F_4$ ) не зафіксували.

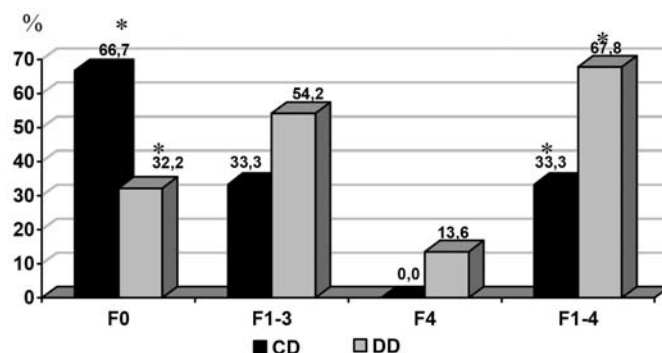


Рис. 2. Частота різних стадій розвитку фіброзу печінки у хворих на ХГС із генотипами CD та DD.

Примітка: \* – достовірність між пацієнтами з генотипами CD та DD  $p=0,009$ .

Серед 59 осіб із генотипом DD у 32 (54,2%) відзначили фіброз печінки від  $F_1$  до  $F_3$  стадії, у 8 (13,6%) – цироз печінки ( $F_4$ ). Загалом фіброз різної стадії ( $F_1$ - $F_4$ ) мали 40 пацієнтів (67,8%). У 19 (32,2%) осіб цієї групи фіброз не діагностували.

Отже, достовірно більша частина хворих на ХГС із генотипом DD мали фіброз різної стадії ( $F_1$ - $F_4$ ), ніж із генотипом CD (на 34,5%,  $p=0,009$ , OR 4,24, 95% CI 1,37–12,93).

Ці дані свідчать про асоціацію генотипу DD за поліморфізмом CYP2E1\*6 із тяжчим перебігом ХГС.

#### Висновки

У результаті дослідження не встановили асоціацію між поліморфізмом CYP2E1\*6 і ризиком розвитку ХГС в осіб, які проживають в Одеському регіоні.

Серед хворих на ХГС із генотипом DD за поліморфізмом CYP2E1\*6 достовірно більша частина пацієнтів мали підвищену активність АлАТ сироватки крові, ніж із генотипом CD (на 28,5%). При цьому достовірних відмінностей рівнів АсАТ і загального білірубину сироватки крові у групах не зареєстрували.

У пацієнтів із ХГС із генотипом DD на 34,5% частіше відзначали фіброзно-деструктивні зміни у тканині печінки, ніж в осіб із генотипом CD.

У результаті дослідження можна констатувати, що генотип DD гена CYP2E1 (поліморфізм CYP2E1\*6) асоційований із тяжчим перебігом хронічного гепатиту С.

**Перспективи наступних досліджень.** Надалі вивчення потребують патогенетичні механізми цієї асоціації та вплив цього поліморфізму на ефективність лікування ХГС.

#### Список літератури

1. Блюм Х.Е. Гепатит С: современное состояние проблемы / Х.Е. Блюм // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – Т. 15. – № 1. – С. 20–25.
2. Zhu Y. Antiviral treatment of hepatitis C virus infection and factors affecting efficacy / Y. Zhu, S. Chen // World J Gastroenterol. – 2013. – Vol. 21. – № 19(47). – P. 8963–8973.
3. Efficacy and Tolerability of Peginterferon Alpha Plus Ribavirin in the Routine Daily Treatment of Chronic Hepatitis C Patients in Korea / [S.H. Park, C.K. Park, J.W. Lee et al.] // A Multi-Center, Retrospective Observational Study Gut and Liver. – 2012. – Vol. 6. – № 1. – P. 98–106.
4. Interleukin 28B genetic polymorphisms and viral factors help identify HCV genotype-1 patients who benefit from 24-week pegylated interferon plus ribavirin therapy / [C.H. Liu, C.C. Liang, C.J. Liu et al.] // Antivir Ther. – 2012. – Vol. 17. – № 3. – P. 477–484.

5. Frequencies of genotypes and alleles of the functional SNPs in CYP2C19 and CYP2E1 in mainland Chinese Kazakh, Uygur and Han populations / [S.M. Wang, A.P. Zhu, D. Li et al.] // J. Hum. Genet. – 2009. – Vol. 54. – P. 372–375.

6. Nakajima T. Polymorphism of drug-metabolizing enzymes in relation to individual susceptibility to industrial chemicals / T. Nakajima, T. Aoyama // Ind. Health. – 2000. – Vol. 38. – P. 143–152.

7. Genetic polymorphism of cytochrome P4502E1 in a Swedish population. Relationship to incidence of lung cancer / I. Persson, I. Johansson, H. Bergling // FEBS Lett. – 1993. – Vol. 319. – P. 207–211.



8. Role of CYP2E1 gene polymorphisms association with hepatitis risk in Northeast India / [M. Deka, M. Bose, B. Baruah et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 14. – № 16(38). – P. 4800–4808.
  9. Cytochrome P450IIE1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk / [S. Kato, P.G. Shields, N.E. Caporaso et al.] // *Cancer Res.* – 1992. – Vol. 1. – № 52(23). – P. 6712–6715.
  10. Фогель Ф. Генетика человека : в 3 т. / Ф. Фогель, А. Мотульски. – М. : Мир, 1990. – Т. 2. – 378 с.
- References**
1. Blyum, H. E. (2005) Hepatit C: sovremennoe sostoyanie problemy [Hepatitis C: Present state of research]. *Rossiiskij zhurnal gastroe'nterologii, gepatologii, koloproktologii*; 15(1), 20–25. [in Russian].
  2. Zhu, Y., & Chen, S. (2013) Antiviral treatment of hepatitis C virus infection and factors affecting efficacy. *World J Gastroenterol*, 21(47), 8963–8973. doi: 10.3748/wjg.v19.i47.8963.
  3. Park, S. H., Yang, J. M., Rim, K. S., Hwang, S. G., Kim, J. H., Kim, Y. S., et al. (2012). Efficacy and Tolerability of Peginterferon Alpha Plus Ribavirin in the Routine Daily Treatment of Chronic Hepatitis C Patients in Korea: A Multi-Center, Retrospective Observational Study. *Gut and Liver*, 6(1), 98.
  4. Liu, C. H., Liang, C. C., Liu, C. J., Tseng, T. C., Lin, C. L., Yang, S. S., et al. (2012) Interleukin 28B genetic polymorphisms and viral factors help identify HCV genotype-1 patients who benefit from 24-week pegylated interferon plus ribavirin therapy. *Antivir Ther*; 17(3), 477–484.
  5. Wang, S., Zhu, A., Li, D., Wang, Z., Zhang, P., & Zhang, G. (2009). Frequencies of genotypes and alleles of the functional SNPs in CYP2C19 and CYP2E1 in mainland Chinese Kazakh, Uygur and Han populations. *Journal of Human Genetics*, 54(6), 372–375. doi:10.1038/jhg.2009.41.
  6. Nakajima, T., & Aoyama, T. (2000). Polymorphism of Drug-Metabolizing Enzymes in Relation to Individual Susceptibility to Industrial Chemicals. *Industrial Health*, 38(2), 143–152.
  7. Persson, I., Johansson, I., & Bergling, H. (1993) Genetic polymorphism of cytochrome P4502E1 in a Swedish population. Relationship to incidence of lung cancer. *FEBS Lett*, 319, 207–211. doi:10.1016/0014-5793(93)80547-8.
  8. Deka, M., Bose, M., Baruah, B., Deka, P. et al. (2010) Role of CYP2E1 gene polymorphisms association with hepatitis risk in Northeast India. *World J. Gastroenterol*, 14(38), 4800–4808.
  9. Kato, S., Shields, P. G., Caporaso, N. E., Hoover, R. N., Trump, B. F., Sugimura, H., et al. (1992) Cytochrome P450IIE1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk. *Cancer Res*, 1(23), 6712–6715.
  10. Fogel', F., & Motul'ski, A. (1990) *Genetika cheloveka* [Human Genetics]. Moscow: Mir. [in Russian].

**Відомості про авторів:**

Годован В.В., д. мед. н., професор каф. загальної та клінічної фармакології, Одеський національний медичний університет.  
Остапчук К.В., аспірант каф. загальної та клінічної фармакології, Одеський національний медичний університет,  
E-mail: kkarty@inbox.ru.

Поступила в редакцію 22.04.2014 г.