

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ОСТАПЧУК Катерина Володимирівна

УДК 616.36-002.12-085.246.9:575.174.015.3

**ОПТИМІЗАЦІЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ТА ЯКОСТІ ЖИТТЯ ХВОРИХ НА
ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ С НА ПІДСТАВІ ОЦІНКИ
ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ДЕТОКСИКАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ**

14.01.28 — клінічна фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Одеса — 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеському національному медичному університеті
МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
ГОДОВАН Владлена Володимирівна,
Одеський національний медичний
університет МОЗ України, м. Одеса, професор кафедри
загальної та клінічної фармакології

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
САВЧЕНКОВА Лариса Василівна,
Державний заклад «Луганський державний медичний
університет» МОЗ України,
м. Рубіжне, завідувач кафедри клінічної фармакології
та фармакотерапії

доктор медичних наук, професор
ЯКОВЛЕВА Ольга Олександрівна,
Вінницький національний медичний університет
МОЗ України, м. Вінниця, завідувач кафедри клінічної
фармації і клінічної фармакології

Захист відбудеться «22» квітня 2015 р. о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради
Д 41.600.01 Одеського національного медичного університету (65082, м. Одеса, пров.
Валіховський, 2).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського національного медичного
університету (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 3).

Автореферат розісланий «20» березня 2015 р.

В.о. вченого секретаря
спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01,
д. мед. н., професор

К. Л. Сервецький

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Хронічний гепатит С (ХГС) – одна з найактуальніших проблем сучасної системи охорони здоров'я. Це пов'язано з неухильно зростаючою розповсюдженістю захворювання, відсутністю специфічної профілактики, поліморфізмом клінічних проявів, високою частотою формування таких серйозних ускладнень як цироз печінки, гепатоцелюлярна карцинома, що несприятливо впливає на якість і тривалість життя пацієнтів [Lavanchy D., 2011; Mohd Hanafiah K. et al., 2013; Razavi H. et al., 2014]. Не зважаючи на успіхи у вивченні патогенезу, діагностиці та використанні нових методів лікування ХГС, багато питань залишаються невирішеними.

За рекомендаціями Європейської асоціації з вивчення хвороб печінки (EASL, 2014) та існуючими протоколами лікування ХГС (наказ МОЗ України від 02.04.2014 р. № 233) стандартом фармакотерапії є поєднання пегільованого інтерферону з аналогом нуклеозидів (рибавірином). Ефективність цієї схеми складає 40-80 % [Ying-Ying Z. et al., 2012; Garcia-Samaniego J. et al., 2013; Pawlotsky J. M. et al., 2014], проте її використання ускладнюється розвитком серйозних небажаних реакцій, наявністю протипоказань, високою вартістю препаратів [Lee S. et al., 2010; Casoub P. et al., 2012; Mehrzmay A. et al., 2013; Flori N. et al., 2013]. При неефективності стандартної терапії або неможливості її застосування використовують альтернативні методи лікування – гепатопротектори, індуктори інтерферону та ін. За даними літератури, 33 % хворих на ХГС проходять лікування препаратами розторопші плямистої [Ashfaq U. A. et al., 2011; Adeyemo O. et al., 2013]. Іншим альтернативним методом лікування ХГС є використання індукторів інтерферону, наприклад, тилорону (аміксину) з аналогами нуклеозидів [Емельянов Д. Н., 2004; Мальный В. П. и соавт., 2013; Сервецький К. Л. та співавт., 2014]. Його перевагою є тривале підтримання терапевтичної концентрації інтерферонів у сироватці крові. Ефективність альтернативних методів, також як і стандартної схеми терапії, істотно варіює [Чабан Т. В., 2007; Мальный В. П. и соавт., 2013].

При ХГС варіабельність клінічної картини і результати лікування залежать від багатьох чинників. Насамперед, це генетичні особливості самого вірусу. Відомо, що у хворих, інфікованих найпоширенішим серед європейців 1b генотипом вірусу, спостерігається більш тяжкий перебіг захворювання і гірші результати лікування, ніж при зараженні вірусами з генотипами 2 і 3a [Lee S. et al., 2010; Ashfaq U. A. et al., 2011; Lamars M. N. et al., 2013]. З іншого боку, на тяжкість перебігу та ефективність лікування ХГС впливають індивідуальні особливості пацієнта (генетичні, статеві, вікові, супутня патологія тощо) [Cheng M. L. et al., 2012; Imran M. et al., 2013; Rivero-Juarez A. et al., 2014].

Вищезазначене обумовлює необхідність пошуку предикторів перебігу та ефективності фармакотерапії ХГС. Виявлення генів-кандидатів, які впливають на інфекційний процес, розуміння фармакогенетичної детермінованості ефективності/безпеки лікарських засобів дозволяють персоналізувати вибір препаратів, режиму їх дозування або взагалі змінити тактику лікування пацієнтів [Kelada S. D. et al., 2003; Imran M. et al., 2013]. Крім того, застосування фармакогенетичних тестів при призначенні фармакотерапії сприяє значному зниженню витрат на лікування. В цьому плані привертають увагу поліморфізми генів, що кодують ферменти I та II фази метаболізму ксенобіотиків [Головенко Н. Я., 2004; Hayes J. D. et al., 2005; Liu K. et al., 2013]. У реакціях за участю основного ферменту I фази біотрансформації CYP2E1 утворюються активні форми кисню, які можуть прискорювати перекисне окиснення ліпідів, пошкоджувати ДНК, стимулювати канцерогенез [Nagata K. et al., 2007; Tomalik-Scharte D. et al., 2008; Zeng T. et al., 2013]. Важливу роль у захисті клітин печінки від окисного стресу, який є однією з основних патогенетичних ланок в розвитку ХГС, відіграють і ферменти II фази – глутатіон-S-трансферази (GSTs) [Flanagan J. U. et al., 2011; Rajaud J. et al., 2012]. Роль поліморфізмів найбільш вивчених генів *GSTT1*, *GSTM1* і *GSTP1* встановлена при різних захворюваннях печінки [Chen Y. L. et al., 2010; Kao C. C. et al., 2010]. Проте ці дані варіюють у різних етнічних популяціях [Wang B. et al., 2010; Wacling M. O. et al., 2012; Liu K. et al., 2013]. В літературі немає і відомостей про їх зв'язок з клінічною картиною ХГС та результативністю його лікування. Тому оптимізації фармакотерапії,

підвищенню безпечності та якості життя хворих на ХГС через встановлення впливу поліморфізмів вищевказаних генів на ризик розвитку, тяжкість перебігу та ефективність лікування цієї патології і присвячена дана робота.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом держбюджетної комплексної науково-дослідної роботи МОЗ України, яка проводиться кафедрою загальної і клінічної фармакології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) «Розробка критеріїв ефективності і безпечності фармакотерапії хворих на туберкульоз і гепатити різної етіології на підставі фармакогенетичних досліджень» (№ держреєстрації 0113U001634). Дисертант є співвиконавцем зазначеної теми.

Мета і завдання дослідження. *Метою* даного дослідження є підвищення ефективності, безпечності лікування та якості життя хворих на хронічний гепатит С на підставі визначення асоціації поліморфізмів генів *CYP2E1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* і особливостей перебігу хвороби та її фармакотерапії.

Для досягнення зазначеної мети розв'язувалися такі *завдання*:

1. Проаналізувати асоціацію поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків *CYP2E1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* з ризиком розвитку ХГС у мешканців Одеського регіону.
2. Вивчити тяжкість перебігу ХГС залежно від поліморфізмів генів *GSTs* та *CYP2E1*.
3. Проаналізувати ефективність стандартної схеми лікування ХГС пегінтерфероном і рибавірином залежно від поліморфізмів генів *CYP2E1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*.
4. Оцінити ефективність пегінтерферонотерапії хворих на ХГС залежно від виду інтерферону.
5. Вивчити асоціацію поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків з ефективністю альтернативних методів лікування ХГС аміксином + рибавірином або легалоном.
6. Обґрунтувати доцільність генетичного тестування хворих на ХГС за поліморфними варіантами генів *CYP2E1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1* для підбору більш ефективних і безпечних схем лікування та покращення якості життя.

Об'єкт дослідження: підвищення ефективності та безпечності фармакотерапії хворих на хронічний гепатит С.

Предмет дослідження: оптимізація лікування і покращення якості життя хворих на хронічний гепатит С на підставі фармакогенетичних досліджень.

Методи дослідження: молекулярно-генетичні, клінічні, клініко-лабораторні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. У дослідженні вперше встановлено частоту поліморфізму *CYP2E1* у 6-му інтроні (*CYP2E1*6*) у здорових дорослих мешканців Одеського регіону. Вперше виявлено асоціацію поліморфізмів генів ферментів I та II фаз метаболізму ксенобіотиків з ризиком розвитку, тяжкістю перебігу та ефективністю лікування ХГС. Вперше встановлено достовірну асоціацію генотипу *GSTM1+* хворих з ризиком розвитку хронічного гепатиту С. Вперше виявлено, що генотип *GSTM1null* та генотип *DD* гена *CYP2E1* пацієнтів пов'язані з більш тяжким перебігом ХГС та підвищеним ризиком розвитку фіброзу печінки різної стадії. Вперше встановлено, що фармакотерапія за схемою пегінтерферон + рибавірин виявилась достовірно більш ефективною при наявності у хворих на ХГС *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1*6*. Показано, що виявлення в генотипі мутантного алеля *G* гена *GSTP1* (генотипи *AG* і *GG*) або мутантного алеля *C* гена *CYP2E1* (генотип *CD*) є прогностично сприятливими факторами розвитку швидкої і ранньої вірусологічної, ранньої біохімічної відповіді при пегінтерферонотерапії ХГС та більш високих показників якості життя. Вперше наведено, що поєднання генотипу *AA* гена *GSTP1* і генотипу *DD* гена *CYP2E1*, є, навпаки, предиктором уповільненої вірусологічної відповіді або взагалі її відсутності на лікування ХГС. Також за вірусологічною відповіддю встановлена більша ефективність застосування пегінтерферону- α -2а, ніж α -2b. Вперше встановлено тенденцію до кращої біохімічної відповіді та підвищення якості життя серед пацієнтів, яким призначався легалон і що мали генотипи *GSTT+*, *GSTM+*, генотип *AA* гена *GSTP1* і *CD* гена *CYP2E1*.

Практичне значення одержаних результатів. На підставі проведених досліджень обґрунтовано доцільність генетичного тестування хворих на ХГС з метою прогнозування ризику

розвитку, тяжкості перебігу захворювання, ефективності лікування залежно від поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків. Це дозволить індивідуалізувати та оптимізувати фармакотерапію у конкретного хворого на хронічний гепатит С, а також прогнозувати відстрочені результати лікування та якість життя пацієнтів. За результатами дослідження отримано один інформаційний лист МОЗ України, подано одно нововведення у Реєстр галузевих нововведень 2014 р.

Результати дослідження впроваджено у навчальний процес кафедр клінічної фармакології та фармакотерапії ЛЗ «Луганський державний медичний університет»; експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВНМЗ України «Українська медична стоматологічна академія»; фармакології, клінічної фармакології та фармакоeкономіки Дніпропетровської державної медичної академії, клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; клінічної фармакології, фармації, фармакотерапії і косметології Запорізького державного медичного університету; фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; у лікувально-діагностичний процес міської клінічної інфекційної лікарні м. Одеси.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук за темою роботи, сформульовано мету і завдання дослідження, здійснено планування, виконано молекулярно-генетичне дослідження; проведено статистичну обробку отриманих даних, які оформлено у вигляді таблиць та рисунків; проаналізовано та узагальнено результати досліджень; опубліковано та апробовано основні дані, а також написано та оформлено дисертацію та автореферат.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були оприлюднені на 7-й міжнародній науково-практичній конференції «Розвиток наукових досліджень 2011» (Полтава, 2011); XVI міжнародній науково-практичній конференції «Спортивна медицина, лікувальна фізкультура та валеологія - 2012» (Одеса, 2012); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини», присвяченої 100-річчю від дня народження К. Д. Двужильної (Одеса, 2013); 9-й міжнародній науково-практичній конференції «Наукові дослідження – теорія та експеримент 2013» (Полтава, 2013); XII з'їзді Всеукраїнського лікарського товариства (Київ, 2013); міжнародній науково-практичній конференції «Вітчизняна та світова медицина» (Дніпропетровськ, 2013); 3-й науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті проф. О. П. Вікторова «Безпечність та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування» (Київ, 2013); науково-практичній конференції «Актуальні питання безпечного застосування ліків» (Тернопіль, 2013); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання біології та фармакології» (Харків, 2013); науково-практичній конференції, присвяченій 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на Півдні України «Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України» (Одеса, 2013); міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених, присвяченій 115-річчю з дня народження М. О. Ясиновського «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» (Одеса, 2014); науково-практичній конференції «XI читання ім. В.В. Підвисоцького» (Одеса, 2014); XXXI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2014); 10-й міжнародній науково практичній конференції «Наукові дослідження – теорія та експеримент» (Полтава, 2014).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 26 наукових праць, з яких 6 статей в профільних наукових виданнях (4 – у журналах, рекомендованих МОН України, в тому числі 2 – у індекситованих журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз, 2 – у зарубіжних журналах), 1 інформаційний лист МОЗ України, 19 тез доповідей у міжнародних та вітчизняних виданнях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 191 сторінках комп'ютерного тексту, яка складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів

дослідження, 3-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків і списку використаної літератури. Робота ілюстрована 57 таблицями і 8 рисунками. Бібліографічний покажчик включає 287 джерела, з них 32– кирилицею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Для дослідження відібрано 77 хворих на ХГС (71,4 % чоловіків і 28,6 % жінок середнім віком $38,9 \pm 14,5$ р), які проходили амбулаторне лікування в Одеській міській клінічній інфекційній лікарні. Рівнозначну за статтю і віком склала контрольна група практично здорових донорів ($n=64$), зразки венозної крові і дані біохімічного дослідження сироватки крові яких отримано в Одеській обласній станції переливання крові. Основними критеріями залучення у дослідження в обох групах були мешканці Одеського регіону, у групі хворих – наявність ХГС, відсутність супутньої тяжкої соматичної патології, гепатитів іншої етіології, психічних розладів, раніше проведеної противірусної терапії. Дані щодо верифікації діагнозу ХГС, перебігу захворювання, результати біохімічних, вірусологічних досліджень, ступеня фіброзоутворення, схеми фармакотерапії отримано при ретроспективному аналізі амбулаторних карт хворих. Дослідження проведено на базі НДІ клінічної біофізики ОНМедУ згідно існуючих біоетичних норм (протокол комісії біоетики ОНМедУ № 68Б А від 24.10.14 р.).

Дослідження виконано у кілька етапів. Першим етапом було встановлення особливостей розподілу частоти делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* і *GSTM1*, *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* і поліморфізму *CYP2E1*6* в Одеському регіоні у практично здорових осіб та проаналізовано асоціацію цих генів з ризиком розвитку ХГС, другим та третім етапами відповідно – вплив даних генів на тяжкість перебігу і ефективність лікування ХГС, в тому числі безпечність та якість життя пацієнтів.

Для аналізу ефективності лікування хворі на ХГС були поділені на 3 групи, які отримували фармакотерапію за схемами: I група ($n=33$) – пегінтерферон + рибавірин (перорально по 1000 мг на добу), з них 23 хворих підшкірно у ділянку передньої черевної стінки або стегон отримали пегінтерферон- α -2а (по 180 мкг на тиждень) і 10 пацієнтів – пегінтерферон- α -2b (по 1,5 мкг/кг на тиждень); II ($n=18$) – перорально аміксин і рибавірин (по 1000 мг на добу); III ($n=26$) – per os легалон (140 мг 3 рази на добу).

Для молекулярно-генетичного дослідження геному ДНК виділяли з клітин венозної крові за допомогою набору реактивів «ДНК-сорб-Б» (Амплиценс, РФ) для виділення ДНК із клінічного матеріалу (кров). Поліморфізм досліджуваних генів визначали за допомогою мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-технологія», РФ) з використанням локус специфічних олігонуклеотидних праймерів («Литех», РФ). Поліморфні ділянки *GSTT1* і *GSTM1* ампліфікували згідно протоколу для одночасного аналізу делеційного поліморфізму за M. Arand et al. (1996). Як контроль був обраний фрагмент гена альбуміну. Для проведення мультиплексної ПЛР були використані праймери до гена *GSTT1* (прямий 5'ТТС-СТТ-АСТ-GGT-ССТ-САС-АТС-ТС-3' та зворотний 5'ТСА-ССG-GAT-САТ-GGC-СAG-СА-3'), гена *GSTM1* (прямий 5'GAA-СТС-ССТ-GAA-AAG-СТА-AAGC-3' та зворотний 5'GTT-GGG-СТС-ААА-ТАТ-АСG-GTGG-3'), гена альбуміну (прямий 5'GCC-СТС-TGC-TAA-СAA-GTC-СТ-3' та зворотний 5'GCC-СТА-ААА-АГА-ААА-TCG-ССА-АТС-3'). Аналіз продуктів реакції проводили шляхом електрофорезу в 1 % агарозному гелі з додаванням 1 % етидіум броміду з подальшою візуалізацією в ультрафіолетовому світлі. Поліморфізм *A313G* гена *GSTP1* визначено за методикою T. Ishii et al. (1999) із застосуванням суміші олігонуклеотидних праймерів наступних послідовностей: прямий 5'-GTA-GTT-TGC-ССА-AGG-TCA-AG-3' та зворотний 5'-AGC-САС-СТG-AGG-GGT-AAG-3'. Наступним етапом проведено рестрикцію ампліфікованих фрагментів ДНК з використанням рестриктази *Alw26I* («Fermentas», РФ) протягом 2 год при температурі 37 °С. Аналіз продуктів реакції проводили шляхом електрофорезу в 1 % агарозному гелі з додаванням 1 % етидіум броміду з подальшою візуалізацією в ультрафіолетовому світлі. Поліморфізм гена *CYP2E1* у 6-му інтроні (*CYP2E1*6*) визначено за методикою, описаною S. Kato et al. (1992), за допомогою олігонуклеотидних праймерів наступних послідовностей: прямий 5'-ССА-GTC-GAG-TCT-АСА-TTG-TCA-3' та

зворотній 5'-ТТС-АТТ-СТГ-ТСТ-ТСТ-ААС-ТГГ-3'. Проведено рестрикцію продукту ампліфікації за допомогою рестриктази DraI протягом 4 год при температурі 37 °С. Аналіз продуктів реакції проводили шляхом електрофорезу в 1 % агарозному гелі з додаванням 1 % етидіум броміду з подальшою візуалізацією в ультрафіолетовому світлі.

Біохімічну відповідь ретроспективно аналізувано у сироватці крові до лікування, через 12 і 24 тижні після початку фармакотерапії за швидкістю відновлення активності аланінамінотрансферази (АлАТ), що є більш специфічним маркером цитолізу гепатоцитів, а також аспартатамінотрансферази (АсАТ), вмісту загального білірубину, які визначались загальноприйнятими методами [Зупанец І. А. и соавт., 2005]. Також ретроспективно досліджено вірусне навантаження хворих на ХГС (до 800 000 МО/мл вважалось низьким та більше 800 000 МО/мл – високим) та стадії розвитку фіброзу печінки за даними стандартного тесту Fibromax [Fouad A. et al., 2013].

У I групі ефективність лікування оцінювали серед пацієнтів з різними генотипами за вірусологічною та біохімічною відповідями. Вірусологічну відповідь досліджено до лікування, через 4, 12 і 24 тижні фармакотерапії за наступними показниками: швидка вірусологічна відповідь (ШВВ) – відсутність РНК вірусу через 4 тижні лікування; рання вірусологічна відповідь (РВВ) – відсутність РНК вірусу через 12 тижнів лікування; уповільнена вірусологічна відповідь (УВВ) – відсутність РНК вірусу через 24 тижні лікування; відсутність вірусологічної відповіді (ВВ) – безперервна вірусемія. У II та III групах хворих ефективність лікування оцінювали за біохімічною відповіддю до лікування, через 12 і 24 тижні фармакотерапії.

Оцінка якості життя (ЯЖ) хворих до лікування, та через 24 тижні терапії було досліджено за допомогою адаптованого спеціалізованого опитувача "SF-36v2 Health Status Survey" [Новик А. А., Іонова Т. І., 2002].

Статистичний аналіз даних здійснено із застосуванням персонального комп'ютера за допомогою програмного пакету Microsoft Excel та «Statistica v.5.0». Аналіз асоціації одних показників з іншими оцінено за відношенням шансів (OR – odds ratio). Критичний рівень достовірності нульової статистичної гіпотези (p) приймався таким, що дорівнює 0,05 [Лапач С. Н., 2000].

Результати дослідження. Аналіз асоціації поліморфізмів генів *GSTs* та *CYP2E1* з ризиком розвитку ХГС. За даними молекулярно-генетичного дослідження, визначено частоти делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*, *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1* *6 у хворих на ХГС та в контрольній групі (табл. 1). Виявлено, що у здорових мешканців Одеського регіону частоти обраних поліморфізмів генів *GSTs* та *CYP2E1* не відрізнялись від популяційних частот, що встановлені для європейських популяцій [Garte S. et al., 2001; Volt H. M. et al., 2003]. Так, у здорових донорів частота генотипу *GSTT1*+ склала 81,2 % та генотипу *GSTT1null* – 18,8 %. Генотипи *GSTM1*+ та *GSTM1null* мали однакову кількість донорів (по 50,0 %). Генотип *AA* гена *GSTP1* виявлено у 48,5 % досліджуваних контрольної групи, *AG* – у 43,7 і *GG* – у 7,8 %. Частота алеля *A* дорівнювала 0,70, алеля *G* – 0,30. Частота генотипу *DD* гена *CYP2E1* склала 78,1 %, *CD* – 21,9 %. Не виявлено гомозигот за мутантним алелем *C*. Частота алелів *D* і *C* становила 0,89 та 0,11 відповідно. Частоти алелів і генотипів генів *GSTP1* і *CYP2E1* відповідали закону Харді-Вайнберга, що свідчить про те, що обстежена контрольна група знаходилась у стані генетичної рівноваги [Фогель Ф., Мотульски А., 1990].

У здорових мешканців Одеського регіону виявлено вплив поліморфізму гена *GSTP1* на середню активність АлАТ сироватки крові. А саме, у обстежених з генотипом *AA* спостерігалась більш висока активність цього ферменту порівняно з особами, які мають генотипи *AG* або *GG* ($0,46 \pm 0,16$ проти $0,35 \pm 0,11$ ммоль/л·год, $p < 0,05$). Не відмічено достовірної різниці в активності АлАТ сироватки крові у здорових донорів з генотипами *GSTT1*, *GSTM1* та *CYP2E1*. Проте встановлено асоціацію поліморфізму *GSTM1*+ з ризиком розвитку ХГС. Частота генотипу *GSTM1*+ суттєво вища у хворих на ХГС, ніж в контрольній групі (67,5 проти 50,0 %, $p < 0,05$; OR=2,08; 95 % CI=1,05-4,12).

Не виявлено достовірних відмінностей у частоті делеційного поліморфізму гена *GSTT1*,

A313G поліморфізму гена *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1* *6 у хворих на ХГС та в контрольній групі.

Таблиця 1

Частоти делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*,
A313G поліморфізму гена *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1* *6 у хворих
на ХГС та групі практично здорових донорів, n (%)

<i>GSTT1/GSTM1</i>				
Групи обстежених	<i>GSTT1</i> +	<i>GSTT1null</i>	<i>GSTM1</i> +	<i>GSTM1null</i>
Хворі на ХГС (n=77)	58 (75,3 %)	19 (24,7 %)	52 (67,5 %)	25 (32,5 %)
Практично здорові (контроль, n=64)	52 (81,2 %)	12 (18,8 %)	32 (50,0 %)	32 (50,0 %)
	p>0,05		p<0,05	
<i>A313G</i> поліморфізм гена <i>GSTP1</i>				
Групи обстежених	<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>	<i>AG</i> або <i>GG</i>
Хворі на ХГС (n=77)	34 (42,2 %)	36 (46,7 %)	7 (9,1 %)	43 (55,8 %)
Практично здорові (контроль, n=64)	31 (48,5 %)	28 (43,7 %)	5 (7,8 %)	35 (54,6 %)
	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
<i>CYP2E1</i> *6				
Групи обстежених	<i>DD</i>	<i>CD</i>	<i>CC</i>	
Хворі на ХГС (n=77)	59 (76,6 %)	18 (23,4 %)	-	
Практично здорові (контроль, n=64)	50 (78,1 %)	14 (21,9 %)	-	
	p>0,05	p>0,05	-	

Аналіз асоціації тяжкості перебігу ХГС з поліморфізмами генів *GSTs* та *CYP2E1*. Серед хворих на ХГС у 63,6 % виявлено 1b генотип вірусу, тільки у 3,9 % – 2 та 32,5 % – 3a, тобто в Одеському регіоні найбільш поширеним є генотип вірусу 1b, що асоційований з більш тяжким перебігом хвороби [Lin K. H. et al., 2013]. Спостерігалась також тенденція до збільшення частоти генотипу 1b вірусу та зменшення частоти генотипу 3a серед жінок, ніж чоловіків.

Аналіз тяжкості перебігу ХГС залежно від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* і *GSTM1* виявив таку асоціацію із поліморфізмом *GSTM1*. Так, у хворих з генотипом *GSTM1null* порівняно з особами, які мали генотип *GSTM1+*, до початку лікування суттєво вища активність маркерних ферментів цитолізу – АлАТ ($1,98 \pm 1,54$ проти $1,32 \pm 1,02$ ммоль/л·год, $p < 0,05$), АсАТ ($1,08 \pm 0,90$ проти $0,62 \pm 0,50$ ммоль/л·год, $p < 0,05$) і вміст загального білірубину ($23,60 \pm 14,30$ проти $13,60 \pm 3,50$ мкмоль/л, $p < 0,05$) сироватки крові. Водночас серед пацієнтів, інфікованих вірусом 1b генотипу і які мали генотип *GSTM1+*, спостерігалась достовірна тенденція до збільшення частоти хворих з високим вірусним навантаженням ($p < 0,05$).

У хворих, інфікованих вірусом з генотипом 1b, які мали генотип *GSTM1null*, виявлено підвищений ризик розвитку фіброзу печінки різної стадії за даними стандартного тесту «Fibromax». Так, у хворих з генотипом *GSTM1null* фіброз печінки різної стадії (F₁-F₄) виявлено у 45,5 % осіб, а у пацієнтів з генотипом *GSTM1+* – тільки у 12,5 % ($p < 0,05$). Частота розвитку фіброзу печінки у хворих, які були інфіковані вірусом з генотипами 2 та 3a, не залежала від делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*. Таким чином, якщо при розвитку інфекційного процесу хронізація інфекції частіше спостерігалась у хворих з генотипом *GSTM1+*, то у подальшому більше значення мала відсутність протективного ефекту ферменту *GSTM1* у осіб з делецією гена *GSTM1*.

Також на тяжкість перебігу ХГС впливав поліморфізм *CYP2E1* *6. Серед хворих з генотипом *DD* значно менша частина пацієнтів мали біохімічні показники сироватки крові, характерні для

здорових осіб, ніж серед пацієнтів з генотипом *CD* (відповідно 27,1 і 55,6 %, $p < 0,05$). При цьому відмічалась тенденція до збільшення активності АЛАТ сироватки крові у пацієнтів з генотипом *DD* порівняно з особами, які мали генотип *CD* ($p > 0,05$). Імовірно статистично недостовірні результати отримано внаслідок малого відсотка носіїв генотипу *CD* (23,4 %). Фіброз печінки різної стадії (F₁-F₄) також частіше розвивався у хворих з генотипом *DD*, ніж у пацієнтів з генотипом *CD* (відповідно 67,8 і 33,3%, $p < 0,05$; OR=4,24, 95 % CI=1,37-12,93). Не виявлено асоціації рівня вірусного навантаження з поліморфізмом *CYP2E1**6. Таким чином, можна дійти висновку, що хворі з генотипом *DD* мають більш тяжкий перебіг ХГС, ніж пацієнти з генотипом *CD*.

Проте не виявлено асоціації делеційного поліморфізму *GSTT1* і *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* з тяжкістю перебігу ХГС.

Вивчення ефективності стандартної схеми лікування ХГС пегінтерфероном + рибавірином залежно від поліморфізмів генів *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, *CYP2E1*. Аналіз асоціації поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків з ефективністю фармакотерапії ХГС за схемою пегінтерферон + рибавірин показав, що делеційні поліморфізми генів *GSTT1* і *GSTM1* не впливали на швидкість вірусологічної відповіді в даній групі пацієнтів. Проте привернув увагу факт відсутності вірусологічної відповіді (ВВ) тільки у хворих, які мали високе вірусне навантаження до лікування та комбінацію генотипів *GSTT1*+/*GSTM1*+. У пацієнтів з генотипом *GSTM1null* до початку лікування за схемою пегінтерферон+рибавірин відмічались достовірно більш високі рівні активності ферментів цитолізу та вмісту загального білірубіну сироватки крові, ніж у хворих з генотипом *GSTM1*+, що збігалось з даними, отриманими щодо асоціації тяжкості перебігу з цим генотипом. Але в подальшому (через 12 та 24 тижні фармакотерапії) не виявлено істотних відмінностей у динаміці відновлення активності АЛАТ сироватки крові у цих пацієнтів.

Не відмічалось і достовірних відмінностей у біохімічній відповіді на терапію ХГС за схемою пегінтерферон + рибавірин у хворих залежно від делеційного поліморфізму гена *GSTT1*.

Проте визначено асоціацію поліморфізмів генів *GSTP1* та *CYP2E1* із ефективністю лікування ХГС за схемою пегінтерферон + рибавірин (рис. 1). Так, у хворих, які мали у генотипі алель *G* (генотипи *AG* або *GG*) за геном *GSTP1*, значно частіше спостерігалися ШВВ або РВВ, ніж у пацієнтів з генотипом *AA* (відповідно 76,2 та 25,0 %, $p < 0,05$). А серед хворих з генотипом *AA*, навпаки, частіше зустрічались УВВ або ВВ, ніж у пацієнтів з генотипами *AG* і *GG* (відповідно 75,0 і 23,8 %, $p < 0,05$).

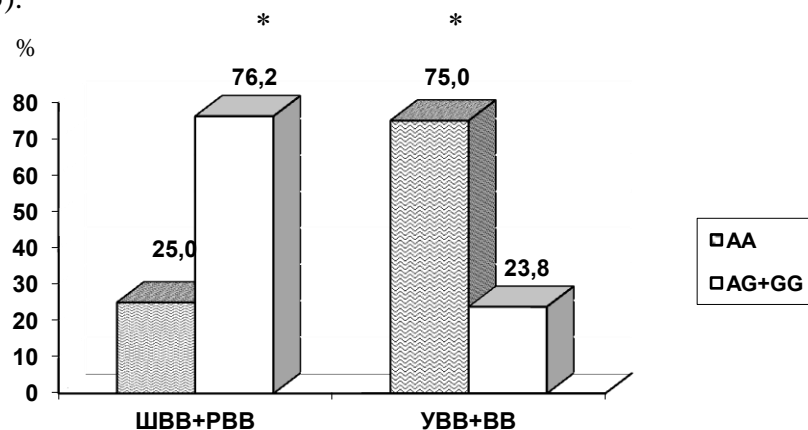


Рис. 1. Вірусологічна відповідь на фармакотерапію за схемою пегінтерферон + рибавірин у пацієнтів з різними генотипами за геном *GSTP1*

У рис. 1-2, табл. 3: * - достовірність між пацієнтами з різними генотипами ($p < 0,05$)

Більш швидка вірусологічна відповідь у хворих на ХГС з алелем *G* у генотипі також підтверджувалась більш швидким відновленням активності АЛАТ сироватки крові (табл. 2). У пацієнтів з генотипами *AG* або *GG* значно швидше спостерігалось відновлення активності цього ферменту (через 12 тижнів пегінтерферонотерапії), ніж у хворих з генотипом *AA*. Так, до

початку лікування не було суттєвої різниці у активності АлАТ сироватки крові у пацієнтів з даними генотипами (див. табл. 2), але через 12 тижнів лікування за даною схемою активність цього ферменту суттєво знизилась у хворих з генотипами *AG* або *GG* порівняно з особами, які мали генотип *AA* (відповідно $0,60 \pm 0,31$ і $1,06 \pm 0,77$ ммоль/л-год, $p < 0,05$). Через 24 тижні не спостерігалось значних відмінностей у біохімічній відповіді серед хворих, які мали у генотипі алель *G* (генотипи *AG* або *GG*) та у пацієнтів з генотипом *AA*.

Також знайдена асоціація поліморфізму *CYP2E1*6* з ефективністю пегінтерферонотерапії. А саме, поліморфізм *CYP2E1*6* впливав на вірусологічну та біохімічні відповіді при використанні даної схеми. Як наведено у рис. 2, значно більша частина хворих з генотипом *CD* за геном *CYP2E1* мали ШВВ або РВВ, ніж пацієнти з генотипом *DD* (88,9 проти 45,8 %, $p < 0,05$). Відповідно у достовірно більшій частині хворих, які мали генотип *DD*, були УВВ+ВВ, ніж у пацієнтів з генотипом *CD* (54,2 проти 11,1 %, $p < 0,05$).

Таблиця 2

Динаміка активності АлАТ (ммоль/л-год) сироватки крові при фармакотерапії хворих на ХГС за схемою пегінтерферон + рибавірин залежно від поліморфізму *A313G* гена *GSTP1*

№ №	Термін визначення	Показники	Генотипи за геном <i>GSTP1</i>		P (AA та AG/GG)
			AA (n=12)	AG/GG (n=21)	
1.	Контроль (практично здорові, n=64)	M±m %	0,46±0,16 100	0,35±0,11 100	<0,05
2.	Хворі до початку лікування	M±m % (2-1) p (2-1)	1,70±1,26 +269,6 <0,05	1,82±0,92 +420,0 <0,05	>0,05
3.	Через 12 тижнів лікування	M±m % (3-1) p (3-1)	1,06±0,77 +130,4 <0,05	0,60±0,31 +71,4 <0,05	<0,05
4.	Через 24 тижні лікування	M±m % (4-1) p (4-1)	0,68±0,38 +47,8 <0,05	0,54±0,54 +54,3 <0,05	>0,05

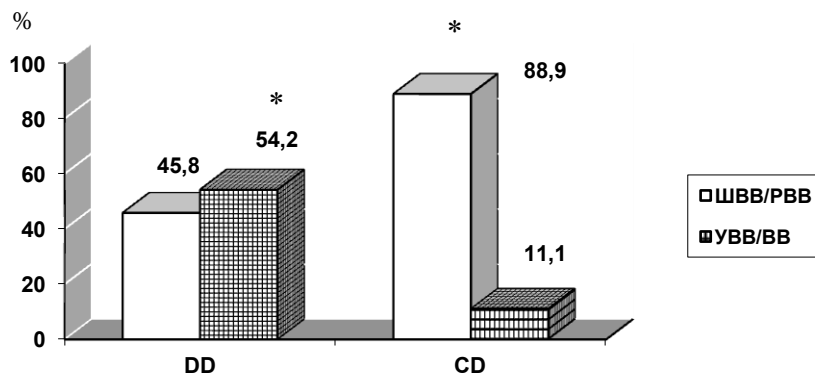


Рис. 2. Частота (%) ШВВ+РВВ та УВВ+ВВ у хворих з різними генотипами за поліморфізмом *CYP2E1*6*

Спостерігалась більш швидка біохімічна відповідь на лікування пегінтерфероном+рибавірином у пацієнтів із мутантним алелем *C* за геном *CYP2E1* у генотипі. Так, до початку терапії у пацієнтів з генотипами *DD* та *CD* спостерігалось значне і достовірне підвищення рівня активності АлАТ сироватки крові порівняно з контрольною групою, причому дещо виразне у осіб з генотипом *DD* (відповідно на 357,5 та 307,9 %). Через 12 тижнів терапії у

хворих з генотипом *CD* активність АлАТ вже статистично не відрізнялась від рівня ферменту у здорових донорів, а через 24 тижні була навіть нижчою ніж у контрольній групі (на 15,8 %, $p > 0,05$). У той же час, серед хворих з генотипом *DD* і через 12, і 24 тижні лікування активність АлАТ залишалась значно вищою порівняно з контрольною групою (відповідно на 102,5 і 62,5 %, $p < 0,05$).

Виявлялось також більш швидке (через 12 тижнів фармакотерапії) відновлення біохімічних показників сироватки крові (активності АлАТ, АсАТ, вмісту загального білірубіну) у пацієнтів з генотипом *CD* порівняно з пацієнтами з генотипом *DD* (88,9 проти 50,0 %, $p < 0,05$). Через 24 тижні фармакотерапії всі (100 %) пацієнти з генотипом *CD* досягли біохімічних показників сироватки крові, які характерні для здорових людей. Водночас тільки у 65,4 % хворих з генотипом *DD* виявлялись нормальні біохімічні показники крові (табл. 3).

Таблиця 3

Біохімічна відповідь на фармакотерапію пегінтерфероном+рибавірином залежно від генотипу хворих на ХГС за геном *CYP2E1*

Генотипи	Кількість та % хворих з біохімічними показниками сироватки крові у межах практично здорових осіб		
	До початку терапії	Через 12 тижнів терапії	Через 24 тижні терапії
<i>DD</i> (n=24, 72,7 %)	4 (16,7 %)	12 (50,0 %)*	17 (65,4 %)
<i>CD</i> (n=9, 27,3 %)	4 (44,4 %)	8 (88,9 %)	9 (100 %)

Враховуючи факт, що тенденція до більш швидкої біохімічної відповіді серед пацієнтів з генотипом *CD* співпадає з більш швидкою вірусологічною відповіддю серед пацієнтів з даним генотипом, можна припустити, що недостовірні ($p > 0,05$) відмінності у біохімічній відповіді між хворими з різними генотипами пов'язані з невеликою кількістю носіїв генотипу *CD* в Одеському регіоні.

Підсумовуючи дані цього етапу дослідження, можна дійти висновку, що генотипи *AG* або *GG* за геном *GSTP1* і *CD* за геном *CYP2E1* можуть бути предикторними факторами розвитку СВВ серед хворих на ХГС, які проходять лікування за схемою пегінтерферон + рибавірин. Навпаки, генотипи *AA* гена *GSTP1* та *DD* гена *CYP2E1* були асоційовано з більш повільною вірусологічною відповіддю. Найбільш несприятливим було поєднання генотипів *DD* за геном *CYP2E1* і *AA* за геном *GSTP1*, що відмічено у 27,3 % хворих, які отримали фармакотерапію пегінтерфероном + рибавірином. Жоден з пацієнтів з даною комбінацією генотипів не досягав ШВВ або РВВ. У 77,8 % хворих цієї групи спостерігалась УВВ і у 22,2 % - вірусологічна відповідь була відсутня.

Оцінка ефективності пегінтерферонотерапії хворих на ХГС залежно від виду інтерферону. У ході дослідження ефективності пегінтерферонотерапії привернула увагу різна вірусологічна відповідь у хворих, яким застосовували препарати пегінтерферону різного типу (α -2a і α -2b). Виявлено, що при фармакотерапії пегінтерфероном- α -2a частіше спостерігались РВВ або ШВВ (69,6 %) порівняно з пацієнтами, яким призначався пегінтерферон- α -2b (30,0 %, $p < 0,05$). У хворих, які інфіковані вірусом з генотипом 1b, кращі результати вірусологічної відповіді спостерігались при лікуванні за схемою пегінтерферон- α -2a + рибавірин, ніж пегінтерферон- α -2b + рибавірин. Це збігається з даними літератури [Manns M. P. et al., 2001]. Слід також зазначити, що у всіх пацієнтів, інфікованих вірусом з генотипом 3a, спостерігалась позитивна вірусологічна відповідь (ШВВ, РВВ, УВВ) на пегінтерферонотерапію не залежно від виду інтерферону. Водночас не було істотних відмінностей у біохімічній відповіді у хворих на ХГС, які проходили лікування пегінтерфероном- α -2a і α -2b.

Вивчення асоціації поліморфізму генів ферментів детоксикації ксенобіотиків з ефективністю альтернативних методів лікування ХГС аміксином+рибавірином або легалоном.

У II групі хворих, які проходили лікування за схемою аміксин + рибавірин, через 24 тижні фармакотерапії середній рівень активності АлАТ сироватки крові та частина хворих з показниками крові у межах здорових осіб суттєво не відрізнялись від відповідних показників до початку лікування. Аналіз динаміки середнього рівня активності АлАТ сироватці крові хворих на ХГС залежно від поліморфізму *CYP2E1**6 показав дещо більш високі рівні цього ферменту серед пацієнтів з генотипом *DD* протягом усього курсу лікування порівняно з хворими з генотипом *CD*. Проте різниця у середніх рівнях активності АлАТ крові статистично недостовірно, що, можливо, пояснюється невеликою кількістю хворих з генотипом *CD* (3 пацієнти) у даній групі досліджених осіб. Не виявлено достовірної асоціації делеційних поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1*, *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* з ефективністю лікування ХГС за схемою аміксин + рибавірин.

У III групі хворих, які лікувались легалоном, тенденцію до кращих результатів лікування через 24 тижні терапії демонстрували пацієнти з генотипами *GSTT1+*, *GSTM1+*, генотипом *AA* за геном *GSTP1* та генотипом *CD* гена *CYP2E1*. А саме, через 24 тижні терапії легалоном більш низька активність АлАТ сироватки крові спостерігалась у пацієнтів з генотипом *GSTT1+* ($0,79 \pm 0,67$ ммоль/л·год) порівняно з *GSTT1null* ($1,28 \pm 1,06$ ммоль/л·год, $p > 0,05$); у хворих з генотипом *GSTM1+* виявлялась значно нижча активність АлАТ порівняно з хворими з генотипом *GSTM1null* ($0,75 \pm 0,51$ проти $1,40 \pm 1,07$ ммоль/л·год, $p < 0,05$); у пацієнтів з генотипом *AA* за геном *GSTP1* також спостерігалась нижча активність АлАТ порівняно з генотипами *AG* або *GG* ($0,73 \pm 0,52$ проти $1,16 \pm 1,07$ ммоль/л·год, $p > 0,05$). У хворих з генотипом *CD* відмічалась тенденція до зниження активності АлАТ упродовж всієї терапії легалоном порівняно з генотипом *DD*, проте важко оцінити достовірність результатів внаслідок невеликої кількості хворих з генотипом *CD*.

Вивчення якості життя хворих на ХГС. За даними анкетування хворих, через 24 тижні фармакотерапії пегінтерфероном + рибавірином спостерігалось підвищення показників ЯЖ у всіх пацієнтів. Проте тенденція до більш високих показників ЯЖ відмічалась серед хворих на ХГС, які мали генотипи *AG* або *GG* гена *GSTP1* та генотип *CD* гена *CYP2E1*. Це збігалось з отриманими результатами щодо більшої ефективності противірусної терапії серед хворих даної групи. Проте дана фармакотерапія була більш небезпечною. У процесі фармакотерапії хворі скаржилися на розлади психічного стану (5 %), гастроінтестинальні порушення (7 %), грипоподібний стан (10 %) тощо. Анкетування через 24 тижні фармакотерапії щодо якості життя у хворих III групи виявило кращу тенденцію до збільшення показників ЯЖ, ніж у пацієнтів II групи. Найбільш безпечним серед трьох схем фармакотерапії було лікування легалоном.

Таким чином, облік встановлених у даному дослідженні фактів дозволить передбачити індивідуальну вірусологічну відповідь на терапію ХГС за схемою пегінтерферон+рибавірин, індивідуалізувати та оптимізувати фармакотерапію у конкретного хворого на гепатит С, прогнозувати результати лікування, їх безпечність і якість життя пацієнтів.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено нове розв'язання актуального наукового завдання клінічної фармакології – встановлення асоціації поліморфізмів генів детоксикації ксенобіотиків I та II фаз з ризиком розвитку, тяжкістю перебігу та ефективністю лікування хворих на хронічний гепатит С, що дозволяє індивідуалізувати та оптимізувати фармакотерапію у конкретного хворого на хронічний гепатит С, прогнозувати результати лікування, впливати на безпечність та якість життя пацієнта.

1. Встановлено асоціацію делеційного поліморфізму гена *GSTM1* із ризиком розвитку ХГС. Частота генотипу *GSTM1+* достовірно вища у хворих на ХГС, ніж в контрольній групі ($67,5$ проти $50,0$ %, $p < 0,05$; $OR = 2,08$; 95 % $CI = 1,05-4,12$). Не виявлено достовірної асоціації делеційного поліморфізму *GSTT1*, *A313G* поліморфізму гена *GSTP1* та поліморфізму *CYP2E1* у 6-му інтроні (*CYP2E1**6) з ризиком ХГС.

2. Встановлено асоціацію генотипу *GSTM1null* і генотипу *DD* за поліморфізмом *CYP2E1**6 з

тяжкістю перебігу ХГС. У хворих з генотипом *GSTM1null* виявлялись більш високі активності АлАТ, АсАТ та вміст загального білірубину сироватки крові, ніж у пацієнтів з генотипом *GSTM1+* ($p < 0,05$). У хворих на ХГС з генотипом *GSTM1null*, інфікованих вірусом з генотипом 1b, достовірно частіше розвивався фіброз печінки різної стадії (F₁-F₄ за шкалою Metavir), ніж у пацієнтів з генотипом *GSTM1+* (88,2 і 56,2 % відповідно, $p < 0,05$; OR=5,83; 95 % CI=1,14-29,84). Достовірно більша частина хворих з генотипом *DD* гена *CYP2E1* мали підвищену активність АлАТ сироватки крові, ніж пацієнти з генотипом *CD* (на 28,5 %, $p < 0,05$). У хворих з генотипом *DD* частіше розвивався фіброз різної стадії (F₁-F₄) порівняно з пацієнтами з генотипом *CD* (67,8 проти 33,3 %, $p < 0,05$, OR=4,24; 95 % CI=1,37-12,93).

3. Фармакотерапія за схемою пегінтерферон + рибавірин виявилась більш ефективною при певних поліморфізмах генів *GSTP1* та *CYP2E1**6. Пацієнти з генотипами *AG* і *GG* за геном *GSTP1* частіше (відповідно 76,2 та 25,0 %, $p < 0,05$) досягали швидкої та ранньої вірусологічної відповіді, ніж з генотипом *AA*; вже через 12 тижнів терапії відбувалось достовірне відновлення біохімічних показників сироватки крові. Серед пацієнтів з генотипом *CD* гена *CYP2E1* також достовірно частіше спостерігались швидка та рання вірусологічна відповідь, ніж у хворих з генотипом *DD* (88,9 проти 45,8 %) і швидше відновлювалась активність АлАТ сироватки крові (через 12 тижнів фармакотерапії, $p < 0,05$).

4. Аналіз отриманих результатів виявив більшу ефективність пегінтерферону- α -2a, ніж пегінтерферону- α -2b. Хворі, яким призначали пегінтерферон- α -2a + рибавірин, значно частіше досягали швидкої або ранньої вірусологічної відповіді, ніж ті, що лікувались за схемою пегінтерферон- α -2b + рибавірин (64,3 і 14,3 % відповідно, $p < 0,05$).

5. При призначенні хворим на ХГС легалону через 24 тижні спостереження встановлено тенденцію до нормалізації активності АлАТ сироватки крові, поліпшення показників якості життя у пацієнтів, які мали генотипи *GSTT1+*, *GSTM1+*, генотип *AA* гена *GSTP1* і *CD* гена *CYP2E1*. Водночас не виявлено достовірної залежності поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків з ефективністю фармакотерапії ХГС за схемою аміксин + рибавірин. Застосування легалону було більш безпечним порівняно з іншими схемами лікування.

6. Наявність в генотипі мутантного алеля *G* гена *GSTP1* (генотипи *AG* і *GG*) або мутантного алеля *C* гена *CYP2E1* (генотип *CD*) є прогностично сприятливими факторами розвитку швидкої і ранньої вірусологічної відповіді, більш швидкого відновлення біохімічних показників сироватки крові, підвищення якості життя пацієнтів при пегінтерферонотерапії ХГС. Генотипи *AA* гена *GSTP1* і *DD* гена *CYP2E1*, навпаки, є предикторами уповільненої вірусологічної відповіді або взагалі її відсутності на противірусне лікування ХГС. Облік даних фактів дозволяє обґрунтувати доцільність генетичного тестування хворих на ХГС за даними генами.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

На основі встановлених у дослідженні фактів пропонується для впровадження в практику інфекційних лікарень, науково-дослідних інститутів наступне:

1. Рекомендовано молекулярно-генетичне тестування здорових осіб за делеційним поліморфізмом *GSTM1*, враховуючи асоціацію генотипу *GSTM1+* з більшим ризиком розвитку хронічного гепатиту С при інфікуванні вірусом. Такій групі населення необхідно проводити планові регулярні обстеження з метою раннього виявлення цього захворювання.

2. До початку терапії доцільно визначення серед хворих на ХГС осіб з генотипом *GSTM1null* і генотипом *DD* за поліморфізмом *CYP2E1**6, особливо при їх інфікуванні вірусом з генотипом 1b, що дозволить відібрати групу пацієнтів з більш тяжким перебігом захворювання, високою ймовірністю фіброзування тканини печінки та розвитку інших ускладнень.

3. З метою індивідуального прогнозу ефективності, безпечності лікування і якості життя хворих на ХГС враховувати, що наявність в генотипі хворих на ХГС мутантного алеля *G* гена *GSTP1* (генотипи *AG* і *GG*) або мутантного алеля *C* гена *CYP2E1* (генотип *CD*) є прогностично сприятливими факторами і, навпаки, генотипи *AA* гена *GSTP1* і *DD* гена *CYP2E1* є негативними предикторами результатів інтерферонотерапії.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Остапчук К. В. Асоціація поліморфізмів генів детоксикації ксенобіотиків *GSTT1* та *GSTM1* з ризиком розвитку хронічного гепатиту С / К. В. Остапчук, В. В. Годован, В. О. Мозгова // *Досягнення біології та медицини*. – 2013. – № 1(21). – С. 57–60. (Внесок дисертанта — аналіз джерел літератури, проведення молекулярно-генетичних досліджень, статистична обробка, аналіз і узагальнення результатів, написання та оформлення статті).
2. Остапчук К. В. Аналіз ефективності фармакотерапії хворих на хронічний гепатит С пегільованим інтерфероном і рибавірином залежно від виду інтерферону та генотипу хворих за генами *GSTs* / К. В. Остапчук, В. В. Годован // *Одеський медичний журнал*. – 2014. – № 1(141). – С. 15–21. (Внесок дисертанта — аналіз джерел літератури, розробка схеми роботи, проведення молекулярно-генетичних досліджень, статистична обробка, написання та оформлення статті).
3. Остапчук Е. В. Влияние полиморфизмов генов метаболизма ксенобиотиков *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* на эффективность лечения больных хроническим гепатитом С / Е. В. Остапчук, В. В. Годован // *Казанский медицинский журнал*. – 2014. – № 2(95). – С. 202–208. (Внесок дисертанта — проведення молекулярно-генетичних досліджень, статистична обробка і оформлення статті до друку).
4. Остапчук Е. В. Тяжесть течения хронического гепатита С у больных с полиморфизмами генов *GSTT1*, *GSTM1* и *GSTP1* / В. В. Годован, Е. В. Остапчук // *Black Sea Scientific Journal of Academic Research (Georgia)*. – 2014. – Vol. 13. – P. 64–68. (Внесок дисертанта — проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів, статистична обробка і оформлення статті до друку).
5. Остапчук К. В. Ефективність противірусної терапії хворих на хронічний гепатит С залежно від генетичних поліморфізмів *CYP2E1* / В. В. Годован, К. В. Остапчук // *Світ медицини та біології*. – 2014. – № 2(44). – С. 26–29. (Внесок дисертанта — проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз отриманих результатів, статистична обробка і оформлення статті).
6. Остапчук К. В. Асоціація поліморфізму *CYP2E1*6* гену *CYP2E1* з ризиком розвитку та тяжкістю перебігу хронічного гепатиту С / В. В. Годован, К. В. Остапчук // *Запорожський медичний журнал*. – 2014. – № 84. – С. 67–70. (Внесок дисертанта – аналіз джерел літератури, проведення досліджень, статистична обробка, написання та оформлення статті).
7. Кресюн В. Й. Визначення поліморфізмів генів *CYP2E1* і *GSTP1* як предикторів ефективності інтерферонотерапії хронічного гепатиту С / В. Й. Кресюн, В. В. Годован, К. В. Остапчук : інформ. лист МОЗ України / Одеський нац. мед. університет. – К., 2014. – 3 л. – Вип. із пробл. – (Клінічна фармакологія і клінічна фармація). (Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання та оформлення листа).
8. Остапчук К. В. Роль генетичних поліморфізмів генів детоксикації ксенобіотиків у розвитку вірусного гепатиту С / К. В. Остапчук // *Розвиток наукових досліджень 2011 : 7-а міжнар. наук.-практ. конф., 28-30 листопада 2011 р., Полтава : матер.* – Полтава, 2011. – С. 43–46.
9. Остапчук К. В. Частота поліморфних варіантів генів *GSTT1* та *GSTM1* у хворих на вірусний гепатит С, мешканців Одеси та Одеської області / В. В. Годован, К. В. Остапчук // *Спортивна медицина, лікувальна фізкультура та валеологія* – 2012 : XVI міжнар. наук.-практ. конф., 17-19 травня 2012 р., Одеса : матер. – Одеса, 2012. – С. 39. (Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз результатів і підготовка тез до друку).
10. Остапчук К. В. Вплив поліморфізму генів *GSTT1* і *GSTM1* на тяжкість перебігу та ефективність лікування гепатиту С / К. В. Остапчук // *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини : наук.-практ. конф. з міжнар. уч., присвячена 100-річчю з дня народження К. Д. Двужильної, 14-15 березня 2013 р., Одеса : тези доп.* – Одеса, 2013. – С. 60.
11. Остапчук Е. В. Ассоциация делеционных полиморфизмов генов *GSTT1* и *GSTM1* с

тяжестью течения хронического гепатита С у больных с 1b генотипом вируса в Одесском регионе / Е. В. Остапчук // Актуальные вопросы медицины : II междунар. науч.-практ. конф., 20-21 апреля 2013 г., Баку : тез. докл. – Баку, Азербайджан, 2013. – С. 119.

12. Остапчук К. В. Частота поліморфізму *A313G* гену *GSTP1* у хворих на хронічний гепатит С та здорових мешканців Одеського регіону / К. В. Остапчук, В. В. Годован // Наукові дослідження – теорія та експеримент 2013 : дев'ята міжнар. наук.-практ. конф., 29-31 травня 2013 р., Полтава : тези доп. – Полтава, 2013. – С. 83–85. *(Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз результатів і підготовка тез до друку).*

13. Остапчук К. В. Вплив поліморфізмів генів *GSTT1* та *GSTM1* на ефективність лікування хворих на хронічний гепатит С / В. В. Годован, К. В. Остапчук // Українські медичні вісті. – 2013. – Т. 10 (1-4). – С. 271 (XII з'їзд Всеукраїнського лікарського товариства (ВУЛТ), 5-7 вересня 2013 р., Київ : матер.). *(Внесок дисертанта – аналіз та інтерпретація досліджень, підготовка тез до друку).*

14. Остапчук К. В. Аналіз впливу поліморфізму гену *GSTP1* у 5 екзоні на ефективність лікування хворих на хронічний гепатит С / К. В. Остапчук, В. В. Годован // Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення : міжнар. наук.-практ. конф., 4-5 жовтня 2013 р., Дніпропетровськ : матер. – Дніпропетровськ, 2013. – С. 74–76. *(Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз та інтерпретація досліджень, підготовка тез до друку).*

15. Остапчук К. В. Вплив поліморфізму генів *GSTT1* та *GSTM1* на ефективність лікування хронічного гепатиту С за різними схемами / К. В. Остапчук, В. В. Годован // Безопасность и нормативно-правовое сопровождение лекарственных средств: от разработки до медицинского применения : третья научно-практическая конф., 23-24 жовтня 2013 р., Київ : матер. – К. : 2013. – С. 98–99. *(Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, статистична обробка результатів та оформлення тез до друку).*

16. Остапчук К. В. Аналіз впливу *A313G* поліморфізму гену *GSTP1* на швидкість вірусологічної відповіді у хворих на хронічний гепатит С при терапії за схемою пегінтерферон+рибавірин / К. В. Остапчук, В. В. Годован // Охорона та захист здоров'я людини в умовах сьогодення : міжнар. наук.-практ. конф., 25-26 жовтня 2013 р., Київ : тези доп. – К., 2013. – С. 48–51. *(Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз та інтерпретація досліджень, підготовка тез до друку).*

17. Остапчук К. В. Аналіз впливу поліморфізму генів глутатіон-S-трансфераз на рівень аланінамінотрансферази у здорових мешканців Одеського регіону / К. В. Остапчук, В. В. Годован // Актуальні питання безпечного застосування ліків : наук.-практ. конф., 17-18 жовтня 2013 р., Тернопіль : тези доп. – Тернопіль, 2013. – С. 52–53. *(Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз результатів і підготовка тез до друку).*

18. Остапчук К. В. Вплив *A313G* поліморфізму гену *GSTP1* на ефективність лікування хворих на хронічний гепатит С за схемою пегасис+рибавірин / К. В. Остапчук, В. В. Годован // Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології : наук.-практ. конф. з міжнар. уч., 26-27 вересня 2013 р., Харків : матер. – Х., 2013. – С. 158–159. *(Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, статистична обробка досліджень, підготовка тез до друку).*

19. Остапчук К. В. Аналіз вірусологічної відповіді хворих на хронічний гепатит С залежно від виду інтерферону / К. В. Остапчук // Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України : наук.-практ. конф., присвячена 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на Півдні України, 6-7 грудня 2013 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2013. – С. 145–147.

20. Остапчук К. В. Оценка вирусологического ответа на интерферонотерапию у больных хроническим гепатитом С в зависимости от полиморфизма гена *CYP2E1* в 6-м интроне / К. В. Остапчук, В. В. Годован // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2014. – № 1(41). – С. 87 (Актуальные вопросы медицины : III междунар. науч.-практ. конф., 17-18 апреля 2014 г., Актобе, Казахстан : матер.). *(Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовка тез до друку).*

21. Остапчук К. В. Вплив поліморфізму генів *GSTs* на біохімічну та вірусологічну відповіді при лікуванні хворих на хронічний гепатит С / К. В. Остапчук // Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини : міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, присвячена 115-річчю з дня народження М. О. Ясиновського, 24-25 квітня 2014 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2014. – С.49–50.

22. Остапчук К. В. Асоціація поліморфізму *CYP2E1*6* з ризиком розвитку фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С / К. В. Остапчук, В. В. Годован // XIII читання В.В. Підвисоцького : наук.-практ. конф. з міжнар. уч., 19-20 травня 2014, Одеса : матер. – Одеса, 2014. – С. 70–71. (*Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз результатів і підготовка тез до друку*).

23. Остапчук К. В. Динаміка рівня аланінамінотрансферази у хворих на хронічний гепатит С при інтерферонотерапії залежно від поліморфізму гену *CYP2E1* у 6-му нітроні / К. В. Остапчук, В. В. Годован // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : XXXI Всеукраїн. наук.-практ. конф. з міжнар. уч., 22 травня 2014 р., Харків : матер. – Х., 2014. – С. 108. (*Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз результатів і підготовка тез до друку*).

24. Остапчук К. В. Динаміка рівня аланінамінотрансферази при застосуванні легалону у хворих на хронічний гепатит С залежно від поліморфізму *CYP2E1*6* / В. В. Годован, К. В. Остапчук // Спортивна медицина, лікувальна фізкультура та валеологія : XVII міжнар. наук.-практ. конф., 29-30 травня 2014 р., Одеса : матер. – Одеса, 2014. – С. 49–50. (*Внесок дисертанта – проведення молекулярно-генетичних досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовка тез до друку*).

25. Остапчук К. В. Біохімічна відповідь на фармакотерапію хронічного гепатиту С аміксином та рибавірином залежно від статі хворих / К. В. Остапчук // Наукові дослідження – теорія та експеримент 2014 : десята міжнар. наук.-практ. конф., 26-28 травня 2014 р., Полтава : матер. – Полтава, 2014. – С. 47–49.

26. Остапчук К. В. Тяжкість перебігу хронічного гепатиту С залежно від поліморфізму *CYP2E1* у 6-му нітроні / К. В. Остапчук // Українські медичні вісті. – 2014. – Т. 11 (1-4). – С. 242 (XV конгрес Всеукраїнського лікарського товариства (ВУЛТ), 16-18 жовтня 2014 р., Чернівці : матер.).

АНОТАЦІЯ

Остапчук К. В. Оптимізація ефективності лікування та якості життя хворих на вірусний гепатит С на підставі оцінки поліморфізмів генів детоксикації ксенобіотиків. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.28 – клінічна фармакологія. – Одеський національний медичний університет МОЗ України. - Одеса, 2015.

Вперше встановлено вплив поліморфізмів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків на ризик розвитку, тяжкість перебігу та ефективність лікування хронічного гепатиту С. Виявлено асоціацію генотипу *GSTM1+* із підвищеним ризиком розвитку, а також генотипів *GSTM1null* і *DD* за поліморфізмом *CYP2E1*6* з більш тяжким перебігом хронічного гепатиту С. Встановлено, що наявність в генотипі хворих мутантного алелю *G* гена *GSTP1* (генотипи *AG* і *GG*) або мутантного алелю *C* гена *CYP2E1* (генотип *CD*) є прогностично сприятливими факторами і, навпаки, генотипи *AA* гена *GSTP1* і *DD* гена *CYP2E1* є негативними предикторами результатів пегінтерферонотерапії. Виявлено більш ефективне використання пегінтерферону- α -2а відносно - α -2b. Встановлено тенденцію до кращої біохімічної відповіді при лікуванні легалоном серед пацієнтів з генотипами *GSTT1+*, *GSTM1+*, *AA* гена *GSTP1* і *CD* гена *CYP2E1*. Генетичне тестування хворих дозволить оптимізувати фармакотерапію хронічного гепатиту С, покращити якість життя пацієнтів.

Ключові слова: хронічний гепатит С, поліморфізми генів детоксикації ксенобіотиків, ефективність лікування, ризик розвитку, тяжкість перебігу.

АННОТАЦІЯ

Остапчук Е. В. Оптимизация эффективности лечения и качества жизни больных вирусным гепатитом С на основании оценки полиморфизмов генов детоксикации ксенобиотиков. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.28 – клиническая фармакология. – Одесский национальный медицинский университет МЗ Украины. – Одесса, 2015.

В диссертационной работе представлено новое решение актуальной задачи клинической фармакологии – оптимизации лечения, повышению качества жизни больных хроническим гепатитом С путем выявления ассоциации полиморфизмов генов детоксикации ксенобиотиков с риском развития, тяжестью течения и эффективностью фармакотерапии. Впервые установлена ассоциация делеционного полиморфизма гена *GSTM1* с риском развития хронического гепатита С. Частота генотипа *GSTM1+* значительно выше среди больных хроническим гепатитом С по сравнению с контрольной группой здоровых доноров (67,5 против 50,0 %, $p < 0,05$). Установлена достоверная ассоциация генотипа *GSTM1null* и генотипа *DD* гена *CYP2E1* с тяжестью течения заболевания. У больных с генотипом *GSTM1null* более высокая активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы и содержание общего билирубина в сыворотке крови, чем у пациентов с генотипом *GSTM1+*. Также у больных с генотипом *GSTM1null*, инфицированных вирусом с генотипом 1b, достоверно чаще развивается фиброз печени разной стадии (F₁-F₄), чем у пациентов с генотипом *GSTM1+* (88,2 и 56,2 % соответственно, $p < 0,05$). Значительно у большей части пациентов с генотипом *DD* гена *CYP2E1* наблюдалась повышенная активность АлАТ сыворотки крови, чем у больных с генотипом *CD*. Также у больных с генотипом *DD* чаще развивался фиброз печени по сравнению с пациентами с генотипом *CD* (67,8 против 33,3 %, $p < 0,05$). На эффективность фармакотерапии по схеме пегинтерферон + рибавирин влияли *A313G* полиморфизм гена *GSTP1* и полиморфизм *CYP2E1**6. Лучшие результаты лечения наблюдались у больных с генотипами *AG* и *GG* гена *GSTP1*. Больные с генотипами *AG* и *GG* чаще достигали быстрого или раннего вирусологического ответа, чем пациенты с генотипом *AA* (соответственно 76,2 и 25,0 %, $p = 0,004$). У больных с данными генотипами быстрее восстанавливались биохимические показатели сыворотки крови (через 12 недель терапии). Лучшие результаты лечения получены и у больных с генотипом *CD* гена *CYP2E1*. Такие пациенты чаще достигали быстрого и раннего вирусологического ответа, чем больные с генотипом *DD* (88,9 против 45,8 %, $p < 0,05$). У них быстрее восстанавливалась активность АлАТ сыворотки крови (через 12 недель). Отмечено, что для лечения хронического гепатита С более эффективно использование пегинтерферона- α -2a, чем пегинтерферона- α -2b. Больные, получавшие терапию пегинтерфероном- α -2a, чаще достигали быстрого или раннего вирусологического ответа по сравнению с пациентами, которым назначали пегинтерферон- α -2b (64,3 и 14,3 % соответственно, $p < 0,05$). По данным анкетирования больных, через 24 недель фармакотерапии пегинтерфероном + рибавирин наблюдалось повышение показателей качества жизни у всех пациентов. Однако тенденция к более высоким показателям качества жизни отмечалась среди больных с генотипами *AG* или *GG* гена *GSTP1* и генотипом *CD* гена *CYP2E1*.

У больных, получавших легалон, выявлена тенденция к лучшему биохимическому ответу, повышению качества жизни среди пациентов с генотипами *GSTT1+*, *GSTM1+*, генотипом *AA* гена *GSTP1* и генотипом *CD* гена *CYP2E1*. Данная терапия была более безопасная из всех применяемых схем лечения ХГС. В то же время не выявлено значительного влияния полиморфизма генов ферментов детоксикации ксенобиотиков на эффективность лечения ХГС по схеме индуктор интерферона (амиксин) + рибавирин.

Таким образом, наличие в генотипе мутантного аллеля *G* гена *GSTP1* (генотипы *AG* и *GG*)

или мутантного аллеля *C* гена *CYP2E1* (генотип *CD*) является прогностически благоприятными факторами развития быстрого и раннего вирусологического ответа, более быстрого восстановления биохимических показателей сыворотки крови, улучшения качества жизни при пегинтерферонотерапии. В то же время, генотипы *AA* гена *GSTP1* и *DD* гена *CYP2E1* являются предикторами замедленного вирусологического ответа или отсутствия ответа на противовирусное лечение. Данные факты обосновывают целесообразность генетического тестирования больных хроническим гепатитом *C* по полиморфизмам данных генов, что будет способствовать оптимизации фармакотерапии, улучшению качества жизни пациентов.

Ключевые слова: хронический гепатит *C*, полиморфизм генов детоксикации ксенобиотиков, эффективность лечения, риск развития, тяжесть течения.

SUMMARY

Ostapchuk K.V. Optimization of treatment efficiency and quality of life of the patients with hepatitis C based on the evaluation of polymorphisms of the genes of xenobiotics detoxication. – As a manuscript.

Thesis for a scientific degree of candidate of medical sciences in speciality 14.01.28 – clinical pharmacology. – Odessa National Medical University Ministry of Health Care of Ukraine. – Odesa, 2015.

For the first time the influence of gene polymorphisms of xenobiotic detoxication enzymes at the risk of development of chronic hepatitis *C*, severity of the disease and treatment efficiency was established. An association of genotype *GSTM1+* with increased risk of developing of chronic hepatitis *C*, and genotypes *GSTM1null* and *DD* of gene *CYP2E1* (polymorphism *CYP2E1**6 in the 6 intron) with severity of chronic hepatitis *C* was found. It was established that the mutant allele *G* of gene *GSTP1* (genotypes *AG* and *GG*) or mutant allele *C* of gene *CYP2E1* (genotype *CD*) are prognostic favorable factors and, conversely, the genotypes *AA* of gene *GSTP1* and *DD* of gene *CYP2E1* are negative predictors of results of therapy by PEG interferon. It was found more efficient use of PEG IFN- α -2a relatively PEG IFN - α -2b. It was established trend towards better biochemical response for Legalon treatment in patients with genotypes *GSTT+*, *GSTM+*, *AA* of gene *GSTP1* and *CD* of gene *CYP2E1*. Genetic testing of patients with chronic hepatitis *C* will optimize pharmacotherapy and improve the quality of life of the patients.

Keywords: chronic hepatitis *C*, polymorphisms of the genes of xenobiotic detoxication, treatment efficiency, risk of development, severity of the disease.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

CYP2E1 – цитохром 2E1
GST – глутатіон-S-трансфераза
GSTM1 – глутатіон-S-трансфераза M1
GSTP1 – глутатіон-S-трансфераза P1
GSTT1 – глутатіон-S-трансфераза T1
 АлАТ – аланінамінотрансфераза
 АсАТ – аспартатамінотрансфераза
 ВВ – відсутність вірусологічної відповіді
 ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
 РВВ – рання вірусологічна відповідь
 СВВ – стійка вірусологічна відповідь
 УВВ – уповільнена вірусологічна відповідь
 ХГС – хронічний гепатит *C*
 ШВВ – швидка вірусологічна відповідь
 ЯЖ – якість життя